

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
НОВОСИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ИМЕНИ Н.Н. ВОРОЖЦОВА
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи



Попадюк Ирина Игоревна

**СИНТЕЗ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ**

02.00.03 – органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

д.х.н., профессор

Салахутдинов Н.Ф.

Новосибирск – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|------------|
| ВВЕДЕНИЕ | 3 |
| ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. | 10 |
| Современные подходы к модификации желчных кислот с целью синтеза соединений, обладающих ценными физико-химическими и биологическими свойствами | 10 |
| 1.1. СТРОЕНИЕ, ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ И ФУНКЦИИ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ В ОРГАНИЗМЕ | 11 |
| 1.2. ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ | 14 |
| 1.3. ПРЕВРАЩЕНИЯ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ С УЧАСТИЕМ БОКОВОЙ ЦЕПИ..... | 15 |
| 1.4. МОДИФИКАЦИЯ СТЕРОИДНОГО ОСТОВА..... | 17 |
| 1.4.1. <i>Защита гидроксильных групп</i> | <i>18</i> |
| 1.4.2. <i>Синтез сложных эфиров карбоновых и минеральных кислот, простых эфиров по гидроксильным группам.....</i> | <i>21</i> |
| 1.4.3. <i>Реакции замещения и элиминирования гидроксильных групп</i> | <i>30</i> |
| 1.4.4. <i>Окисление гидроксильных групп</i> | <i>35</i> |
| 1.4.5. <i>Восстановление карбонильных групп.....</i> | <i>37</i> |
| 1.4.6. <i>Синтез α-замещенных карбонильных производных желчных кислот.....</i> | <i>39</i> |
| 1.4.7. <i>Синтез α,β-ненасыщенных карбонильных производных желчных кислот.....</i> | <i>49</i> |
| 1.4.8. <i>Реакции нуклеофильного присоединения по карбонильной группе. Окисление пероксикислотами и пероксидами.....</i> | <i>54</i> |
| 1.5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... | 63 |
| ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ | 65 |
| 2.1 СИНТЕЗ α -ЗАМЕЩЕННЫХ α,β -НЕНАСЫЩЕННЫХ КАРБОНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ..... | 67 |
| 2.2 СИНТЕЗ 2-АМИНОМЕТИЛЕНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ МЕТИЛОВОГО ЭФИРА 3,12-ДИОКСО-5 β -ХОЛАН-24-ОВОЙ КИСЛОТЫ..... | 79 |
| 2.3 СИНТЕЗ 3-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ МЕТИЛОВОГО ЭФИРА 3-ГИДРОКСИ-12-ОКСО-5 β -ХОЛАН-24-ОВОЙ КИСЛОТЫ..... | 82 |
| 2.3.1 <i>Раскрытие эпоксидного цикла метилового эфира 3-эпокси-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты азотцентрированными нуклеофилами.....</i> | <i>86</i> |
| 2.3.2 <i>Раскрытие эпоксидного цикла метилового эфира 3-эпокси-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты серацентрированными нуклеофилами.....</i> | <i>91</i> |
| 2.4 СИНТЕЗ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ..... | 96 |
| ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ | 101 |
| ВЫВОДЫ..... | 152 |
| Список сокращений и условных обозначений | 153 |
| Список литературы | 155 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В последние десятилетия желчные кислоты привлекают внимание исследователей из различных областей химической науки: медицинской химии, супрамолекулярной химии, науки о материалах и других. Благодаря широкому спектру их нативной биологической активности, уникальным физико-химическим свойствам, особенностям строения, высокой энантиомерной чистоте и доступности, они представляют собой перспективный исходный материал для химических превращений.

С точки зрения фармакологии желчные кислоты являются перспективными молекулами для создания потенциальных доставщиков препаратов, предназначенных для лечения заболеваний печени, увеличивающих кишечную адсорбцию или снижающих уровень холестерина. Например, урсодезоксихолевая и хенодесоксихолевая кислоты входят в состав широкого спектра лекарственных препаратов предназначенных для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей (в основном для растворения желчных камней и снижения уровня холестерина). Синтетическое производное – 6 α -этилхенодесоксихолевая кислота в 2016 году была зарегистрирована FDA (США) как лекарственный препарат Окалива; в 2017 году препарат был рекомендован для лечения первичного билиарного холангита индивидуально или в комплексной терапии вместе с урсодезоксихолевой кислотой. В последние несколько лет дезоксихолевая кислота и ее производные используются главным образом в качестве вспомогательных веществ в фармацевтической отрасли для растворения липофильных соединений и увеличения их биодоступности. Конъюгацией дезоксихолевой кислоты с полимерными материалами разрабатывают эффективные носители лекарственных средств. Кроме того, дезоксихолевая кислота является исходным материалом для синтеза противораковых агентов: некоторые производные проявляют высокую ингибирующую активность против некоторых опухолевых клеток.

Степень разработанности темы. Химия желчных кислот базируется на известных реакциях, позволяющих получать производные по нативным функциональным группам (карбоксильной и гидроксильным) или модифицировать стероидный остов новыми функциональными заместителями. Получаемые производные желчных кислот обладают ценными биологическими или физико-химическими свойствами и, как следствие, огромным потенциалом для использования в медицинской, супрамолекулярной химии и других разделах химической науки.

В настоящее время в научной литературе имеется довольно большое число публикаций, посвященных химическим модификациям или физико-химическим характеристикам желчных кислот, а также большое число обзоров по биологической активности и использованию в

медицинской химии самих кислот и их производных. Однако подавляющее число работ описывают модификации желчных кислот с использованием довольно простых химических реакций, например, этерификация или амидирование карбоксильной группы или этерификация гидроксильных групп. Глубокие трансформации стероидного остова встречаются редко.

Вследствие амфифильной природы желчных кислот, а также присущего им органотропизма, обусловленного их участием в процессе кишечно-печёночной циркуляции, они часто используются при создании конъюгатов с лекарственными агентами или биологически активными молекулами для повышения биодоступности последних или уменьшения их токсичности. Данные модификации осуществляют через формирование ковалентной связи (амидной, сложноэфирной, реже простой эфирной) с нативными функциональными группами.

Множество возможных путей модификации желчных кислот, таких как образование солей, сложных эфиров или амидов из нативной карбоксильной группы; этерификация, замещение, элиминирование гидроксильных групп, их окисление до карбонильных и последующие модификации оксопроизводных, и многое другое, наряду с широким спектром биологической активности синтезируемых производных (цитотоксическое, противовоспалительное, противогрибковое и противомикробное действие и многие другие) в настоящее время обуславливает постоянный интерес исследователей к химии соединений этого класса. В связи с этим, синтез новых производных желчных кислот представляет важную и актуальную задачу медицинской химии.

Цель и задачи. Предметом исследования настоящей работы являются химические модификации дезоксихолевой кислоты – одной из основных желчных кислот человека и высших млекопитающих.

Целью диссертационного исследования является синтез новых производных дезоксихолевой кислоты с разнообразным набором функциональных групп как в стероидном остове, так и в боковой цепи молекулы для дальнейшего исследования биологической активности и установления взаимосвязи структура – свойство.

Основными задачами данной работы являются:

1. Синтез производных дезоксихолевой кислоты, содержащих 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент (известная фармакофорная группа) в цикле А стероидного остова.
2. Получение производных дезоксихолевой кислоты, содержащих различные α,β -ненасыщенные карбонильные фрагменты в циклах А и С стероидного остова.
3. Модификация цикла А стероидного остова дезоксихолевой кислоты азотсодержащими функциональными группами.

4. Создание библиотеки производных дезоксихолево́й кислоты с гетероциклическими фрагментами в цикле А стероидного осто́ва или боковой цепи.

Научная новизна, практическая и теоретическая значимость. В результате проведённых исследований был синтезирован большой ряд производных дезоксихолево́й кислоты, проявляющих антипролиферативную и противовоспалительную активность *in vitro*.

Осуществлен синтез 3-оксопроизводных дезоксихолево́й кислоты, содержащих 12-оксо или 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент в цикле С стероидного осто́ва. Изучена реакция окисления метилового эфи́ра 3-ацетокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты диоксидом селена (IV) в микроволновом реакторе, подобраны условия получения 3-оксопроизводного дезоксихолево́й кислоты, содержащего 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент в цикле С, позволившие сократить количество используемого окислителя и время протекания реакции. На базе полученных остовов впервые синтезированы соединения, содержащие 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент (известную фармакофорную группу) в цикле А стероидного осто́ва дезоксихолево́й кислоты. Синтезирован ряд производных, содержащих различные α,β -ненасыщенные карбонильные фрагменты в цикле А стероидного осто́ва; в ходе работы были подобраны условия для региоселективного формирования двойных связей. Детальное изучение взаимосвязи структура – биологическая активность целевых продуктов и интермедиатов показало влияние фармакофорного фрагмента и позволило выявить соединение-лидер – метиловый эфи́р 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты – проявляющее высокую антипролиферативную активность *in vitro* в отношении исследованных опухолевых клеточных линий.

Основываясь на результатах анализа «структура–свойство» была проведена модификация положений 2 и 3 дезоксихолево́й кислоты гетероатомсодержащими функциональными группами. На основе выявленного соединения-лидера впервые был синтезирован ряд 2-аминометиленовых производных дезоксихолево́й кислоты, проявивших антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеток различной природы. В ходе проделанной работы подобраны оптимальные условия синтеза метилового эфи́ра 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (соединения-лидера) в качестве единственного продукта без примеси его структурного изомера.

Взаимодействием метилового эфи́ра 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с илидами серы были синтезированы 3-эпоксипроизводные дезоксихолево́й кислоты. В ходе работы были подобраны условия, позволяющие селективно получать один изомер эпоксипроизводного с высоким выходом. Раскрытием эпоксидного цикла азот- и серацентрированными нуклеофилами синтезирован набор новых производных дезоксихолево́й кислоты модифицированных по положению 3 различными алифатическими и циклическими диаминами,

алифатическими аминспиртами, а также арил- и гетарилсульфанильными фрагментами. Анализ результатов исследования антипролиферативной активности синтезированных соединений показал, что введение в цикл А остова дезоксихолевой кислоты азотсодержащих функциональных групп является более предпочтительным, чем арил- или гетарилсульфанильных фрагментов, с точки зрения увеличения антипролиферативной активности. Было выявлено, что производные дезоксихолевой кислоты содержащие в цикле А стероидного остова гетарилсульфанильные фрагменты проявляют противовоспалительную активность в *in vitro* и *in vivo* моделях. Также была показана перспективность использования производных дезоксихолевой кислоты, содержащих в положении 3 стероидного остова алифатический диаминовый фрагмент, в качестве лигандов для комплексообразования (на примере цинка).

Впервые осуществлен синтез библиотеки 1,2,4-оксадиазольных производных дезоксихолевой кислоты, содержащих алкильные или ароматические заместители в гетероциклическом фрагменте. Использование в качестве стартового соединения 3,12-диацетоксипроизводного дезоксихолевой кислоты и последующий частичный или полный гидролиз ацетокси-групп на завершающей стадии синтеза позволили получить целевые соединения на трех типах стероидного остова (3,12-диацетокси-5 β -холан, 3-гидрокси-12-ацетокси-5 β -холан, 3,12-дигидрокси-5 β -холан) и выявить закономерности структура – биологическая активность в зависимости от гидрофобности остова. В результате исследований антипролиферативной активности *in vitro* выявлены наиболее активные соединения, содержащие ароматические заместители в цикле 1,2,4-оксадиазола.

Простые и эффективные методы синтеза являются важным аспектом при получении биологически активных веществ. Полученные результаты по биологической активности синтезированных производных, а также доступность исходной дезоксихолевой кислоты, высокие выходы и масштабируемость изученных превращений, позволяют считать рассматриваемые подходы перспективными в дизайне новых фармакологических агентов.

Методология и методы исследования. В основе методологии исследования лежат работы посвященные модификациям желчных кислот и природных соединений стероидного или тритерпенового ряда, в работе использовались существующие литературные методики, а также проводилась их модификация для получения новых соединений. Выделение и очистка продуктов осуществлялись методами экстракции, осаждения, колоночной хроматографии, кристаллизации. В работе использовались физико-химические методы установления структуры и чистоты химических соединений: спектроскопия ядерного магнитного резонанса на ядрах ^1H , ^{13}C , включая гетероядерные (^1H – ^{13}C) корреляции, масс-спектрометрия, элементный анализ, определение температуры плавления и высокоэффективная жидкостная хроматография.

Положения, выносимые на защиту.

1. Методики синтеза 2-циано-3-оксо-1(2)-енового фрагмента в цикле А и 12-оксо- или 12-оксо-9(11)-еновых фрагментов в цикле С стероидного остова с учетом особенностей реакционной способности дезоксихолево́й кислоты. Способы региоселективного формирования двойных связей в цикле А 3-оксопроизводных дезоксихолево́й кислоты в зависимости от типа используемого электрофильного агента.

2. Методика региоселективного синтеза метилового эфира 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты конденсацией метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с метилформи́атом в присутствии гидрида натрия. Способ модификации 2-гидроксиметиленового производного диаминами и аминспиртами с образованием 2-аминометиленовых производных дезоксихолево́й кислоты.

3. Образование единственного стереоизомера эпоксипроизводного – метилового эфира С-3 β -эпокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты – реакцией метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с метилидом диметилсульфоксония. Метод синтеза производных дезоксихолево́й кислоты, содержащих в положении 3 различные алифатические и циклические полифункциональные амины, а также арил- и гетарилсульфанильные фрагменты, раскрытием эпоксидного цикла азот- и серацентрированными нуклеофилами.

4. Способ получения биоизостеров дезоксихолево́й кислоты трансформацией нативной карбоксильной группы в 3'-замещенные 1',2',4'-оксадиазольные циклы, содержащие алкильные или ароматические заместители.

Степень достоверности и апробация результатов. При выполнении данного исследования было синтезировано 74 соединения из них 58 ранее не описаны. Строение и чистота соединений, обсуждаемых в диссертационной работе, подтверждены данными ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопии (в том числе с применением двумерных корреляционных спектров NOESY, COSY), масс-спектрометрии высокого разрешения, высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Полученные результаты многократно представлялись на российских и международных научных конференциях и симпозиумах: Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ-2012» (МГУ, Москва, 2012); VI Всероссийская конференция молодых учёных, аспирантов и студентов с международным участием «Менделеев-2012» (Санкт-Петербург, 2012); Молодежная научная школа конференция «Актуальные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2012); 50-я Международная научная студенческая конференция «Студент и научно-технический прогресс» (НГУ, Новосибирск, 2012); 4th Annual Russian-Korean Conference “Current Issues of Natural Products Chemistry and Biotechnology” (Novosibirsk, Russia, 2012); Международный молодежный научный форум «ЛОМОНОСОВ-2013» (МГУ, Москва,

2013); X Международная конференция студентов и молодых учёных. «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2013); 51-я Международная научная студенческая конференция «Студент и научно-технический прогресс» (НГУ, Новосибирск, 2013); Siberian Youth Conference "Current Topics in Organic Chemistry", (Sheregesh, Russia, 2015); 2-nd Russian Conference on Medicinal Chemistry «MedChem-2015» (Novosibirsk, Russia, 2015); Междисциплинарный симпозиум по медицинской, органической и биологической химии «МОБИХИМ-2015» (пгт Новый свет, Крым, 2015); 52nd International Conference on Medicinal Chemistry RICT-2016 (Caen, Normandy, France, 2016); Кластер конференций по органической химии «ОргХим-2016», XIX Молодёжная конференция-школа по органической химии (Санкт-Петербур, пос. Репино, 2016). По материалам диссертации опубликовано 15 тезисов и три статьи^{1, 2, 3} в российских и международных научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, и рецензируемых и индексируемых в признанных международных системах цитирования.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 176 страницах, содержит 7 таблиц, 26 рисунков и 53 схемы. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, перечня используемых сокращений, списка литературы. Список цитируемой литературы включает 256 наименований.

Личный вклад соискателя и благодарности. Соискателем осуществлены все химические эксперименты, хроматографическое разделение реакционных смесей, выделение и очистка новых продуктов, а также структурная идентификация продуктов с использованием спектральных данных. Помимо экспериментальной работы проведено изучение оригинальной литературы и в соавторстве оформлен обзор на тему «Современные подходы к модификации желчных кислот с целью синтеза соединений, обладающих ценными физико-химическими и биологическими свойствами». Автор также принимал участие в разработке плана исследований, осуществлял подготовку публикаций к печати и представлял доклады по теме диссертационной работы. Регистрация спектров (ЯМР, МС) измерение величин удельного оптического вращения осуществлена сотрудниками центра спектральных исследований НИОХ СО РАН на базе Химического сервисного центра СО РАН, данные элементного анализа получены сотрудниками лаборатории микроанализа НИОХ СО РАН. Регистрация двумерных ^1H - ^{13}C ЯМР корреляций на ближних (HSQC) и дальних (HMBC) константах проводились сотрудниками лаборатории магнитной радиоспектроскопии НИОХ СО РАН Шернюковым А.В. и Фадеевым Д.С.

Автор выражает глубокую признательность и искреннюю благодарность своему научному руководителю д.х.н., профессору Нариману Фаридовичу Салахутдинову и непосредственному куратору к.х.н. Оксане Владимировне Саломатиной за всестороннюю

поддержку, научные консультации и помощь в получении новых экспериментальных навыков. Кроме того, автор признателен всему коллективу Лаборатории физиологически активных веществ за всяческую помощь и содействие научной работе, поддержку и дружескую атмосферу. Также автор выражает огромную благодарность сотрудникам лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН к.б.н. Маркову А.В., Бабич В.О., к.б.н. Логашенко Е.Б. и д.б.н. проф. Зенковой М.А. за проведение исследований биологической активности *in vitro* и плодотворное сотрудничество; сотрудникам лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН к.х.н. Морозовой Е.А., д.х.н. проф. Толстиковой Т.Г. за проведение *in vivo* экспериментов по выявлению биологической активности ряда синтезированных соединений; сотрудникам лаборатории металл-органических координационных полимеров ИНХ СО РАН к.х.н. Кокиной Т.Е. и д.х.н. проф. Ларионову С.В. за синтез цинкового комплекса полученного нами метилового эфира 3 β -гидрокси-3 α -((3-(диметиламино)пропиламино)метил)-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты, и сотрудникам лаборатории кристаллохимии ИНХ СО РАН к.х.н. Королькову И.В. и Глинской Л.А. за установление структуры полученного комплекса методом рентгеноструктурного анализа. Также автор выражает благодарность к.х.н. Шернюкову А.В. за помощь в установлении строения ряда полученных производных на основании анализа двумерных ^1H - ^{13}C ЯМР корреляций, Комаровой Н.И. за проведение анализов методом ВЭЖХ. Автор также выражает признательность всем сотрудникам центра спектральных исследований НИОХ СО РАН за запись ЯМР-, масс-спектров и определение удельного оптического вращения, и сотрудникам лаборатории микроанализа НИОХ СО РАН за выполнение элементных анализов полученных соединений. Наконец, автор выражает глубокую признательность родителям и близким друзьям за любовь и всестороннюю поддержку.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ: грант № 14-01-31408 мол_а «Получение новых полусинтетических производных дезоксихолевой кислоты модификацией колец А и С стероидного остова. Фундаментальные аспекты: поиск зависимости «структура – биологическая активность» и грант № 16-33-00414 мол_а «Модификация гетероциклическими фрагментами остовов природных соединений растительного и животного происхождения и изучение биологических свойств полученных веществ».

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.

Современные подходы к модификации желчных кислот с целью синтеза соединений, обладающих ценными физико-химическими и биологическими свойствами

Синтез новых соединений, обладающих ценными биологическими или физико-химическими свойствами, на основе веществ растительного и/или животного происхождения является перспективным направлением исследований в органической и медицинской химии. Желчные кислоты (ЖК) – метаболиты стероидного ряда, основным источником которых является желчь различных животных. Изучение состава желчи началось в первое десятилетие XIX века. Приблизительно за 50 лет исследователям удалось установить структуру и выделить в индивидуальном виде основные ЖК человека и некоторых животных: холевую (ХК), хенодезоксихолевую (ХДХК), дезоксихолевую (ДХК), литохолевую (ЛХК) и их конъюгаты с глицином и таурином, в виде которых ЖК существуют в физиологических условиях^{4, 5}. На следующем этапе проводили выделение ЖК различных видов животных, изучали их строение и метаболизм, детально исследовали их физико-химические и биологические свойства. С развитием физико-химических методов анализа и установлением физиологических свойств ЖК основным направлением исследований стало изучение реакционной способности ЖК; в результате были получены новые производные, протестированные на различные виды биологической активности.

В настоящее время в научной литературе имеется множество публикаций, посвященных химическим модификациям, физико-химическим характеристикам и биологическим функциям ЖК, а также большое число обзоров по биологической активности и применению в медицинской химии самих кислот и их производных. Однако до настоящего времени данные по химическим модификациям ЖК не были обобщены и систематизированы с точки зрения химических превращений. Настоящий обзор охватывает литературные данные за период с 2000 по 2015 г., посвященные химическим модификациям стероидного остова основных ЖК человека (ХК, ХДХК, ДХК, ЛХК), а также урсодезоксихолевой кислоты (УДХК), которая находится в желчи человека в следовых количествах. Реакции ЖК по боковой цепи рассматриваются очень коротко. Представлены в основном реакции, приводящие к образованию низкомолекулярных соединений. Синтез супрамолекулярных композиций на основе ЖК не рассматривается. Следует отметить, что конфигурации хиральных центров производных ЖК указаны в соответствии со структурами, приведенными в цитируемых работах.

1.1. Структура, основные источники и функции желчных кислот в организме

Структура ЖК млекопитающих включает жесткий стероидный остов, содержащий от одной до трех гидроксильных групп, и короткую алифатическую боковую цепь, на конце которой находится карбоксильная группа. Основные желчные кислоты человека – холевая (1), хенодезоксихолевая (2), дезоксихолевая (3) и литохолевая (4) – различаются числом и расположением гидроксильных групп в стероидном фрагменте, урсодезоксихолевая кислота (5) является 7 β -эпимером ХДХК, а аллохолевая кислота (6) имеет отличное от приведенных выше ЖК сочленение циклов (см. Рисунок 1).

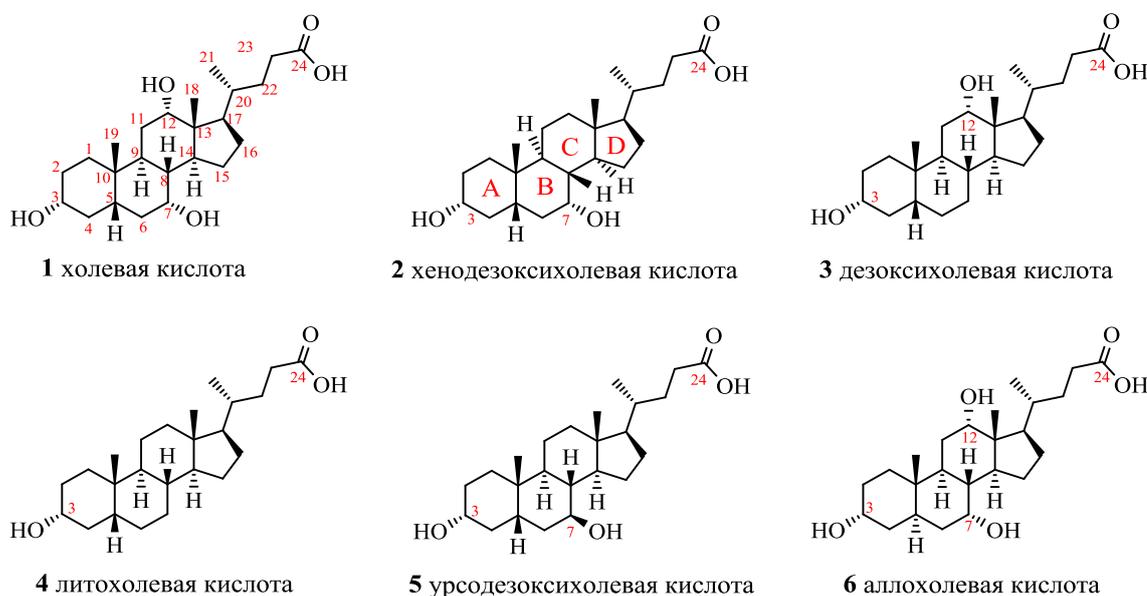


Рисунок 1

Стероидный остов ЖК представляет собой насыщенный тетрациклический углеводород – циклопентанпергидрофенантрен (гонан), состоящий из сочлененных циклов: трех шестичленных (А, В, С) и одного пятичленного (D). Циклы А и В могут находиться в *цис*- или *транс*-сочленении (Рисунок 2). Для ЖК высших позвоночных характерно *цис*-сочленение (β -конфигурация атома водорода в положении 5), в этом случае остов кислоты «искривлен». Некоторые ЖК низших позвоночных, известные как аллохолевые кислоты, имеют *транс*-сочленение циклов А и В (α -конфигурация С(5)–Н)⁶ и, следовательно, имеют плоское строение (Рисунок 2)^{4,5}.

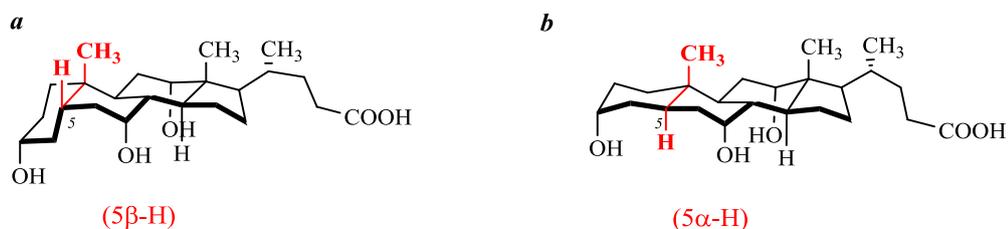


Рисунок 2. *цис*-Сочленение циклов А и В в холевой кислоте (а) и *транс*-сочленение в аллохолевой кислоте (b)

Желчные кислоты являются амфифильными соединениями благодаря наличию нескольких гидроксильных групп и их расположению в стероидном остова (Рисунок 3). Разное число гидроксильных групп обуславливает различие в растворимости и поверхностной активности этих соединений. Более выраженным гидрофобным характером обладает выпуклая поверхность (β -сторона) стероидного остова молекул ЖК, в то время как гидрофильную природу проявляет вогнутая поверхность (α -сторона) (Рисунок 3). Одновременное присутствие в молекуле полярной и неполярной поверхностей определяет поведение ЖК при самоассоциации и другие их физико-химические свойства на границе поверхностей.

Неполярная (β) сторона



Полярная (α) сторона

Рисунок 3. Пространственная структура холевой кислоты.

В организме ЖК синтезируются из холестерина гепатоцитами печени, это процесс требует участия множества ферментов и протекает посредством ряда сложных химических превращений^{7, 8, 9}. На заключительной стадии биосинтеза происходит формирование конъюгатов ЖК с глицином и таурином в реакции амидирования. Такая конъюгация повышает водорастворимость ЖК в кислой среде, препятствует их выпадению в осадок при взаимодействии с ионами Ca^{2+} , а также переводит ЖК в форму, не проходящую через клеточные мембраны^{7, 10}. Деконъюгация под воздействием кишечной микрофлоры приводит к образованию ХК (1) и ХДХК (2) – первичных ЖК. После биосинтеза в печени ЖК поступают в желчь, которая концентрируется и запасается в желчном пузыре. Поступление пищи инициирует выделение желчи в тонкий кишечник, где ЖК выполняют свою физиологическую функцию: растворяют жиры, жирные кислоты и жирорастворимые витамины и способствуют их всасыванию.

В кишечнике часть первичных ЖК под действием кишечной микрофлоры подвергается деконъюгации и 7α -дегидроксилированию, в результате чего образуются вторичные ЖК: из холевой кислоты – дезоксихолевая кислота (**3**), а из хенодезоксихолевой кислоты – литохолевая кислота (**4**)⁷ (Рисунок 1). Наряду с основными ЖК высших млекопитающих и человека (ХК, ХДХК, ДХК, ЛХК), а также их конъюгатами с глицином и таурином существуют минорные ЖК, которые образуются в более низких концентрациях под действием бактериальной флоры кишечника или конъюгацией с другими биомолекулами в печени¹⁰. Одной из таких «минорных» кислот является УДХК (**5**), впервые выделенная из желчи медведя (от лат. *ursus* – медведь).

Далее ЖК всасываются в дистальной части подвздошной кишки, возвращаются обратно в печень через воротную вену и повторно выделяются в желчь. Этот процесс называется кишечно-печеночной циркуляцией.

Основным природным источником ЖК служит желчь млекопитающих (коров, быков, овец и свиней). Поскольку эти кислоты находятся в желчи в конъюгированном виде, то для получения «свободных» ЖК проводят щелочной гидролиз твердого вещества желчи. Затем в полученную массу добавляют разбавленную соляную кислоту, чтобы перевести натриевые соли ЖК в форму кислот, и экстрагируют органическими растворителями (эфиром, этилацетатом или низшими спиртами). Последующую очистку и разделение ЖК проводят перекристаллизацией или хроматографией^{11, 12, 13}. Таким способом получают в основном ХК, ХДХК и ДХК, поскольку их содержание в желчи достаточно велико. Для ДХК и ЛХК были разработаны синтетические методы получения из доступных стероидов^{14, 15}. Хенодезоксихолевая и урсодезоксихолевая кислоты, использующиеся в медицинской практике, могут быть синтезированы из ХК¹⁶.

Спектр биологической активности ЖК достаточно широк и включает противоопухолевое^{17, 18, 19, 20}, цитопротекторное^{4, 18}, нейпротекторное^{18, 21}, противогрибковое²², антибактериальное²³ и противомикробное¹⁸ действие. Основными физиологическими функциями ЖК являются растворение и транспорт липидов и жирорастворимых витаминов, а также регуляция гомеостаза липидов, глюкозы и холестерина¹⁸. Желчные кислоты в силу особенностей строения и выполняемых ими физиологических функций на ранних стадиях изучения использовались в медицинской практике. В частности холевая кислота служила для регуляции биосинтеза ЖК. Хенодезоксихолевую и урсодезоксихолевую кислоты применяли для растворения желчных камней. Впоследствии УДХК заменила ХДХК, поскольку оказывала то же воздействие, но была значительно менее токсичной⁴. Урсодезоксихолевую кислоту использовали при лечении различных заболеваний желчного тракта и печени: она ослабляет токсическое влияние других ЖК, проявляет

антиапоптотическое действие в отношении как печеночных, так и других клеток и также может служить нейропротектором^{24, 25}. Конъюгат УДХК с таурином предотвращает развитие фиброза сердца и обладает другими полезными свойствами^{26, 27, 28}.

Желчные кислоты также могут действовать в качестве гормонов путем связывания с ядерными рецепторами: фарнезоидным X-рецептором (FXR)^{18, 29, 30}, печеночным X-рецептором (LXR)¹⁸, прегнановым X-рецептором (PXR)^{18, 29, 31}, конститутивным андростан-рецептором (CAR)¹⁸, рецептором витамина D (VDR)^{18, 32} и сопряженным с G-белком мембранным рецептором (TGR5 или GP-BAR1)^{33, 34}. Следует отметить, что ЖК цитотоксичны в аномально высоких концентрациях³⁵ и могут вызвать некроз или апоптоз³⁶. Нарушение процесса биосинтеза ЖК или избыточное накопление в органах и клетках может приводить к развитию различных заболеваний. Более подробно ознакомиться с особенностями метаболизма и патофизиологии ЖК можно в монографиях^{37, 38} или обзоре⁴.

1.2. Особенности химической модификации желчных кислот

В последние десятилетия ЖК привлекают внимание исследователей из различных областей химической науки: медицинской химии, супрамолекулярной химии, науки о материалах и т. д. Благодаря широкому спектру нативной биологической активности, уникальным физико-химическим свойствам, особенностям строения, высокой энантиомерной чистоте, низкой стоимости и доступности ЖК представляют собой идеальный исходный материал для химических превращений^{4, 5, 18}.

Химия ЖК базируется на известных органических реакциях, позволяющих получать производные по карбоксильной и гидроксильным группам и модифицировать стероидный остов введением различных функциональных заместителей. Комбинациями таких реакций получают новые производные ЖК, обладающие ценными свойствами (в том числе биологической активностью и амфифильностью) и огромным потенциалом для использования в медицинской и супрамолекулярной химии, а также других разделах химической науки.

Поскольку ЖК специфически распределяются в организме человека, благодаря участию в процессе кишечно-печеночной циркуляции, множество современных исследований посвящены синтезу гибридных соединений (конъюгатов) на их основе. Такие молекулы состоят из биологически активного фрагмента, в том числе лекарственного препарата, присоединенного непосредственно или через линкер к атомам углерода в различных положениях (чаще всего к C(3), C(7), C(12), C(24)) путём образования ковалентной связи (сложноэфирной, амидной, реже простой эфирной). Синтез этих конъюгатов является перспективным подходом к решению проблемы селективной доставки и повышения биодоступности малорастворимых препаратов

или лекарственных форм, в том числе за счет увеличения всасывания в кишечнике плохо абсорбируемых или неабсорбируемых соединений (например, пептидов). Кроме того, в некоторых случаях конъюгация приводит к снижению токсичности лекарственных агентов^{39, 40, 41}. Как уже отмечалось выше ЖК являются сигнальными молекулами, взаимодействующими со многими ядерными и мембранными рецепторами (FXR, LXR, GPRBAR1 (TGR5) и др.). Эндогенные ЖК малоселективны по отношению к активации этих рецепторов, поэтому множество современных исследований направлено на синтез аналогов ЖК и изучение их способности селективно активировать тот или иной рецептор^{42, 43, 44}. Самые распространённые модификации это варьирование функциональных групп боковой цепи (CO₂H, CHO, OH, CN, SO₃H) и её длины (C(24) – C(26)).

1.3. Превращения желчных кислот с участием боковой цепи

Модификация боковой цепи ЖК включает множество синтетических превращений, связанных в первую очередь с получением производных по нативной карбоксильной группе (солей, комплексов, сложных эфиров и амидов), а также изменением длины боковой цепи и введением различных функциональных групп. Производные ЖК по карбоксильной группе представляют собой наиболее обширные классы соединений. В настоящем разделе кратко описаны общие закономерности синтеза таких производных.

Желчные кислоты и их соли относятся к природным поверхностно-активным веществам. Благодаря жесткости структуры и особенностям распределения полярной и неполярной частей (поверхностная амфифильность) в процессах самоассоциации ЖК и их соли в зависимости от условий образуют относительно упорядоченные двумерные или трехмерные структуры различного строения (глобулы, мицеллы, пленки и др.)^{4, 5}. Вследствие склонности к самоагрегации и образованию мицеллярных структур, ЖК и их соли со щелочными^{45, 46}, щелочноземельными⁴⁷ и переходными⁴⁸ металлами используются в качестве вспомогательных реагентов при синтезе наноматериалов различного строения и изучении их свойств. Натриевые соли ЖК используются для создания наноструктур с включениями биологически активных молекул с целью адресной доставки в органы и ткани или для увеличения их биодоступности^{49, 50}. Описаны также комплексы ЖК с лекарственными агентами^{51, 52}. Кроме того натриевые соли ЖК, ХДХК, ДХК и УДХК находят широкое применение на практике в качестве поверхностно-активных веществ, биологических сред и фармацевтических препаратов^{4, 45, 46}. Синтез солей ЖК с различными металлами осуществляют обменными реакциями либо взаимодействием с оксидами⁵¹, гидроксидами⁵³, солями^{54, 55} или комплексами^{51, 52, 56} соответствующих металлов. Также в литературе приведены примеры солей

ЖК с органическими катионами⁵⁷. В качестве наиболее ярких примеров биологически активных солей и комплексов ЖК можно привести оловосодержащие производные ДХК, проявляющие противоопухолевую активность⁵⁸; комплексы УДХК и дегидрохолевой (3,7,12-триоксо-5 β -холановой; дегидро-ХК) кислоты с соединениями платины, обладающие противоопухолевой активностью^{51, 52, 59, 60, 61, 62}; комплексы ХК с переходными металлами, проявляющие антигрибковые свойства⁵⁵; стронциевые соли холевой кислоты и ее производных, проявляющие антиостеопорозную активность⁵³.

Сложные эфиры представляют важную группу производных карбоновых кислот и, кроме того, они широко распространены в природе. Традиционным методом получения сложных эфиров ЖК является прямая этерификация карбоксильной группы спиртами. Этот метод эффективен для получения сложных эфиров метилового^{42, 63, 64}, этилового⁶⁵, других низших спиртов^{64, 65, 66}, а также высших спиртов нормального строения⁶⁷. Такая модификация позволяет варьировать баланс гидрофильных – гидрофобных свойств молекулы, что важно при разработке биодоступных и/или обладающих заданными свойствами лекарственных агентов⁶⁷. Сложные эфиры ЖК получают также взаимодействием ЖК с алкилгалогенидами^{65, 66, 68} или тозилпроизводными спиртов⁶⁹ в присутствии основания. В литературе встречаются примеры ферментативной этерификации ЖК спиртами, например, под действием коммерчески доступных липаз⁷⁰.

Для синтеза сложных эфиров ЖК с полифункциональными спиртами карбоксильную группу активируют взаимодействием с карбодиимидами (гидрохлоридом 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимида (EDC·HCl)⁷¹, *N,N'*-дициклогексилкарбодиимидом (DCC))^{72, 73, 74} 1,1'-карбонилдиимидазолом (CDI)^{75, 76} или оксалилхлоридом^{72, 73}. На основе ЖК посредством образования сложноэфирной связи синтезируют конъюгаты с биологически активными молекулами^{71, 72, 77}, способствующие селективной доставке лекарственного агента к органам и тканям или снижению токсичности исходной молекулы^{75, 76}. Также получаемые конъюгаты обладают антипролиферативной⁶⁸, цитотоксической активностью^{75, 76} и другими ценными свойствами^{65, 69}.

Амиды – один из самых больших классов известных производных ЖК. Синтез амидов осуществляют посредством предварительной активации карбоксильной группы взаимодействием с тионилхлоридом²⁵, этилхлорформиадом^{66, 78, 79, 80}, *N*-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолином (EEDQ)^{81, 82}, гидроксисукцинимидом^{83, 84, 85}, карбодиимидами^{71, 72, 86, 87}. Иногда процесс проводят через промежуточное образование сложного эфира с последующей реакцией с амином (алифатическим, ароматическим, гетероциклическим, полифункциональным) в присутствии основания^{88, 89}. Амиды ЖК обладают очень широкой областью применения в различных областях медицины и диагностики. Среди них соединения,

обладающие противомикробной⁸⁸, противогрибковой^{83, 90, 91}, антипролиферативной^{78, 85, 91, 92, 93, 94} активностью, ингибиторы карбоангидраз^{79, 86}, ингибиторы кишечных и печеночных транспортеров ЖК^{82, 95}, модуляторы ядерных рецепторов²⁵, доставщики лекарственных агентов^{84, 96}, хелатирующие^{97, 98} и гелеобразующие агенты⁸⁰.

Среди других модификаций боковой цепи можно выделить введение новых функциональных групп (атомов галогенов^{99, 100, 101}, гидроксильных^{42, 43, 102, 103, 104, 105}, альдегидных^{42, 104}, эпоксидных^{42, 101}, amino^{106, 107}, аммонийных^{103, 107, 108}, циано^{43, 100}, азидо^{36, 109}, нитро¹⁰⁰, сульфо¹⁰⁰, сульфанильных⁹⁹, фосфониевых^{110, 111, 112} групп, алкильных заместителей^{113, 114}, циклопропановых фрагментов¹¹⁵, кратных связей^{42, 43, 101, 116}), радиоактивных изотопов углерода¹¹⁷, а также изменение длины боковой цепи (укорачивание цепи реакциями декарбоксилирования с получением нор- (C(23))^{43, 100, 103, 108, 117, 118} и динорпроизводных (C(22))^{101, 105, 119} удлинение цепи с получением гомопроизводных ЖК (C(25)^{100, 105}, C(26)⁴³) или аналогов стероидов (C(27)-разветвленные цепи)^{42, 116, 120}).

Таким образом, реакции с участием боковой цепи ЖК охватывают большое число синтетических превращений, которые включают как модификацию нативной карбоксильной группы, приводящую к получению солей, сложных эфиров и амидов ЖК, так и изменение длины боковой цепи и её функционализацию различными группами (CN, CHO, OH, SO₃H, PO₃H₂, NO₂, Cl, F, I и др.).

1.4. Модификация стероидного остова.

Модификацию стероидного остова ЖК редко проводят без предварительной модификации боковой цепи. Как правило, на первом этапе карбоксильную группу превращают в сложноэфирную, которая впоследствии может быть гидролизована до исходной карбоксильной группы. Поэтому, строго говоря, все превращения ЖК, которые приведены в данном разделе, можно рассматривать как комбинированные, затрагивающие и остов, и боковую цепь.

Ниже представлены различные подходы к модификации нативных гидроксильных групп (этерификация, окисление), а также реакции, в результате которых формируются кратные связи, вводятся в стероидный остов новые функциональные группы и/или гетероатомы.

Благодаря особенностям строения ЖК нативные гидроксильные, а также другие функциональные группы, которые образуются в ходе химических модификаций циклов А, В и С стероидного остова, обладают различной реакционной способностью. Так, из-за стерических факторов функциональные группы цикла С менее реакционноспособны, чем функциональные

группы циклов А и В. По этой причине особый интерес представляют реакции, позволяющие селективно модифицировать отдельные функциональные группы остова.

1.4.1. Защита гидроксильных групп

Обычно модификация стероидного остова ЖК подразумевает многостадийные превращения, в связи с чем появляется необходимость защищать одну или несколько гидроксильных групп. В литературе, посвященной модификациям ЖК, можно встретить различные варианты защиты нативных гидроксильных групп. Как правило, выбор той или иной защитной группы, а также способ ее удаления зависит от последующих превращений. Согласно литературным данным, реакционная способность ОН-групп стероидного остова ЖК убывает в ряду 3-ОН > 7-ОН > 12-ОН. Следует также отметить, что, согласно работе¹²¹, скорость реакции ацилирования аксиальной 7 α -ОН-группы ниже, чем у находящейся в экваториальном положении 7 β -ОН-группы.

Самым распространенным подходом к защите гидроксильных групп ЖК является этерификация под действием формилирующих и других ацилирующих агентов в различных условиях. Формилирование гидроксильных групп ЖК осуществляется взаимодействием с муравьиной кислотой. При комнатной температуре реакция идет 3 суток⁶³, нагревание до 55°C (см. ^{107, 108, 110}) или добавление HClO₄ (см. ^{25, 43, 117}) сокращает время протекания реакции до нескольких часов. Для ацилирования ОН-групп ЖК разработано несколько методик. Чаще всего проводят взаимодействие ЖК с уксусным ангидридом в присутствии различных оснований (пиридин (Py)⁷⁸, системы 4-диметиламинопиридин (DMAP)–Py¹⁰¹, DMAP–NEt₃^{122, 123}), а также используют уксусный ангидрид в присутствии триметилсилилокситрифлата¹²⁴, или хлорангидрид уксусной кислоты⁷⁹. Наряду с приведенными выше методами, в литературе описаны примеры ферментативного ацилирования ЖК⁷⁰. Достоинством такого подхода является отсутствие необходимости превращать карбоксильную группу в боковой цепи ЖК в сложный эфир.

Защиту гидроксильных групп можно проводить также реакцией с бензоилхлоридом в присутствии пиридина¹²⁵.

Удаляют формильные и ацетильные защитные группы, как правило, в условиях щелочного гидролиза (под действием NaOH^{101, 117}, KOH^{43, 78}, NaOMe²⁵ или K₂CO₃^{107, 108} в EtOH, MeOH при кипячении либо комнатной температуре). Для удаления формильной защиты встречается применение кислотного гидролиза (*n*-толуолсульфокислота (TsOH), PrⁱOH, микроволновое излучение (MW))⁶³. В случаях, когда щелочной гидролиз неприемлем по причине того, что в реакцию будут вступать другие функциональные группы, существует

вариант восстановления ацилоксипроизводных ЖК комплексными гидридами, например LiAlH_4 , которое приводит к образованию исходных гидроксильных групп⁹⁹.

Использование мягких условий гидролиза (слабые основания, например NaHCO_3 ^{72, 73} или K_2CO_3 ¹²⁴ в MeOH при комнатной температуре или обработка ацилхлоридом в MeOH ^{121, 126}) позволяет селективно удалить защиту с 3-ОН группы, например в соединении **7**, при этом ОН-группы в положениях 7 и 12 остаются защищенными (Схема 1).

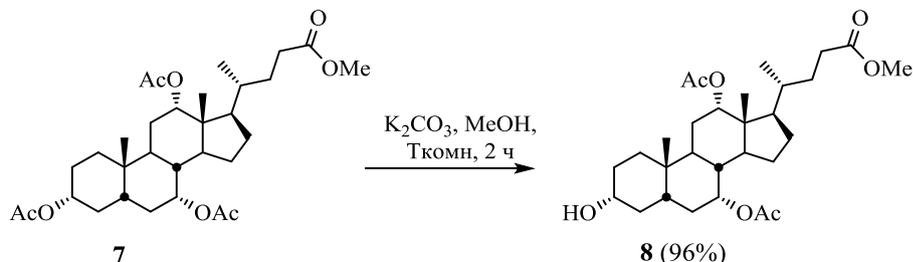


Схема 1

Защита всех гидроксильных групп и последующий неполный гидролиз (удаление защиты ОН-групп в положениях 3 и 7) приводят к производным ЖК с защищенной 12-ОН-группой (соединение **9**, Схема 2).

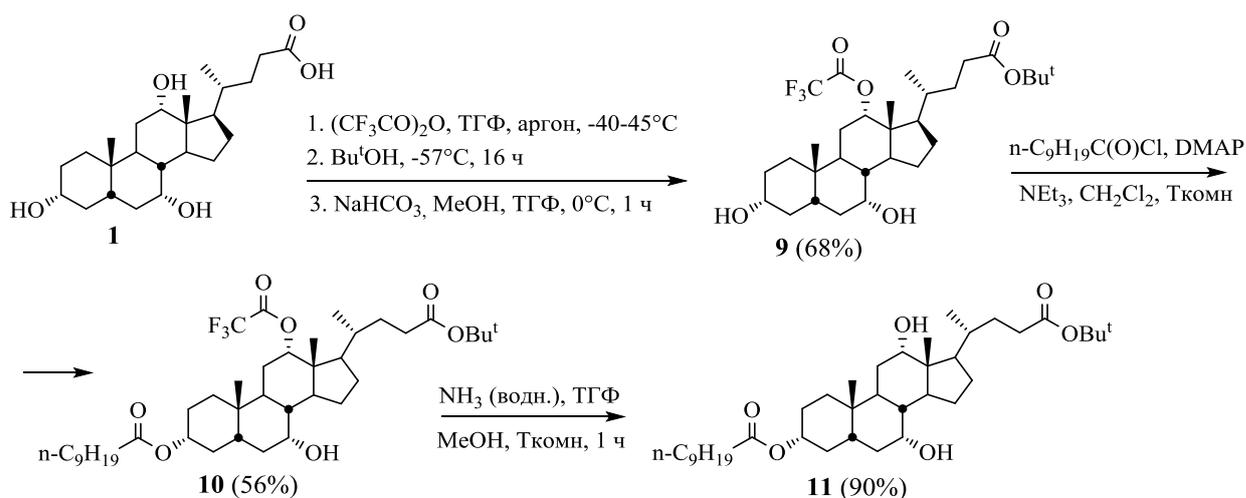


Схема 2

В работах^{127, 128} взаимодействием ЖК с ангидридом трифторуксусной кислоты в атмосфере аргона при -45°C , дальнейшей реакцией с *трет*-бутиловым спиртом при -57°C и гидролизом под действием гидрокарбоната натрия в смеси ТГФ– MeOH при пониженной температуре на заключительной стадии превращения синтезировали соединение **9**, содержащее в положении 12 трифторацетатную группу и *трет*-бутиловый сложный эфир в боковой цепи (Схема 2). Ацилирование 3-ОН группы деканоилхлоридом в присутствии оснований приводит к соединению **10**, в результате обработки водным аммиаком в смеси ТГФ– MeOH происходит удаление трифторацетильной защиты с 12-ОН-группы (соединение **11**). При этом

сложноэфирные функции в боковой цепи и в положении 3 не затрагиваются, несмотря на то что заместитель при атоме С(3) является более реакционноспособным, чем при атоме С(12).

Другими вариантами защиты гидроксильных групп ЖК является образование ацеталей, простых метиловых эфиров и триалкилсилиловых эфиров. Ацетали устойчивы в щелочных средах, удаление такой защитной группы осуществляется в условиях кислотного катализируемого гидролиза. Например, взаимодействие метилового эфира 3-оксохолоевой кислоты **12** с диметоксиметаном и P_2O_5 в сухом $CHCl_3$ приводит к соединению **13** (Схема 3; MOM – метоксиметил)¹²⁹. Другим примером формирования ацетальной защиты является взаимодействие ОН-групп метилового эфира ЖК **14** с метоксиэтоксиметил хлоридом (MEMCl) в присутствии диизопропилэтиламина (DIPEA) в CH_2Cl_2 при комнатной температуре в течение 24 часов, в результате которого образуется продукт **15**¹⁰⁴.

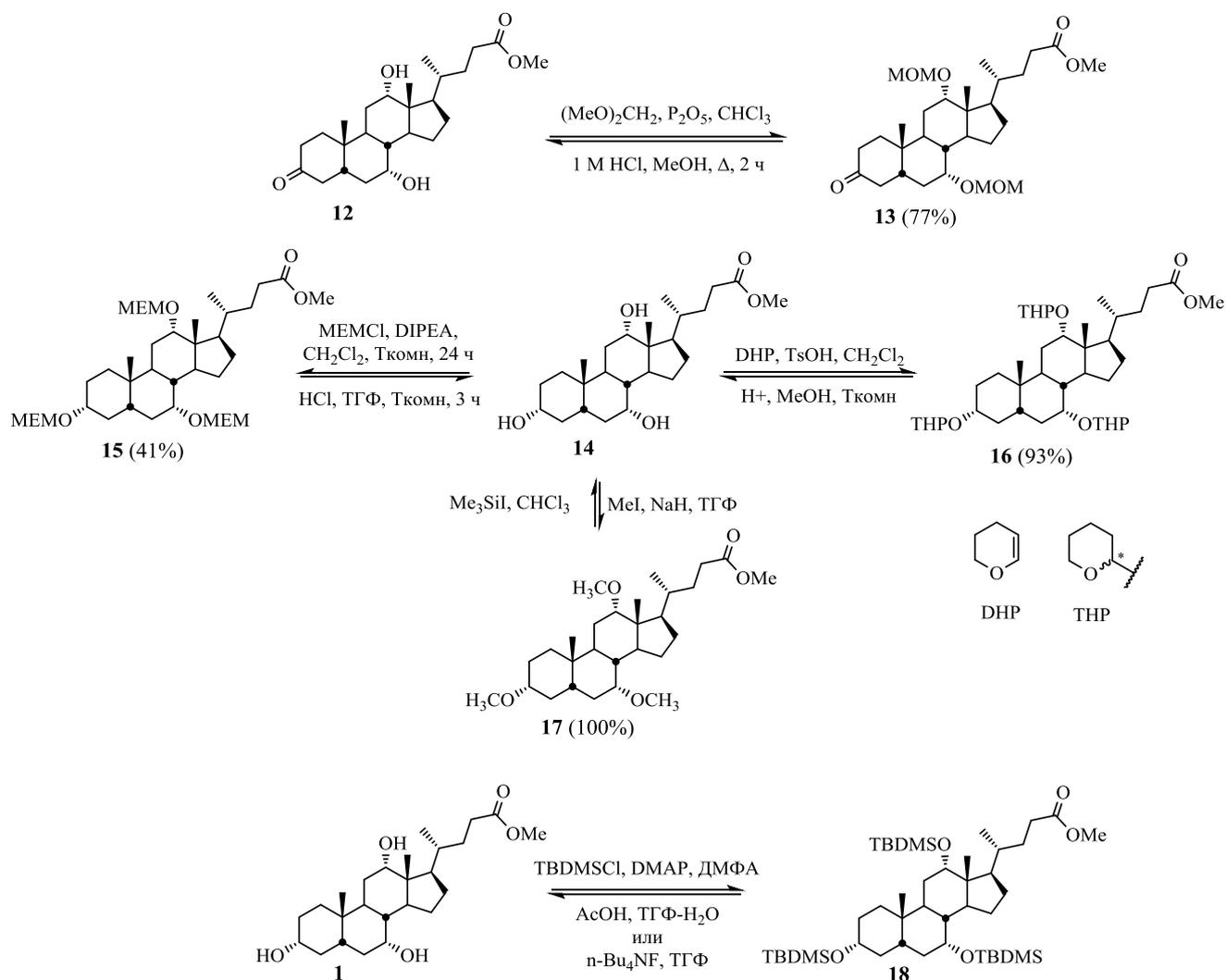


Схема 3

Защита гидроксильных групп ЖК взаимодействием с 3,4-дигидропираном (DHP) в присутствии $TsOH$ в диоксане¹¹³ или CH_2Cl_2 ⁴² при комнатной температуре (см. соединение **16**, Схема 3) также описана в литературе. Однако следует отметить, что данная реакция приводит к смеси

продуктов с *R*- и *S*-конфигурацией асимметрического центра в тетрагидропиранильном фрагменте.

Для защиты гидроксильных групп путём образования простых эфиров получают соответствующие метиловые эфиры под действием метилиодида в присутствии основания (соединение **17**, Схема 3). Преимуществом данных защитных групп является устойчивость в реакциях фотолиза. Удаление защитных метоксигрупп проводят обработкой триметилсилилиодидом в CHCl_3 ^{130, 160, 161}.

Триалкилсилильные защитные группы тоже используются при модификациях ЖК^{86, 43, 99}. Например, при взаимодействии ХК с *трет*-бутилдиметилсилилхлоридом (TBDMSCl) в присутствии DMAP в ДМФА при комнатной температуре⁸⁶ образуется соединение **18** (Схема 3). Удаляют силильную защиту фторидом тетра-*n*-бутиламмония в ТГФ⁸⁶ или в условиях кислотно-катализируемого гидролиза (например, действием AcOH в смеси ТГФ–H₂O)^{43, 99}.

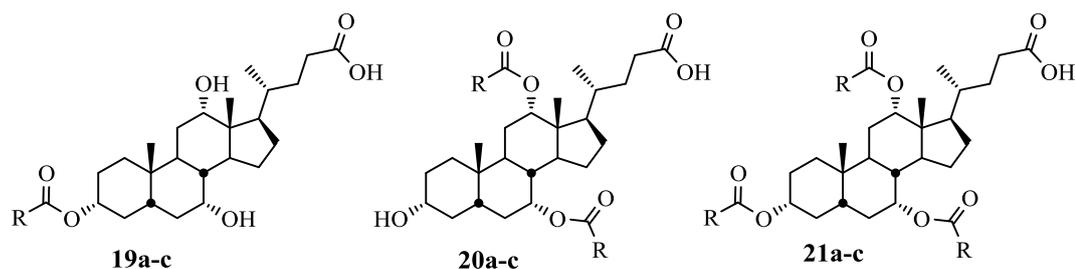
Таким образом, показаны подходы к защите нативных гидроксильных групп ЖК, использующиеся в настоящее время, – образование сложных эфиров, ацеталей, простых метиловых и триалкилсилиловых эфиров. Выбор конкретной защитной группы зависит от устойчивости соединения в ходе планируемых стадий синтеза, а также легкости её введения и удаления.

1.4.2. Синтез сложных эфиров карбоновых и минеральных кислот, простых эфиров по гидроксильным группам

Синтез производных ЖК модификацией нативных гидроксильных групп является одним из подходов к изменению физико-химических свойств молекулы (полярности, растворимости), а также или получению конъюгатов ЖК с биологически активными соединениями и лекарственными агентами. Модификация может осуществляться одними и теми же или разными фрагментами.

Введение одной или нескольких углеводородных групп в структуру ЖК увеличивает липофильность молекулы в целом. В работе¹²⁷ взаимодействием ХК с хлорангидридами масляной, каприновой и пальмитиновой кислот синтезировали моно-, ди- и тризамещенные по гидроксильным группам производные **19-21** (Рисунок 4). Данную модификацию проводили с целью поиска соединений, способствующих увеличению трансдермального проникновения или кишечной абсорбции трудноабсорбируемых лекарств. В данной работе были оценены липофильность и гидрофобность полученных соединений, а также их способность увеличивать кишечную и трандермальную абсорбцию в тестах *in vitro* с использованием теофиллина в качестве модельного препарата. Соединения **19b** и **21b** лучше остальных способствовали

трансдермальному проникновению, а производное **20b** – кишечной абсорбции модельного препарата. Последующая оценка токсичности синтезированных соединений в отношении опухолевых клеточных линий человека СЕМ, MCF7 и неопухолевых клеток VJ показала, что только соединения **19b**, **19c**, **20b**, **21a** проявили антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеток (IC_{50} варьировалось от $16.4 \cdot 10^{-6}$ до $34.6 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹). Остальные производные обладали низкой токсичностью ($IC_{50} > 37 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹) в отношении как опухолевых, так и нормальных клеток, поэтому их можно рассматривать в качестве потенциальных агентов повышающих абсорбцию лекарств в кишечнике.



R = Prⁿ (a), n-C₉H₁₉ (b), n-C₁₅H₃₁ (c)

Рисунок 4

В качестве примеров производных ЖК, модифицированных функциональными фрагментами различной структуры, можно привести соединения **22a-c** (Рисунок 5). Данные производные были получены комбинированной этерификацией 7- и 12-ОН-групп метилового эфира 3-оксо ХК **12** дигидропираном и бензоилхлоридом. Они являются потенциальными ингибиторами Р-гликопротеина – мембранного белка, ответственного за множественную лекарственную устойчивость¹³¹.

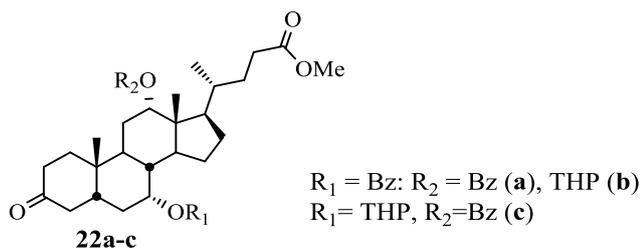


Рисунок 5

В работе¹²⁸ последовательной этерификацией 3-ОН-группы соединения **23** оксазолидинкарбоксилатом **24**, и 7-ОН-группы бензоилбромидом с последующим восстановлением сложноэфирной группы в боковой цепи соединения **26** до карбоксильной синтезировали производное ХК **27** (Схема 4). Последнее представляет собой миметик доцетаксела (**28**) – противоракового препарата ряда таксанов. В тестах по деполимеризации тубулина соединения **26** и **27** оказались неактивными по сравнению с доцетакселом, но в

исследовании полимеризации тубулина получены значения $IC_{50} = 3.8 \cdot 10^{-6}$ и $9.4 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹ соответственно, в то время как доцетаксел не проявил активности в данном тесте.

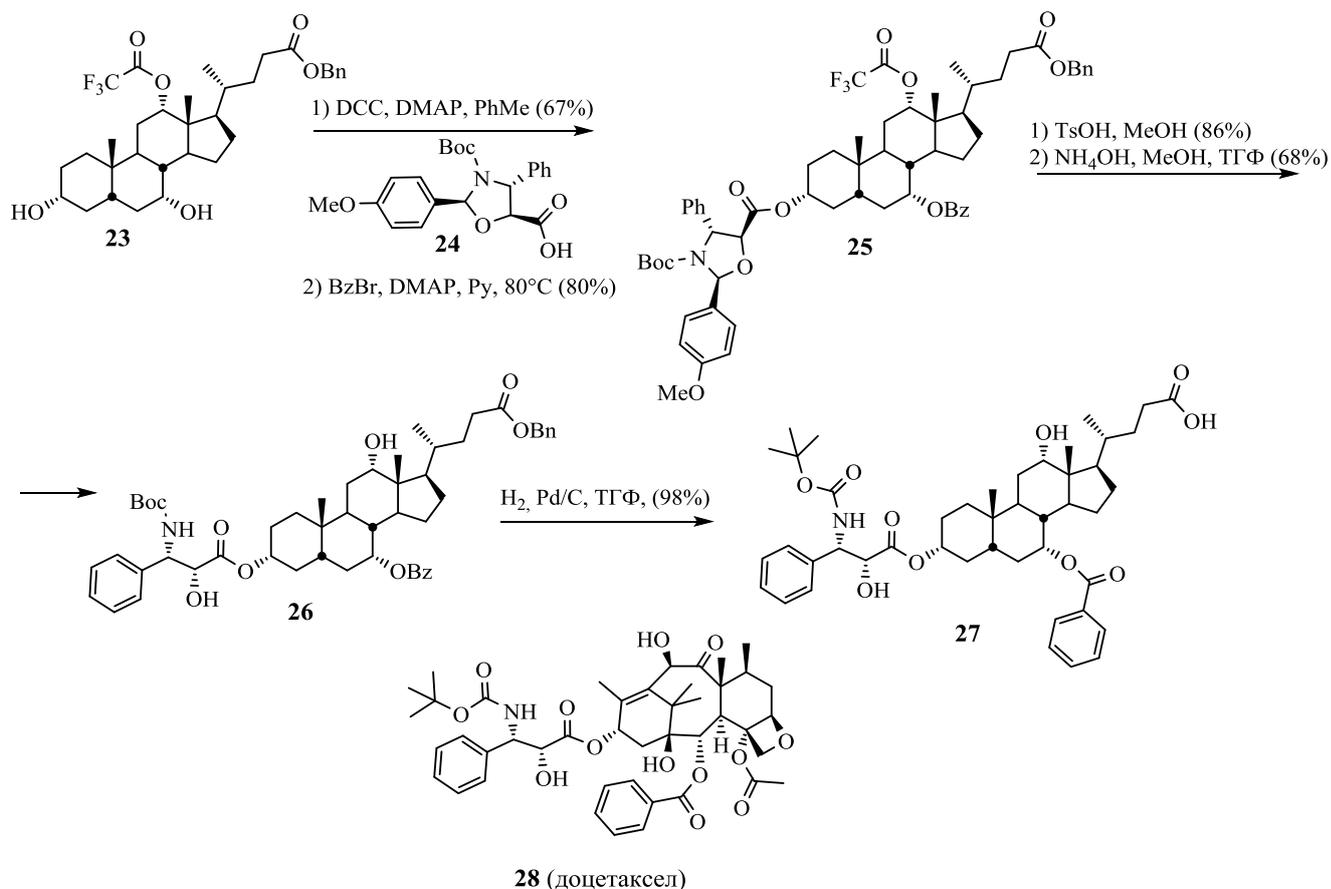


Схема 4

Этерификация гидроксильных групп ЖК полифункциональными карбоновыми кислотами приводит к соединениям, перспективным для последующих модификаций, в первую очередь для синтеза димеров и олигомеров ЖК, конъюгатов ЖК с биологически активными молекулами, в которых фрагмент полифункциональной карбоновой кислоты выступает линкером.

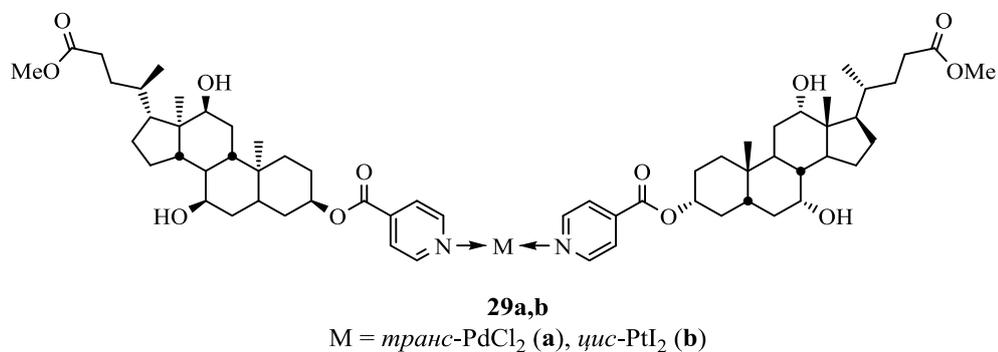


Рисунок 6

Например, сложные эфиры пиридин-4-карбоновой кислоты и ЖК образуют с ионами палладия или платины димеры **29a,b** (Рисунок 6) посредством координационных связей с атомом азота пиридинового цикла. Такие структуры можно рассматривать в качестве аналогов

ионных каналов, образующих открытую или закрытую формы в зависимости от наличия или отсутствия лиганда соответственно¹³².

Конъюгаты по карбоксильной группе с ювеноидами (природными биологически активными вторичными спиртами, аналогами ювенильных гормонов насекомых, являющихся потенциальными экологически безопасными инсектицидами) димеризовали путем этерификации адипиновой кислотой с участием 3-ОН-группы⁷² (соединения **30a,b**, Рисунок 7), или вводили в реакцию со стигмастеролом, используя в качестве линкера фрагмент янтарной кислоты⁷³ (соединения **31a,b**, Рисунок 7).

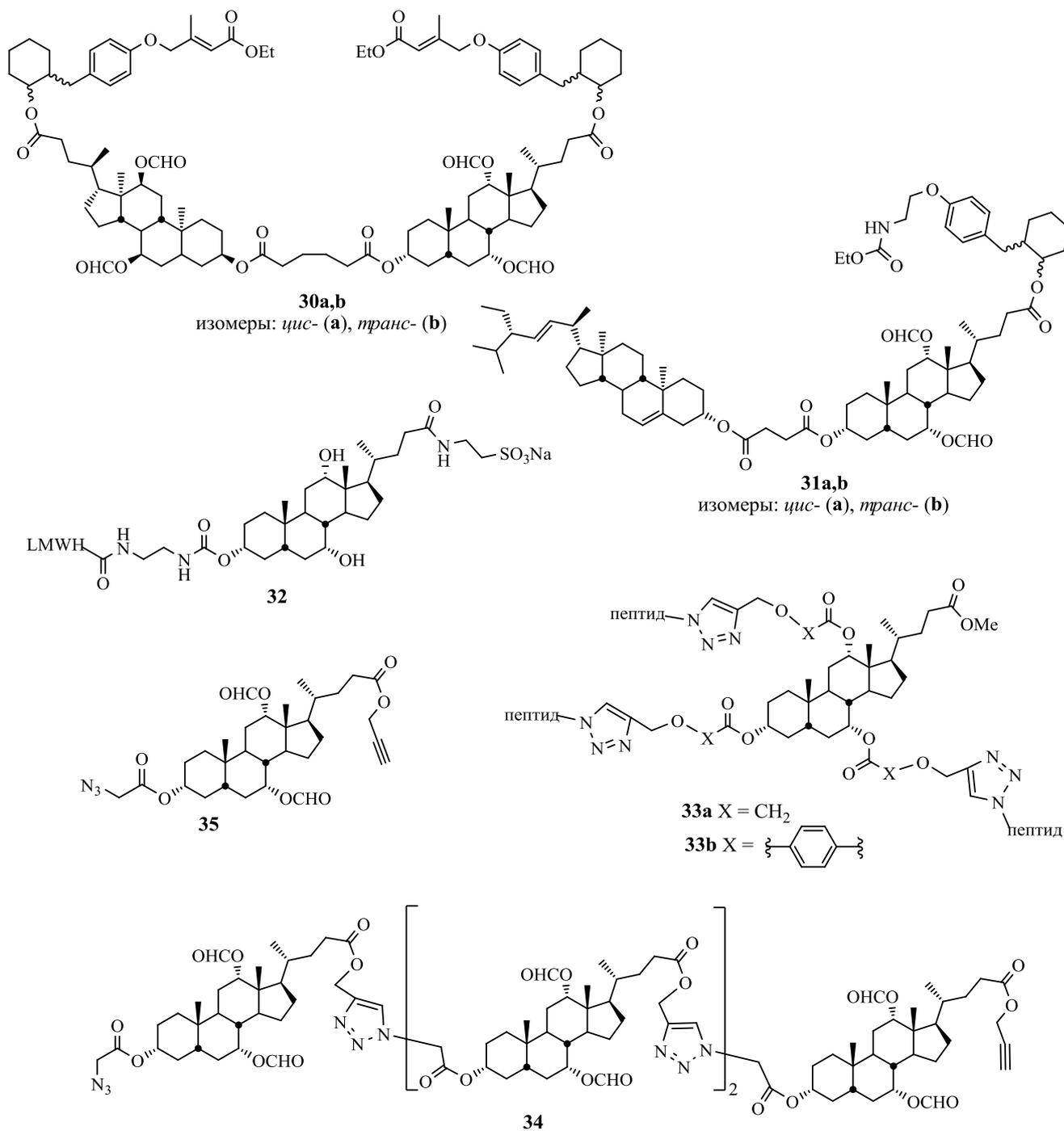


Рисунок 7

Из натриевой соли таурохолевой кислоты (конъюгата холевой кислоты с таурином) с участием фрагмента дикарбаминовой кислоты был синтезирован конъюгат с низкомолекулярным гепарином (LMWH) – продукт **32** (Рисунок 7), который ингибирует ангиогенез и в настоящее время активно исследуется^{133, 134}.

Модификацию остова ЖК фрагментами карбоновых кислот, содержащих терминальную тройную связь, использовали для дальнейшего присоединения пептидов, сопровождающегося образованием 1,2,3-триазольного цикла (соединения **33a,b**, Рисунок 7)⁶⁴. В работе¹³⁵ на основе ЖК был синтезирован олигомер **34** (Рисунок 7), в котором мономерные фрагменты были соединены посредством линкера, содержащего 1,2,3-триазол и сложноэфирную связь. Ключевым интермедиатом в синтезе выступало производное ЖК **35**, в котором в боковой цепи присутствовала пропаргиловая сложноэфирная группа, а в положении 3 – фрагмент α -азидоуксусной кислоты.

Другой областью применения сложноэфирных производных ЖК по гидроксильным группам, содержащих в структуре фрагменты полифункциональных карбоновых кислот (соединения **36-39**, Рисунок 8), является их использование в качестве вспомогательных хиральных агентов в стереоселективном синтезе^{136, 137}. В зависимости от функциональных заместителей при атоме C(7) или C(12), исследуемой реакции и природы субстрата, энантиомерный (*ee*) или диастереомерный избыток (*de*) получаемых продуктов может варьироваться от 20 до 98%.

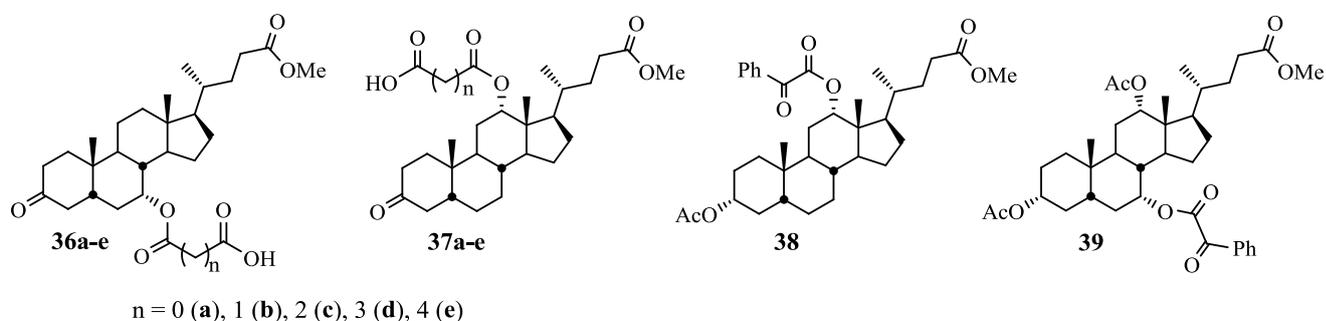


Рисунок 8

Этерификация гидроксильных групп ЖК галогенкарбоновыми кислотами позволяет в дальнейшем проводить реакции замещения атома галогена на азотсодержащие функциональные группы, взаимодействием с аминами. Производные ЖК, содержащие амино- или аммонийные группы, часто проявляют антибактериальную активность. Модификация стероидного остова ионогенными группами (например, NH_2 , COOH) является также подходом к увеличению поверхностной амфифильности ЖК. Такие поверхностные амфифилы имеют множество применений: ионный транспорт, улучшение проницаемости мембран, комбинаторная химия.

Например, в результате этерификации карбоксильной группы ЖК высшими *n*-спиртами и взаимодействия гидроксильных групп стероидного остова с хлорангидридами ω -галогенкарбоновых кислот и последующей реакцией с триметиламином образуются соединения **40a-g** (Рисунок 9), содержащие три фрагмента аммониевой соли. Они способны формировать сферические мицеллы и обладают противомикробной активностью: например, в случае соединения **40b** минимальная ингибирующая концентрация (МИС) равна $12.5 \cdot 10^{-6}$ г·мл⁻¹ для *E. coli* и *E. faecalis*¹³⁸.

В работе¹³⁹ при использовании аналогичного подхода к модификации гидроксильных групп (взаимодействие с хлорангидридом хлоруксусной кислоты и последующая реакция с пиридином), а также превращений с участием боковой цепи были синтезировали амиды ХДЖК **41a-d** с пиридилиоацильным фрагментом (Рисунок 9). Соединение **41d** проявило противомикробную активность, сравнимую с активностью известного препарата офлоксацина: значения МИС варьировались от $0.8 \cdot 10^{-6}$ до $1.6 \cdot 10^{-6}$ г·мл⁻¹ для различных микроорганизмов (*B. subtilis*, *S. longisporum*, *E. coli*, *S. enteritidis*).

В работе¹⁴⁰ приведены примеры модификации стероидного остова ЖК алифатическими аминокислотами с концевой NH₂-группой с образованием соединений **42a-f** (Рисунок 9). Превращение осуществляли взаимодействием ЖК с участием гидроксильных групп с Вос-защищенными аминокислотами в присутствии DCC и DMAP. Обработка соляной кислотой в диоксане на заключительной стадии синтеза приводила к целевым продуктам. Значения МИС для данных соединений в отношении *S. Aureus* и *E. coli* варьировались от $1.0 \cdot 10^{-6}$ до $60 \cdot 10^{-6}$ г·мл⁻¹.

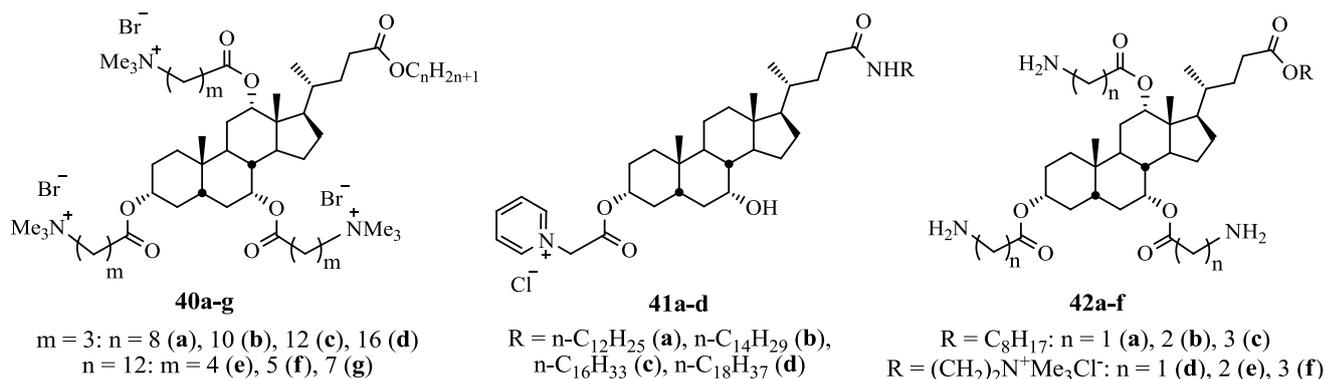


Рисунок 9

Наряду с карбоновыми кислотами в реакциях этерификации гидроксильных групп ЖК используют минеральные кислоты. В работе⁴³ из УДЖК синтезированы производные 24-нор-5 β -холан-3 α ,7 β ,23-триола **43a-f**, содержащие группы OSO₃Na в боковой цепи и/или положениях 3 и 7 стероидного остова (Рисунок 10) и исследованные в качестве агонистов ядерных рецепторов FXR и TGR5.

Авторы работы¹²⁵ с целью увеличения растворимости получили эфиры УДХК с ортофосфорной кислотой: фосфаты и гидроксиметилфосфаты по положениям 3 и 7 стероидного остова (соединения **44-45**, Рисунок 10). Урсодезоксихолевая кислота обладает множеством ценных биологических свойств, среди них проявление антиапоптотического эффекта как в моделях *in vitro* и *in vivo*. Однако сама кислота характеризуется низкой растворимостью в физиологических условиях, что уменьшает ее биодоступность и, как следствие, терапевтический эффект. Исследование биологической активности полученных соединений показало, что производное **44a** и УДХК проявляют сравнимый по величине антиапоптотический эффект.

В работе¹⁴¹ синтезированы нитроэфиры ЖК **46a-c** и нитроэфиры УДХК, в которых нитрогруппа присоединена непосредственно к остову ЖК (соединение **47a**), либо отделена от него олигометиленовой цепочкой (соединения **47b,c**, Рисунок 10). Нитрогруппа является NO-генерирующим фрагментом. Одним из полезных биологических эффектов оксида азота (II), оказываемых на организм человека, является защита печени от развития фиброза и цирроза и вызываемых ими повреждений. Поскольку ЖК обладают органотропизмом в отношении печени, присоединение NO-генерирующего фрагмента к ЖК позволяет создать агент, селективно доставляющий NO в печень. Соединения **47b,c** в тестах *in vivo* проявили наибольший защитный эффект от индуцируемых *N*-(4-гидроксифенил)ацетамидом или тетрахлорметаном повреждений печени.

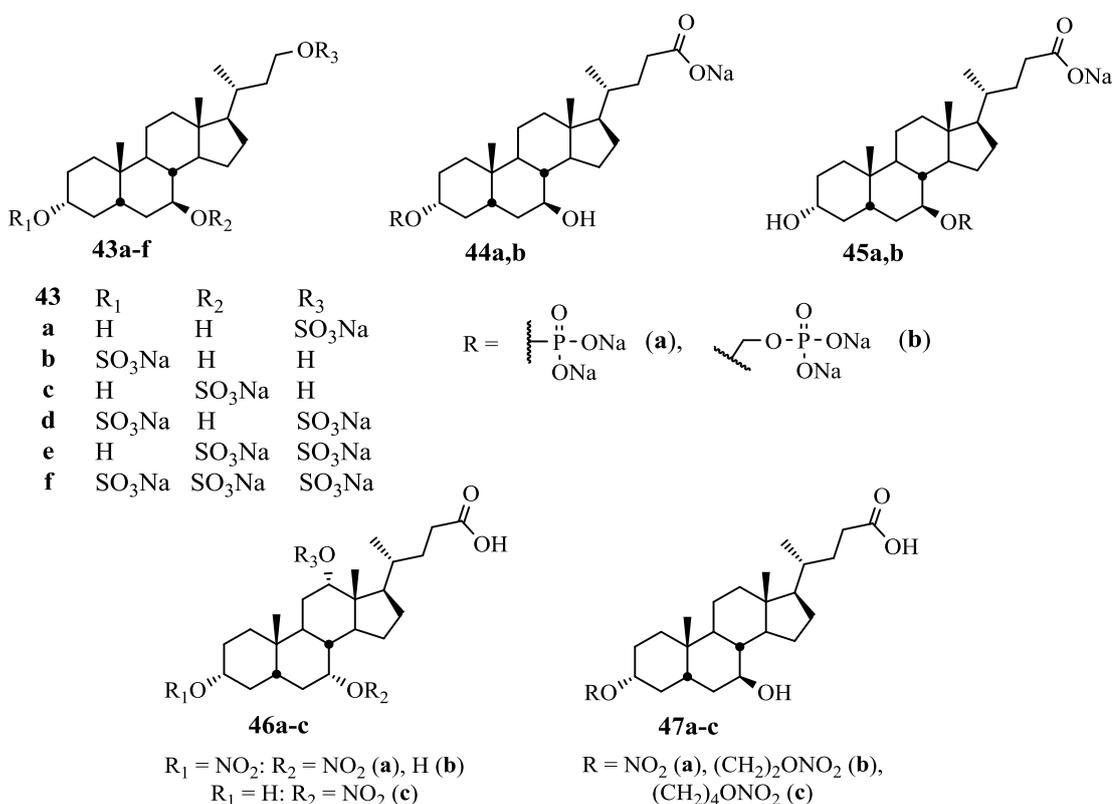


Рисунок 10

Модифицировать стероидный остов ЖК дополнительными функциональными группами можно также посредством реакций, в результате которых образуются простые эфиры по гидроксильным группам.

Одним из самых удобных подходов к синтезу производных ЖК, содержащих простую эфирную связь, а также новые функциональные группы, является модификация соответствующих аллиловых эфиров. Аллиловые эфиры (например, **48**, Схема 5) синтезируют взаимодействием ЖК или их производных с аллилгалогенидами в присутствии оснований¹⁴².

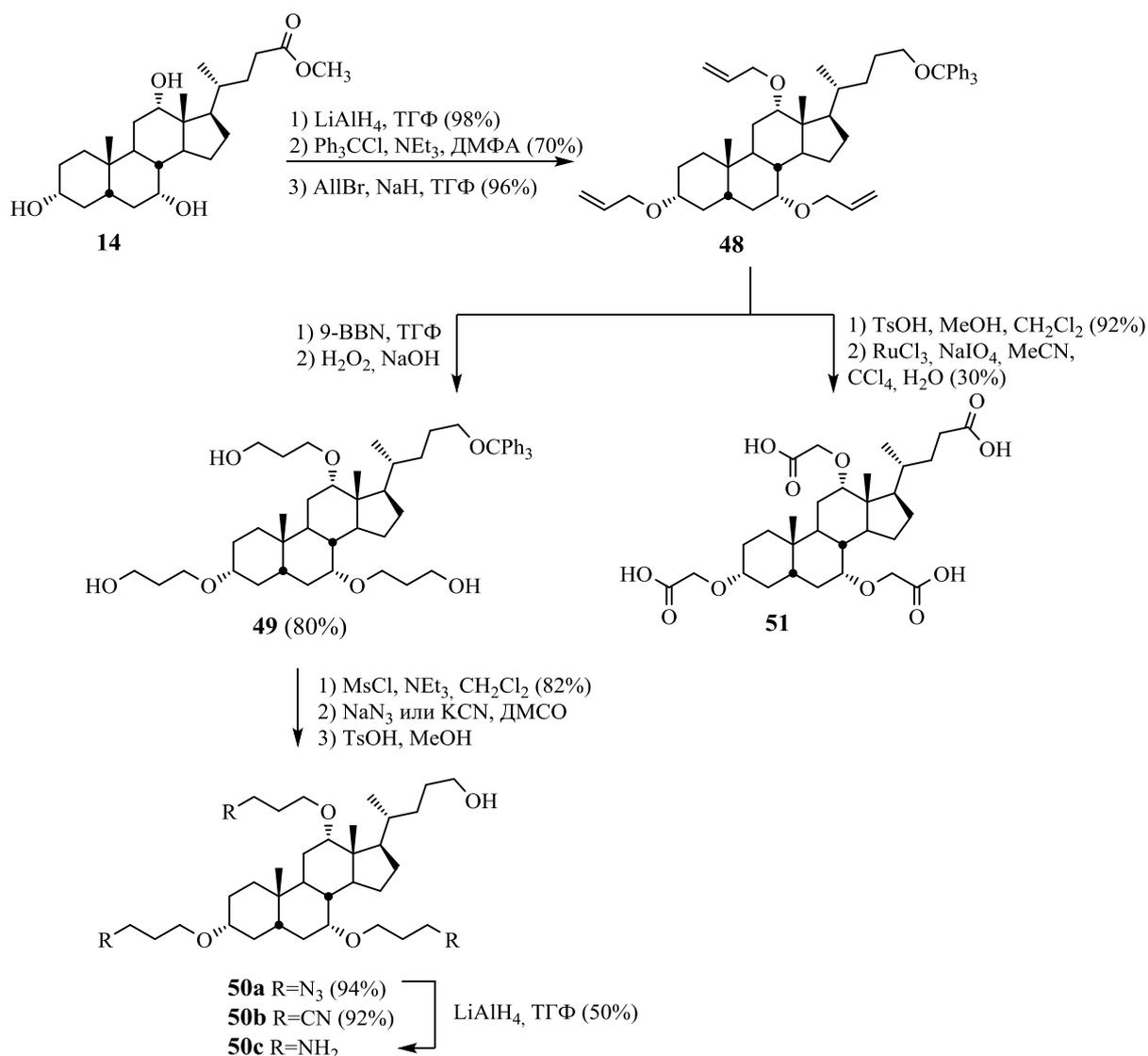
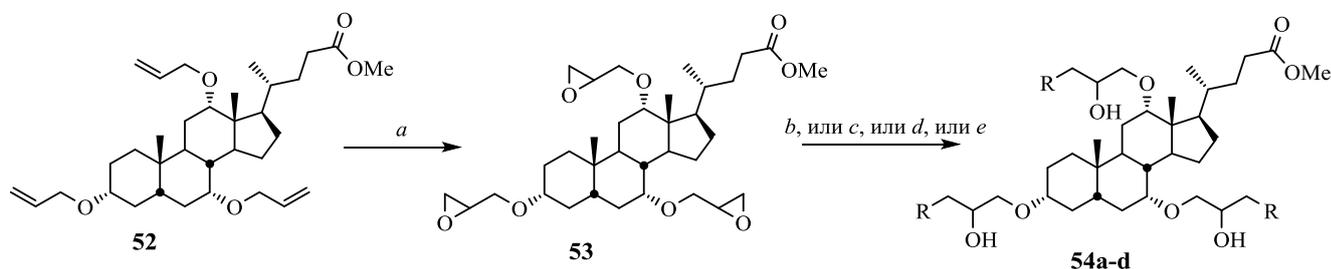


Схема 5

Последующая реакция гидроборирования двойных связей соединения **48** действием 9-борабицикло[3.3.1]нонана (9-BBN) и обработка пероксидом водорода в присутствии NaOH приводят к ключевому интермедиату **49**, содержащему гидроксильные группы, которые присоединены к остову ЖК через линкер. Активация OH -групп взаимодействием с мезилхлоридом открывает возможность дальнейшего нуклеофильного замещения и модификации остова ЖК другими функциональными группами. Так, в патенте¹⁴² описан синтез

производных ЖК **50a-c**, содержащих азидо-, циано- или аминогруппы (Схема 5). Наряду с нуклеофильным замещением, аллильное производное **48** может подвергаться окислительной деструкции с расщеплением кратной связи под воздействием RuCl_3 и NaIO_4 , в результате образуется производное ЖК, содержащее в остове карбоксильные группы, например, соединение **51** (Схема 5)¹⁴³. Модификация стероидного остова полярными группами позволяет варьировать поверхностную амфифильность ЖК и их гидрофобные/гидрофильные свойства, а наличие простой эфирной связи обуславливает устойчивость соединения в кислотных и щелочных средах.

Окисление двойной связи в аллильных производных ЖК (например, соединении **52**, Схема б), приводящее к формированию эпоксидного цикла, открывает возможности синтеза соединений сложного строения с разным числом катионных или анионных групп. Так, при раскрытии эпоксидного цикла в соединении **53** под действием нуклеофилов (NaOH , Na_2SO_3 , $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$, 3-(метиламино)пропан-1,2-диола) образуются продукты **54a-d** (Схема б)¹⁴⁴. Такие производные ЖК являются потенциальными терапевтическими агентами, поскольку введение полярных групп различной природы и варьирование их числа позволяют менять баланс между гидрофильностью и липофильностью соединения, что может повлечь за собой усиление растворяющей и/или абсорбирующей способности продуктов по сравнению с исходной кислотой.



a - *m*-CPBA, CH_2Cl_2 (80%), *b* - для **54a**: NaOH , H_2O ; *c* - для **54b**: 1) Na_2SO_3 , H_2O ; 2) MeOH , H_2SO_4 ;
d - для **54c**: 1) NHMe_2 ; 2) HCl ; *e* - для **54d**: $\text{MeNHCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$;
 R = OH (**a**, 67%), SO_3Na (**b**, 48%), $\text{N}^+\text{HMe}_2\text{Cl}^-$ (**c**, 74%), $\text{N}(\text{Me})\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ (**d**, 64%)

Схема 6

Особенности структуры и полифункциональность ЖК дают возможность в случае соответствующих производных проводить внутримолекулярные реакции. В работе¹⁴⁵ из соединений **55a-d** реакцией метатезиса с участием аллилового эфира при атоме C(12) и сложноэфирной группы в боковой цепи, содержащей терминальную двойную связь, синтезированы пентациклические стероиды **56a-d** (Схема 7).

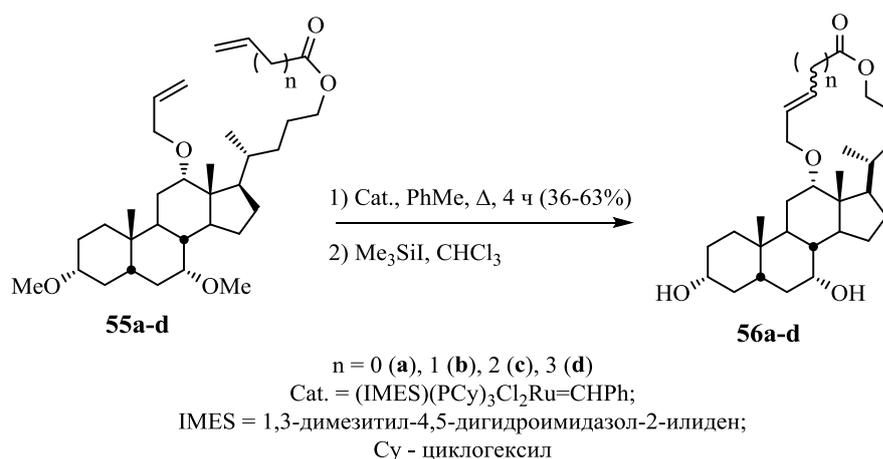


Схема 7

Таким образом, этерификация гидроксильных групп стероидного остова карбоновыми кислотами, включая полифункциональные кислоты, минеральными кислотами, а также биологически активными молекулами открывает путь к синтезу широкого круга производных ЖК, в том числе димеров, олигомеров и конъюгатов, обладающих ценными биологическими и/или физико-химическими свойствами. Синтез производных ЖК, содержащих в структуре простые эфирные связи, осуществляется через промежуточное получение аллиловых эфиров с целью последующей модификации двойных связей, сопровождающейся образованием дополнительных полярных функциональных групп. Такие превращения позволяют увеличить амфифильность стероидного остова, а наличие простой эфирной связи обуславливает устойчивость соответствующих производных в кислотных и щелочных средах.

1.4.3. Реакции замещения и элиминирования гидроксильных групп

Одним из направлений модификации стероидного остова ЖК является замена гидроксильных групп на другие функции, осуществляемая реакциями нуклеофильного замещения, в ходе которых, как правило, происходит изменение конфигурации хирального центра (с α на β). Для сохранения α -конфигурации новой функциональной группы проводят последовательность превращений, включающую двойную инверсию хирального центра.

Примером замещения гидроксильной группы, сопровождающегося инверсией хирального центра, является реакция Мицунобу. В работе¹²¹ при взаимодействии соединения **57** с трифенилфосфином и диэтиловым эфиром азодикарбоновой кислоты (DEAD) в присутствии муравьиной кислоты получено 3β -формилоксипроизводное **58** (Схема 8). Последующим гидролизом полученного продукта можно синтезировать 3β -гидроксипроизводные ЖК, а описанную схему превращений можно рассматривать как подход к синтезу β -эпимеров ЖК.

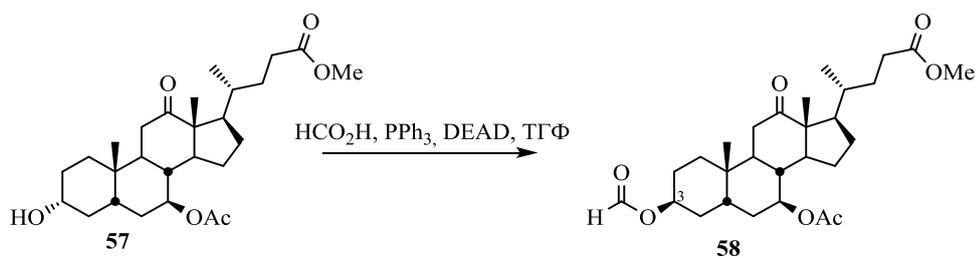


Схема 8

Замена 3 α -гидроксильной группы на азидогруппу с α - или β -конфигурацией часто используется при модификации ЖК. Так, в 3 α -гидроксипроизводном **59** предварительно активируют 3-ОН-группу взаимодействием с мезилхлоридом, а затем реакцией нуклеофильного замещения в интермедиате **60** получают 3 β -азидопроизводное **61** (Схема 9).

Примером синтеза азидопроизводного с 3 α -конфигурацией является схема превращений, осуществленная авторами работы¹²⁶. Реакцией соединения **59** с *N*-бромсукцинимидом (NBS) в присутствии PPh₃ получено 3 β -бромпроизводное **62**, которое при последующем взаимодействии с азидом натрия дает 3 α -азид **63** (Схема 9). Наряду с описанной выше последовательностью превращений для синтеза 3 α -азидопроизводных ЖК также используют последовательное проведение реакций Мицунобу и нуклеофильного замещения образовавшейся 3 β -функциональной группы на азидогруппу^{146, 147, 148}.

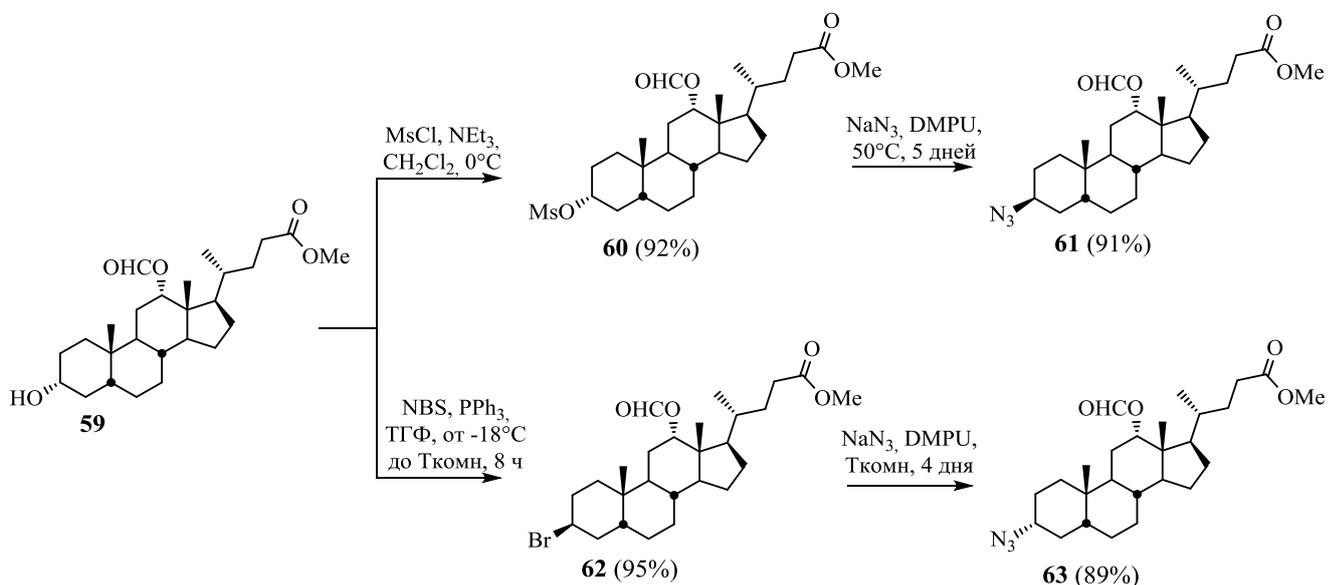


Схема 9

Азидогруппа является важным структурным фрагментом биологически активных соединений. Так, в работе¹²⁶ комбинированной модификацией стероидного остова и боковой цепи были синтезированы различные амиды ЛХК, ХДХК и ДХК, содержащие азидогруппу в положении 3 (соединения **64-67**, Рисунок 11). Исследование биологической активности полученных соединений показало, что они способны вызывать апоптоз опухолевых клеточных линий Сасо-2 и НТ1080 в микромолярных концентрациях. Наиболее активными оказались

производные ДХК **66b** и **67b**: IC_{50} для линии Сасо-2 составляла $6.3 \cdot 10^{-6}$ и $2.3 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹ соответственно; а в случае НТ1080 – $1.9 \cdot 10^{-6}$ и $5.7 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹.

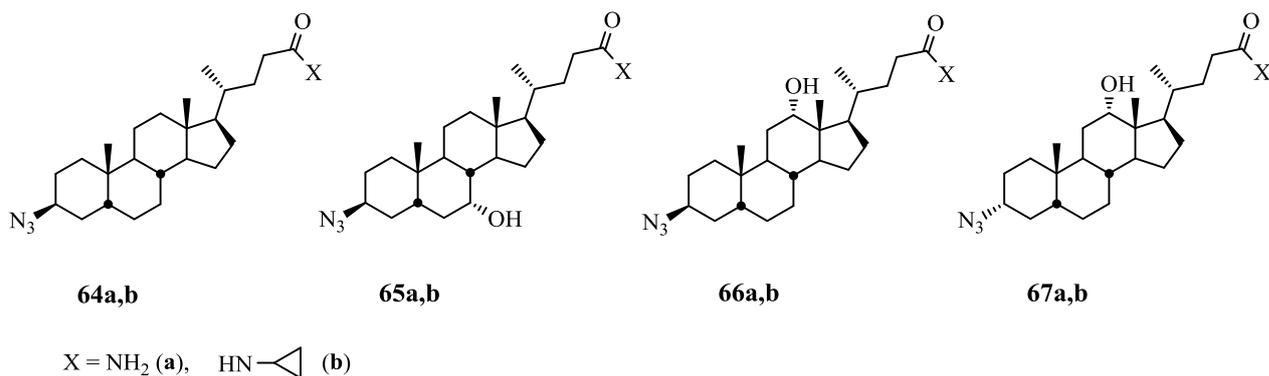


Рисунок 11

Азидопроизводные ЖК являются одними из ключевых интермедиатов в синтезе аминопроизводных ЖК. Восстановление азидогрупп до аминогрупп может осуществляться несколькими способами, например цинковой пылью в уксусной кислоте¹⁴⁶, водородом на различных катализаторах^{148, 149} или трифенилфосфином в ацетонитриле и последующей обработкой водой¹⁴⁹. Дальнейшая модификация как азидо-, так и аминопроизводных ЖК позволяет синтезировать соединения различной структуры, обладающие ценными биологическими и/или физико-химическими свойствами. Ниже приведены несколько примеров таких соединений.

Производные ЖК, содержащие фрагменты гуанидина и ароматических аминов, например соединение **68** (Рисунок 12), использовали в качестве вспомогательных агентов для энантиоселективной экстракции хиральных карбоксилатов (на примере *N*-ацетил- α -аминокислот) из водной среды в органическую, энантиомерный избыток достигал 80%^{146, 147}. Соединения **69a,b** на основе ДХК (Рисунок 12), в структуре которых присутствуют фрагменты ароматических аминов и амидные группы, применяли в качестве хиральных добавок к силикагелю, с целью получения хиральных стационарных фаз для хроматографического разделения рацемических смесей¹⁴⁸. На основе 3 β -азидопроизводного ЖК синтезировали конъюгаты с насыщенными жирными кислотами (соединения **70a-d**, Рисунок 12); при исследованиях биологической активности они зарекомендовали себя в качестве потенциальных агентов, предотвращающих кристаллизацию холестерина в желчи¹⁵⁰, либо замедляющих развитие атеросклероза *in vivo*¹⁵¹. Производные ЖК могут выступать в качестве лигандов для формирования комплексов тяжелых металлов, например Gd^{III} (соединение **71**, Рисунок 12). Такие комплексы являются перспективными контрастами для магнито-резонансной томографии^{149, 152}. Производное ДХК **72** (Рисунок 12), содержащее адамантильный фрагмент, использовали для стабилизации наночастиц при разработке биодоступных форм лекарственных

композиций⁴⁹. В работе¹⁵³ модификацией УДХК были синтезированы фотолуминесцирующие комплексы иридия (III) (например, соединение **73**, Рисунок 12).

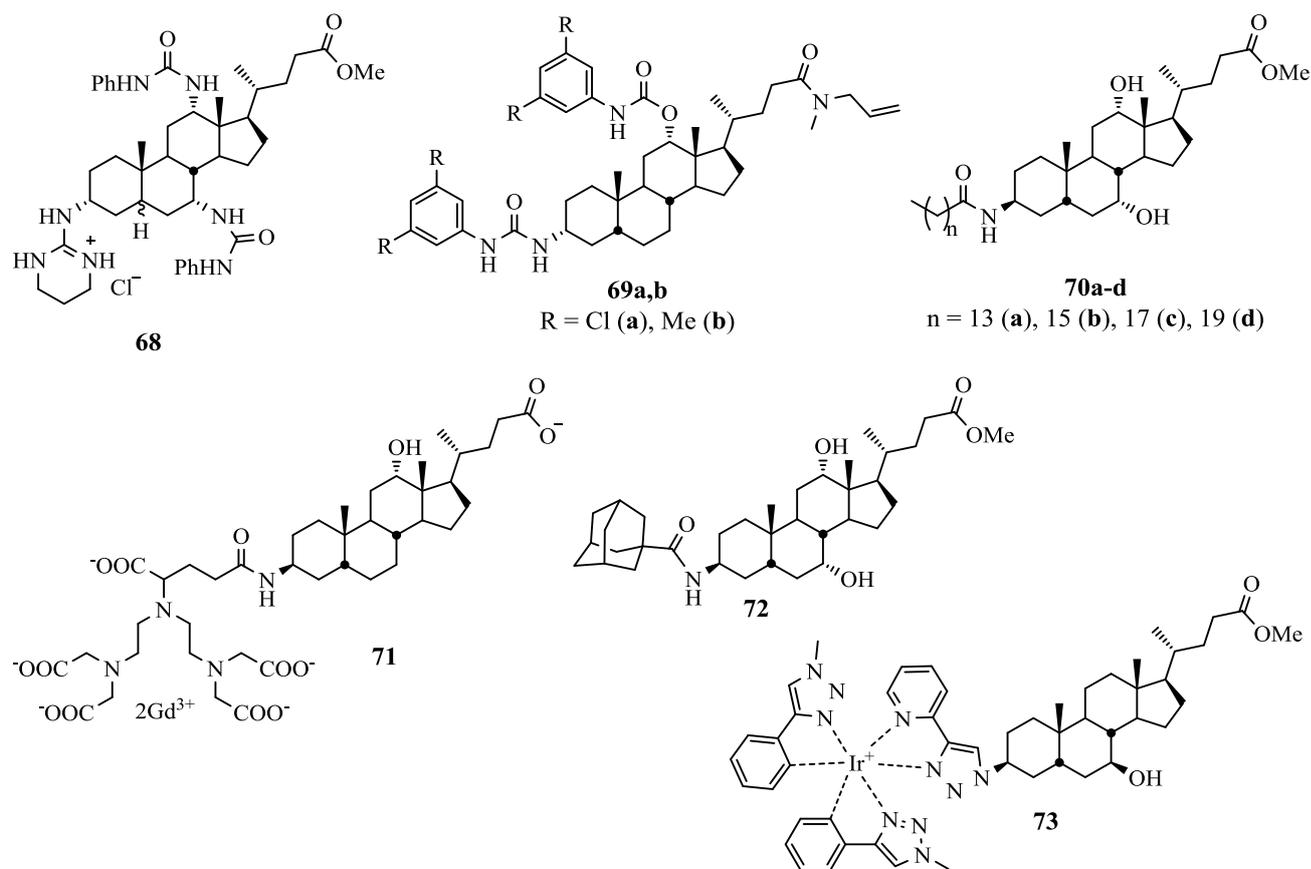


Рисунок 12

Другим направлением модификации стероидного остова ЖК является образование двойных связей. Формирование двойных связей осуществляют реакциями элиминирования мезил- и тозилпроизводных ЖК при нагревании со щелочами или органическими основаниями. На схеме 10 приведены примеры таких реакций, в результате которых образуются ненасыщенные связи в циклах А, В и С различных производных ЖК. Нагревание 12-мезилата ХК **74** с ацетатом калия в гексаметилфосфортриамиде (НМРА) в течение 48 часов приводит к соединению **75**, содержащему 11(12)-двойную связь^{154, 155}. При кипячении 7-мезилата ХДХК **76** в 2 М растворе NaOH в MeOH образуется соединение **77**, содержащее 7(8)-двойную связь¹²⁶. Обработка 3-тозилата ХК **78** 1,2-лутидином дает смесь соединений **79** и **80**, содержащих 2(3)- и 3(4)-двойную связь соответственно¹⁵⁶, причем продукт с 3(4)-двойной связью является основным (выход 59%), а соединение, содержащее 2(3)-двойную связь образуется в количестве, не превышающем 15%¹⁵⁷. При проведении аналогичной реакции с 3-тозил производными других ЖК (ЛХК, ДХК, ХДХК) образуется единственный продукт, содержащий 3(4)-двойную связь¹⁵⁷.

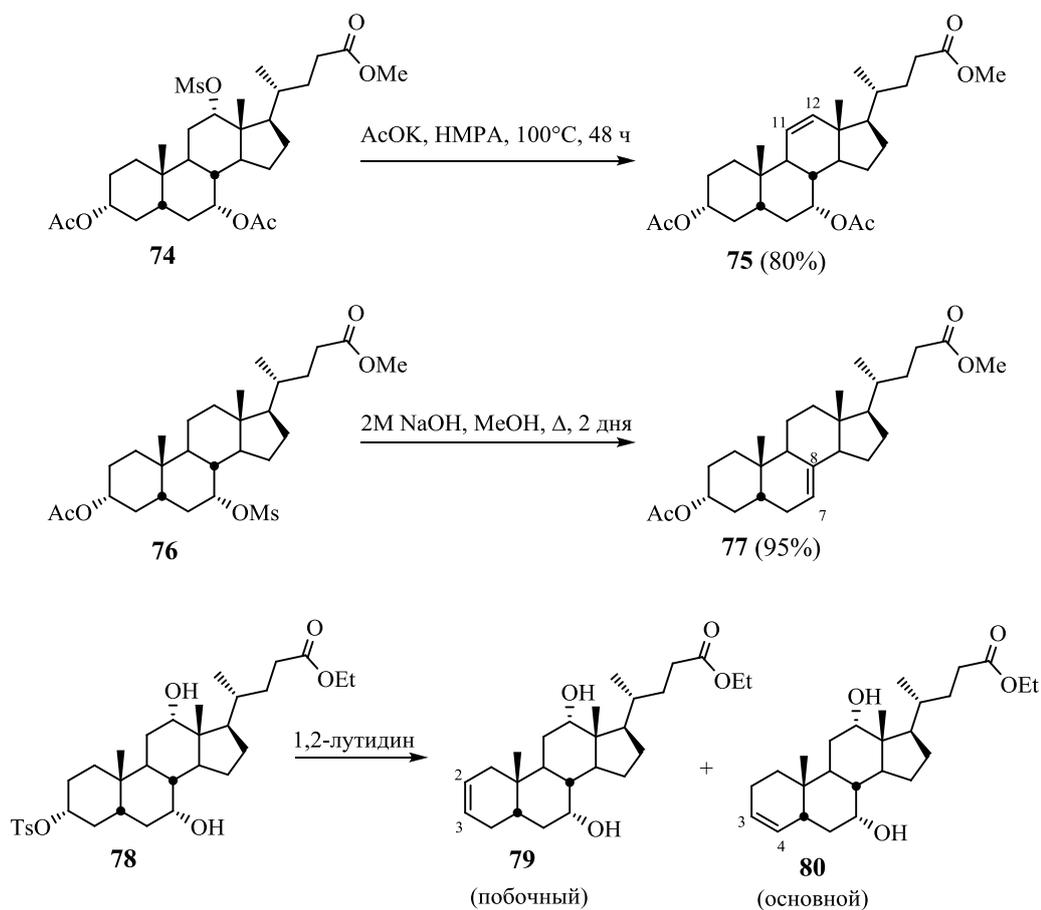


Схема 10

Кратные связи стероидного остова впоследствии могут быть модифицированы. Например, авторы работ^{154, 155} взаимодействием соединения **75** с *meta*-хлорпероксибензойной кислотой (*m*-CPBA) в CH₂Cl₂ при комнатной температуре получили 11α,12α-эпоксид **81** (Схема 11). Последующее раскрытие эпоксидного цикла алифатическими и ароматическими первичными аминами и тиолами, а также KSeCN приводило к соответствующим продуктам с азот-, серо- или селенсодержащей функциональной группой при атоме C(11). Наряду с раскрытием эпоксидного цикла в каждом случае также протекала внутримолекулярная лактонизация между сложноэфирной группой в боковой цепи и гидроксильной группой в положении 12, в результате чего образовывались соединения **82-83a-g** и **85**. Несмотря на необычность превращения, выходы продуктов на этой стадии варьировались от 63 до 86%. Серосодержащие производные **83a-g** затем окисляли действием *m*-CPBA до сульфонов **84a-g**.

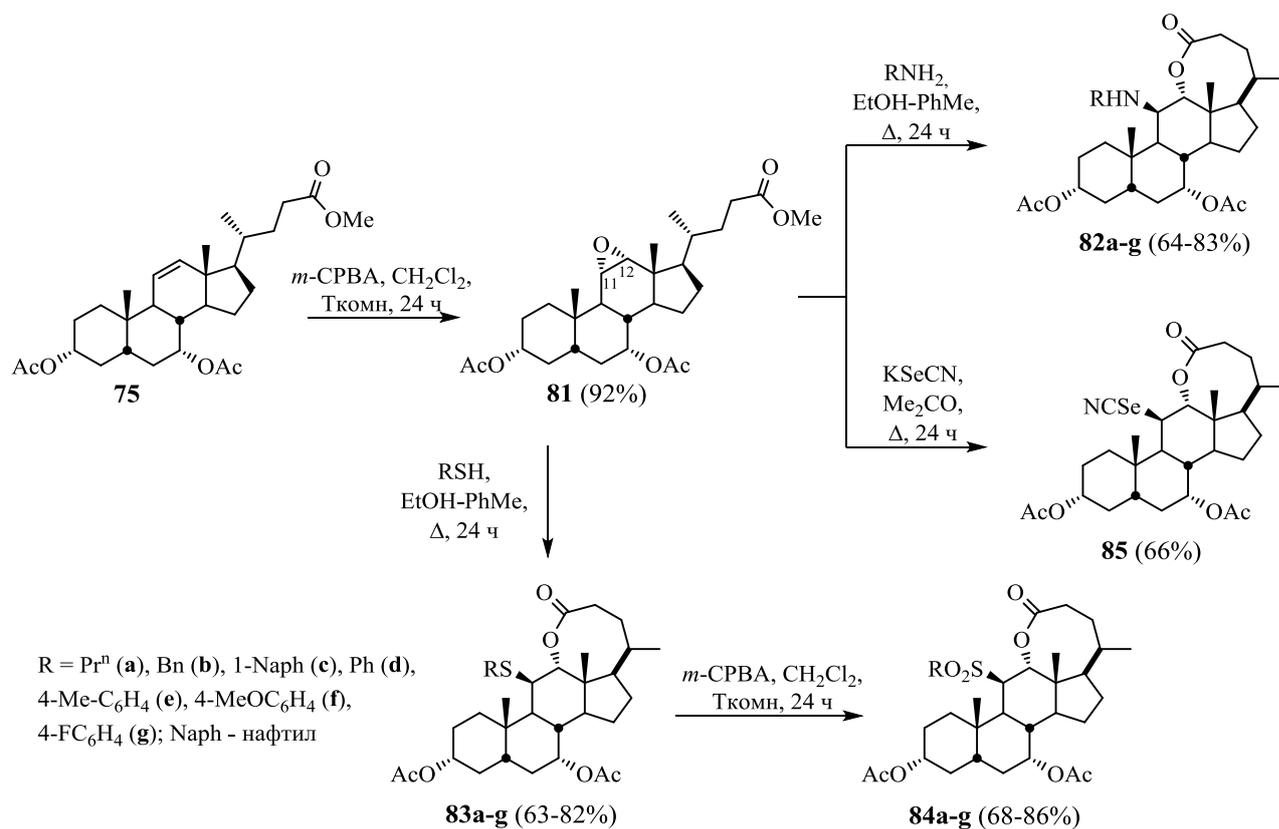


Схема 11

Таким образом, в данном разделе были рассмотрены подходы к модификации стероидного остова ЖК посредством реакций нуклеофильного замещения, протекающими как с сохранением, так и с инверсией конфигурации хирального центра при атоме С(3). Представлены реакции элиминирования активированных мезил- или тозилхлоридом гидроксильных групп, приводящие к образованию кратных связей в остова ЖК, а также последующие превращения полученных продуктов.

1.4.4. Окисление гидроксильных групп

В настоящем разделе рассмотрены реакции окисления гидроксильных групп стероидного остова ЖК до карбонильных функций. Такая модификация открывает множество возможностей для дальнейших химических превращений, среди которых восстановление карбонильных групп до гидроксильных с β конфигурацией, синтез соединений с α -замещенными и α,β -ненасыщенными карбонильными фрагментами в стероидном остова, а также другие реакции карбонильных групп, такие как взаимодействие с различными нуклеофилами или окисление пероксикислотами и пероксидом водорода.

Как уже было отмечено выше, гидроксильные группы ЖК обладают различной реакционной способностью из-за особенностей строения стероидного остова. Комбинируя различные методы защиты и окисления гидроксильных групп и их последовательность, можно

получать моно-, ди- и триоксопроизводные ЖК. Окисление всех гидроксильных групп ЖК проводят реагентами Джонса^{123, 158, 159}, Саррета–Коллинза ($\text{CrO}_3\text{--Pu}$ в CH_2Cl_2)⁶³, хлорхроматом пиридиния (PCC)^{160, 161, 162, 163, 164}, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в уксусной кислоте¹⁴⁸, 2-иодоксибензойной кислотой (IBX) в ДМСО⁶⁷, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ в AcOH ¹⁶⁵. Однако наибольший интерес представляют реакции селективного окисления отдельных гидроксильных групп без предварительной защиты других.

Единственным селективным методом окисления 3-ОН группы ЖК является взаимодействие с Ag_2CO_3 на SiO_2 (Celite)^{130, 166, 167}, например, из эфира **86** получен кетон **87** (Схема 12).

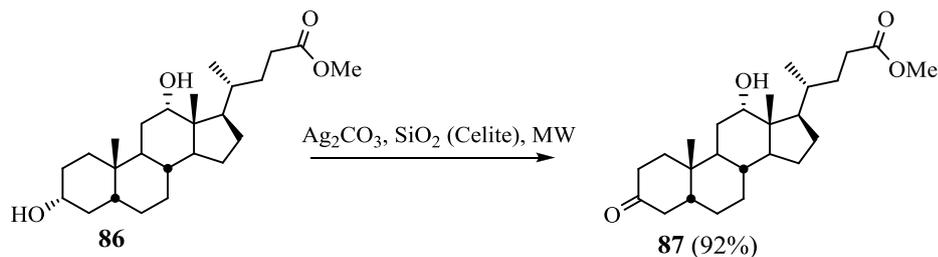


Схема 12

Селективно окислить 7-ОН группу можно несколькими способами. Реагент Саррета–Коллинза при пониженной температуре⁶³; NBS в водных^{160, 161} или водно-органических средах¹⁵⁶, а также хлорхромат пиридиния на SiO_2 в CHCl_3 ¹⁶⁸ окисляют только эту группу ЖК. Еще одним агентом, нашедшим применение в реакциях окисления ЖК, является 2-иодоксибензойная кислота (IBX). В зависимости от условий проведения реакции (растворителя, температуры, количества окислителя) происходит либо селективное окисление только ОН-группы в положении 7, либо нескольких гидроксильных групп. Так, при окислении ЖК 2-иодоксибензойной кислотой при кипячении в Bu^tOH в качестве основного продукта выделено 3,12-дигидрокси-7-оксопроизводное **88**. 3-Гидрокси-7,12-диоксопроизводное **89** является побочным продуктом и образуется в количестве $< 7.5\%$ (Схема 13)¹⁶⁹. Следует отметить, что IBX селективно окисляет только 7α -ОН-группу и не затрагивает гидроксильную группу с β -конфигурацией. Данная закономерность показана на примере взаимодействия 7β -эпимера ЖК **90** с IBX, в результате которого образуется продукт **91**, содержащий только 12-оксогруппу (Схема 13)¹⁶⁹. Окисление метилового эфира ЖК **14** с использованием 2 экв. IBX в ДМСО при комнатной температуре в течение 20 часов приводит к соединению **92**, в котором окислены 3- и 7-ОН-группы. При увеличении избытка IBX до 6 экв. и продолжительности реакции до 4 суток окисляются все гидроксильные группы и образуется метиловый эфир дегидрохолевой кислоты **93** (Схема 13)⁶⁷.

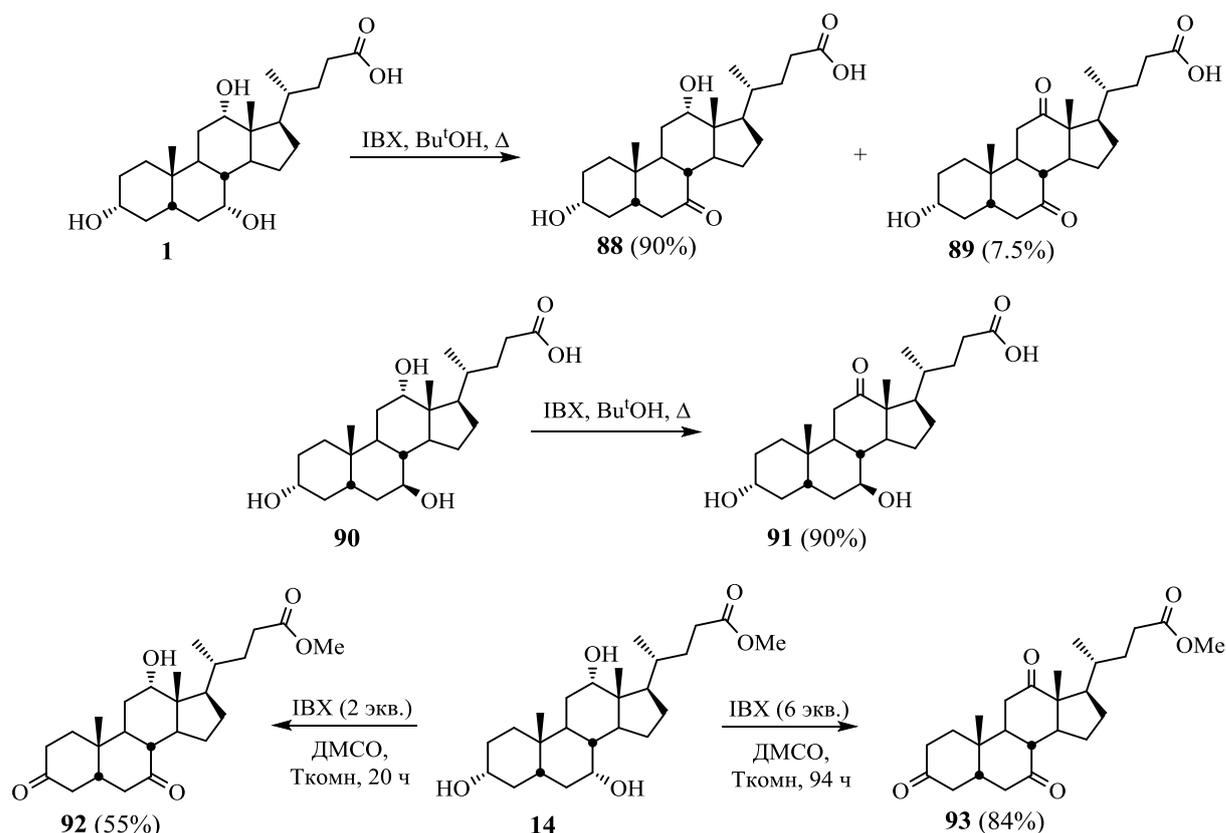


Схема 13

Наряду с классическими химическими методами окисления гидроксильных групп при модификации ЖК также используют электрохимическое окисление. Например, в работе¹⁷⁰ проводили окисление ЖК на различных анодах, которое дает возможность получать дегидро-ЖК, 7-оксо- и 7,12-диоксопроизводные ЖК. В последнее десятилетие также набирают популярность ферментативные окислительно-восстановительные системы, позволяющие проводить селективное окисление 7-ОН- и/или 12-ОН-групп до карбонильных^{16, 171, 172, 173, 174}. Для таких превращений применяют живые организмы в аэробных условиях либо выделенные из них ферменты. Достоинствами таких методов являются селективность, мягкие условия проведения и экологичность, а также возможность масштабирования до граммовых количеств.

Таким образом, для окисления отдельных гидроксильных групп стероидного остова ЖК используют химические, электрохимические и ферментативные подходы.

1.4.5. Восстановление карбонильных групп

Карбонильные группы оксопроизводных ЖК восстанавливают до метиленовых или до гидроксильных групп с α - или β -конфигурацией.

Восстановление оксогрупп по Кижнеру–Вольфу является одним из подходов к синтезу ЖК с одной или двумя гидроксильными группами^{16, 169, 173}. Например, восстановлением 12-оксогруппы соединения **91** синтезируют УДЖК (**5**) (Схема 14)¹⁶⁹.

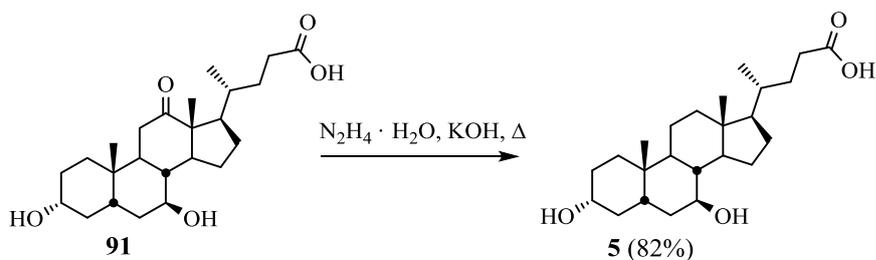


Схема 14

Карбонильные функции ЖК восстанавливают до α -ОН-групп действием боргидрида натрия⁶⁷ или органоборатов щелочных металлов (реагент Selectride)¹²⁹. Так, метиловый эфир дегидро-ЖК **93** реагирует с боргидридом натрия в метаноле с образованием 12-оксопроизводного **94** (Схема 15). Различная реакционная способность карбонильных групп позволяет проводить восстановление региоселективно⁶⁷.

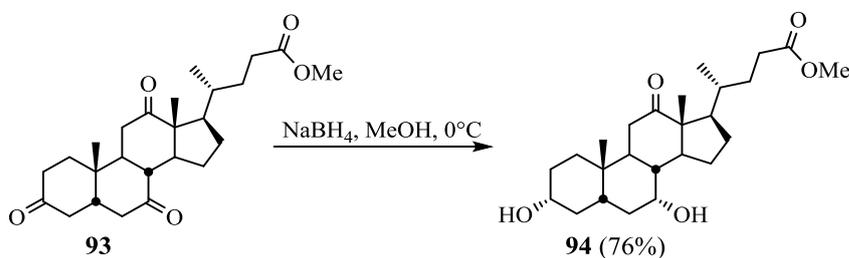


Схема 15

Восстановление карбонильных групп остова ЖК до гидроксильных со сменой конфигурации пригодно для получения труднодоступных ЖК или эпимеров существующих ЖК. Так, эпимеризацию 7α -ОН-группы проводят окислением и последующим восстановлением до 7β -ОН щелочными металлами в спирте – при кипячении с Na в *n*-бутаноле,^{16, 173} *n*-пропанол (соединение **90**, Схема 16)¹⁶⁹ или с K в *трет*-амиловом спирте¹²¹. Также используют ферментативные окислительно-восстановительные системы, содержащие никотинамидадениндинуклеотид (NAD^+/NADH), или 7α - или 7β -гидроксистероид-дегидрогеназы (HSDH) (см., например, получение соединения **95**, Схема 16)^{16, 171, 172, 173, 174}.

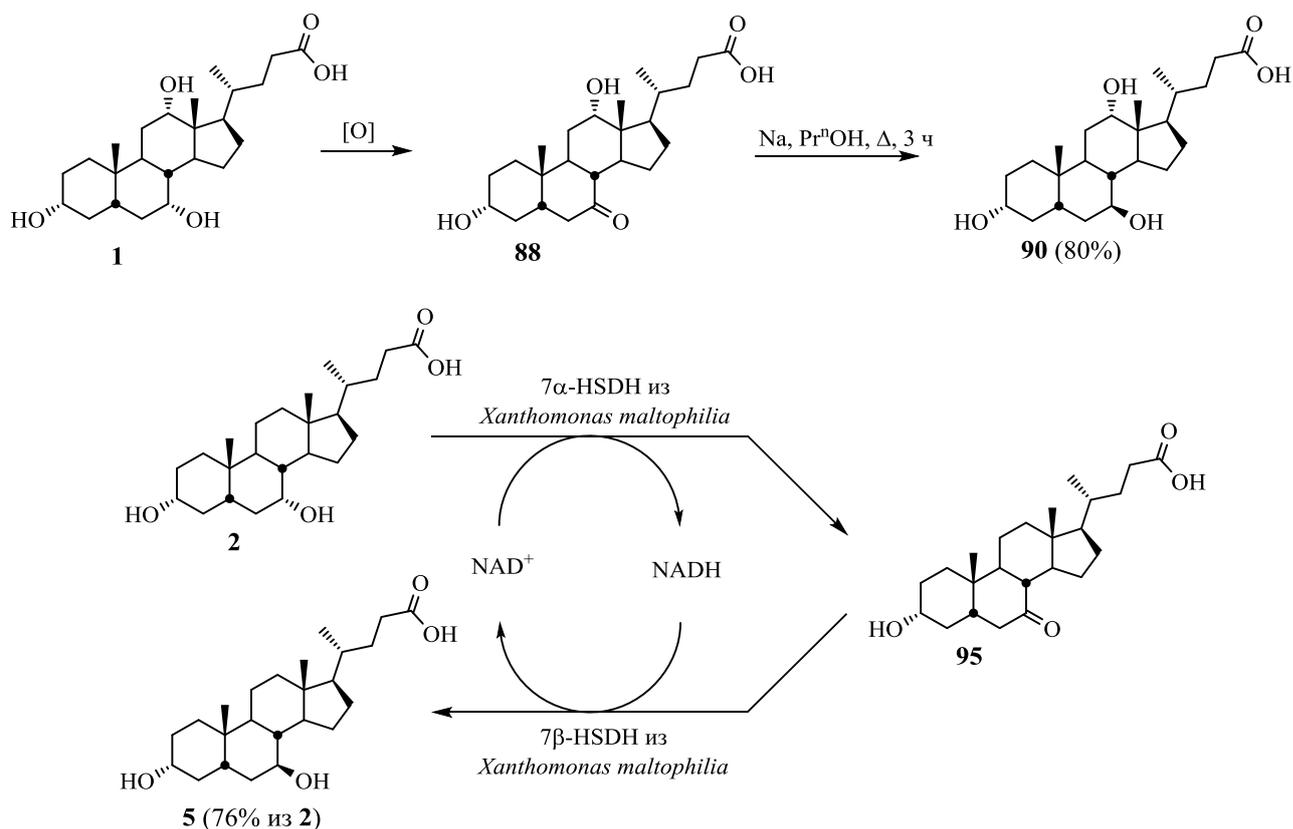


Схема 16

Таким образом, многообразие восстановительных систем в сочетании с различной реакционной способностью карбонильных групп производных ЖК позволяют проводить регио- и стереоспецифические реакции восстановления оксогрупп до метиленовых или гидроксильных групп.

1.4.6. Синтез α -замещенных карбонильных производных желчных кислот

Существование таутомерного равновесия между енольной и кетоформой карбонильных групп обуславливает широкое применение оксопроизводных ЖК в модификации стероидного остова новыми функциональными группами, такими как атомы галогенов, алкильные группы и др.

α -Бромоксопроизводные ЖК являются ключевыми интермедиатами в синтезе α -замещенных карбонильных производных ЖК, содержащих группы N_3 , OH или атом F .

Синтез 11-бром-12-оксопроизводных ЖК осуществляют взаимодействием производных ЖК, содержащих 12-оксогруппу (например, соединения **96**, **98**), с бромом в уксусной кислоте в присутствии каталитических количеств HBr при нагревании¹⁷⁵, либо в бензоле при комнатной температуре¹⁷⁶ (Схема 17). При этом авторы статьи¹⁷⁵ указывали только на выделение 11 α -бромпроизводного **97** с выходом 73% и не упоминали о 11 β -эпимере, а в работе¹⁷⁶ отмечали

образование из соединения **98** смеси 11 α - и 11 β -бромпроизводных **99a,b** с выходами 71 и 24%, соответственно.

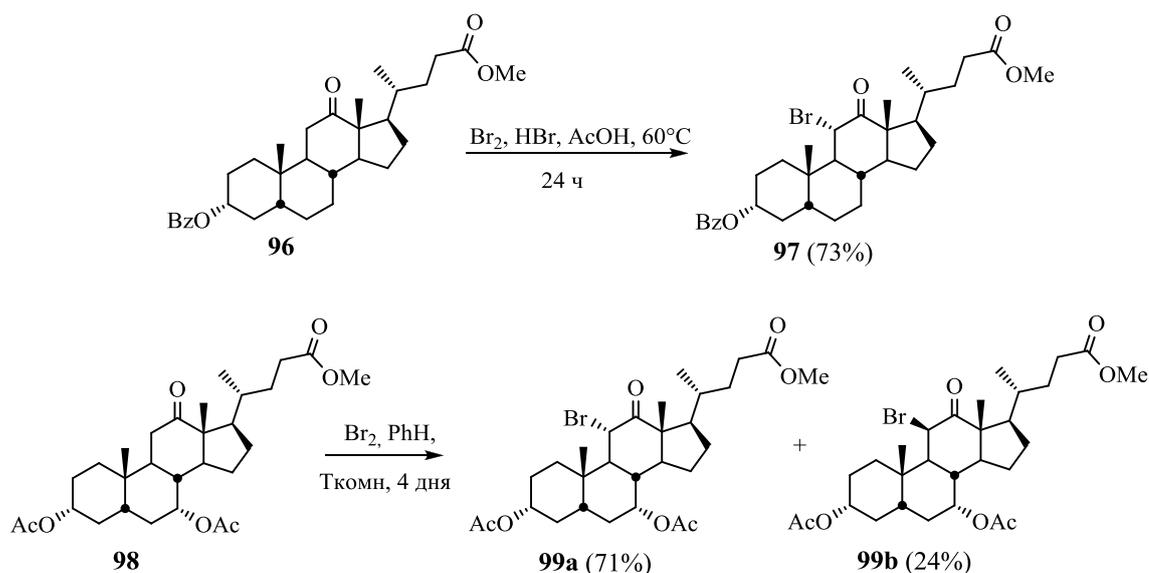


Схема 17

Взаимодействие 7-оксопроизводных ЖК с бромом приводит к образованию соответствующих 6-бромпроизводных¹⁵⁶ (например, превращение кетона **100** в продукт **101**, Схема 18).

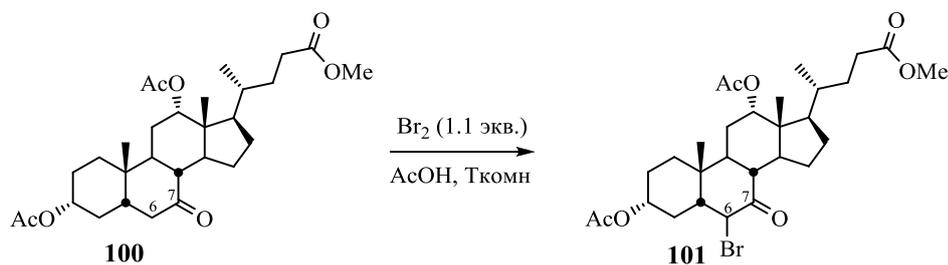


Схема 18

В отличие от 7- и 12-оксопроизводных, 3-оксопроизводные ЖК обладают двумя активными α -положениями относительно карбонильной группы (2 и 4). При бромировании соединения **102** бромом в уксусной кислоте образуется смесь трёх продуктов с атомами брома в положениях 2 (**103**), 4 (**104**) и 2,4 (**105**), среди которых 4-бромпроизводное **104** является основным продуктом (Схема 19)¹⁷⁷.

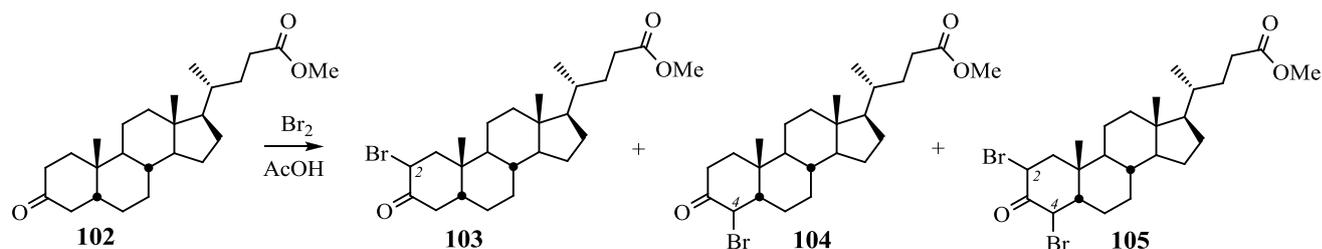


Схема 19

Еще одним бромлирующим агентом, применяемым при модификации ЖК, является NBS. Так, взаимодействие ЛХК с NBS в диоксане^{178, 179} приводит к соединению **106**, содержащему 4β-бром-3-оксо фрагмент (Схема 20).

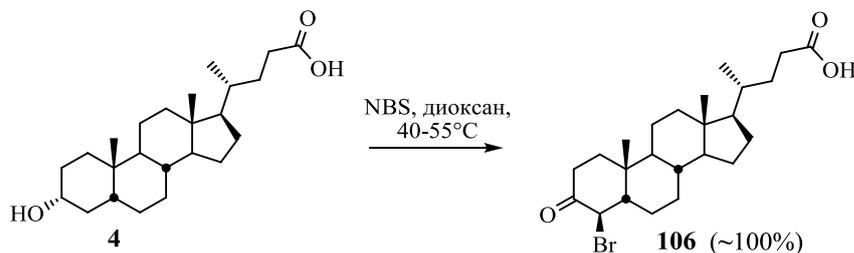


Схема 20

Рассмотрим некоторые примеры использования бромпроизводных ЖК в органическом синтезе. Среди биологически активных соединений стероидного ряда часто встречаются соединения, функционализированные по атому С(11). В связи с этим на основе ЖК также были получены производные, содержащие в положении 11 различные функциональные группы. Например, с целью поиска агентов, ингибирующих протеазу вируса HIV-1, в работе¹⁷⁵ была предпринята попытка синтезировать 11-азидо-12-оксопроизводное ДКХ **107** нуклеофильным замещением атома брома в соединении **97** на азидогруппу. Реакцию проводили с NaN₃ в ДМСО при нагревании до 100°C, но в результате вместо ожидаемого продукта **107**, содержащего 11-азидо-12-оксо фрагмент, образовался енаминокетон **108** (Схема 21).

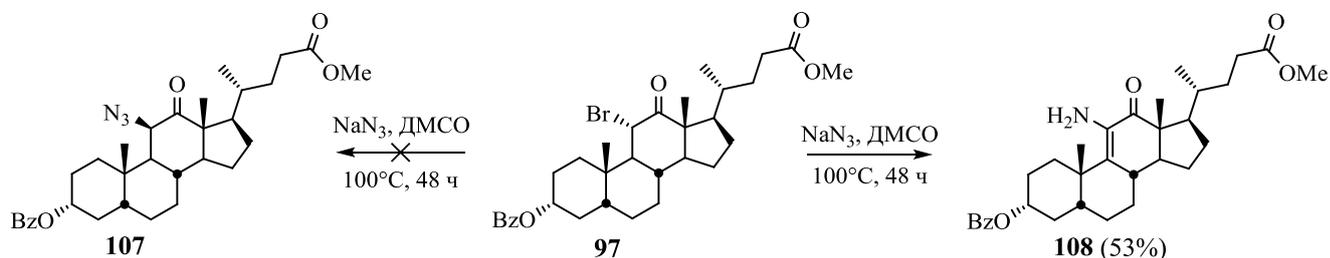
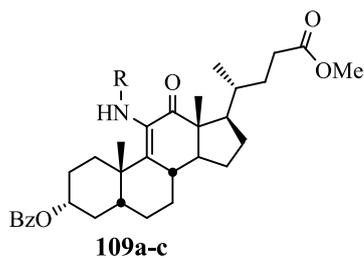


Схема 21

Соединение **108** и его замещенные по аминогруппе производные **109a-c** (Рисунок 13) исследовали на ингибирующую активность в отношении протеазы HIV-1 в инфицированных клетках 111В С8166 и обнаружили, что полумаксимальные эффективные концентрации (EC₅₀) составляют 20·10⁻⁶, 8·10⁻⁶, 20·10⁻⁶ и 200·10⁻⁶ моль·л⁻¹ соответственно¹⁷⁵.



R = CO₂Bn (a), CO₂Et (b), C(O)Bu^t (c)

Рисунок 13

Впоследствии в работе¹⁷⁶ из 11 α -бром- и 11 β -бром-12-оксопроизводных ХК **99a,b** реакцией нуклеофильного замещения при более низких температурах, нежели в работе¹⁷⁵, были синтезированы соединения **110a,b**, **111a,b**, содержащие 11-азидо-12-оксо- и 11-амино-12-оксофрагменты в цикле С, а также енаминокетон **112** (Схема 22).

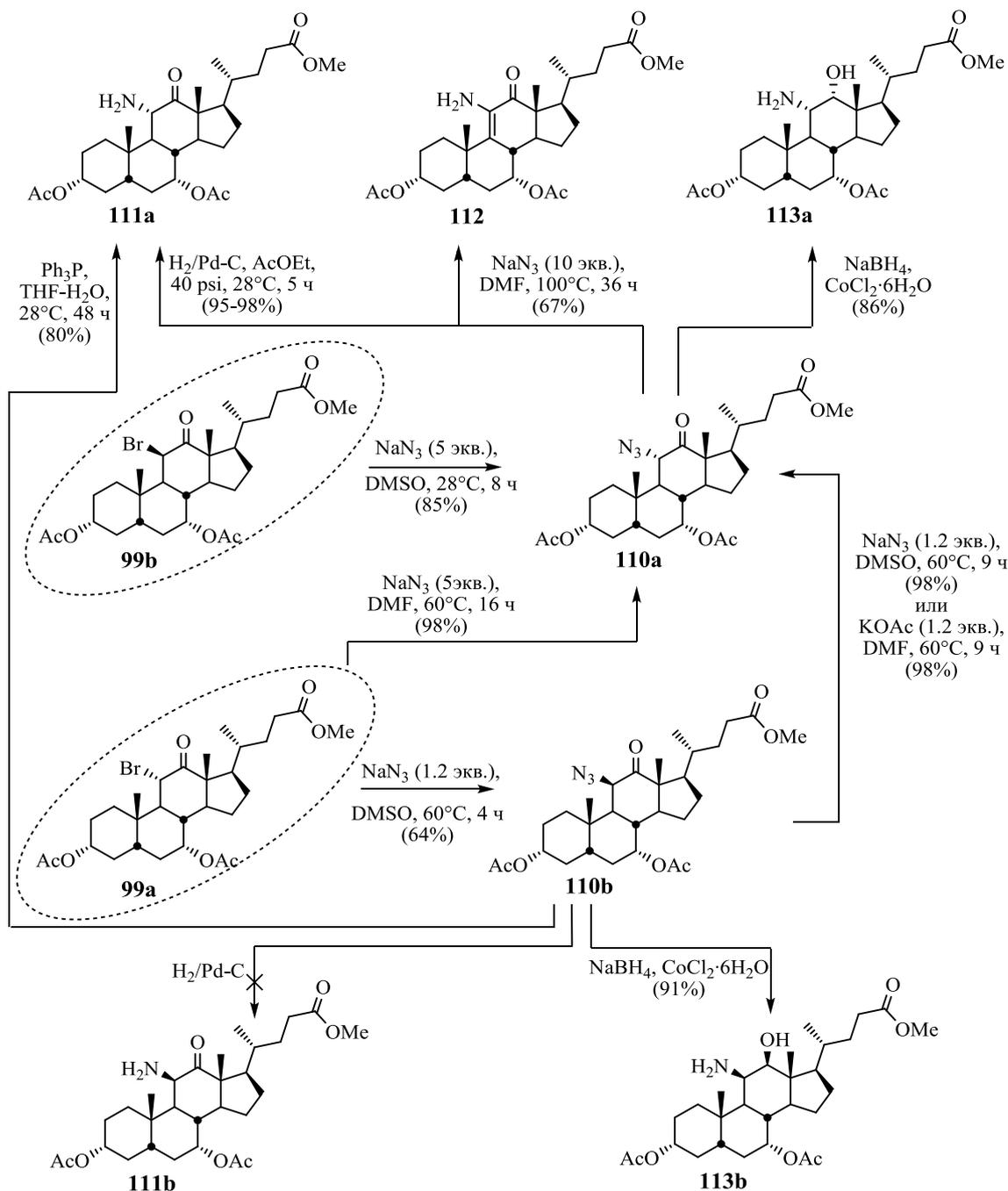


Схема 22

Так, 11 β -азид **110b** получали взаимодействием 11 α -бромпроизводного **99a** с 1.2 экв. NaN_3 в ДМСО при 60°C. 11 α -Азидопроизводное **110a** синтезировали несколькими способами: из 11 β -бромпроизводного **99b** и пятикратного избытка NaN_3 в ДМСО при комнатной температуре либо из 11 α -бромида **99a** и тех же реагентов в ДМФА при повышении температуры до 60°C. Последнее превращение сопровождается двойной инверсией

конфигурации хирального центра, о чем свидетельствует проведенная отдельно реакция 11 β -азида **110b** с 1.2 экв. NaN₃ в ДМСО при 60°C или с 1.2 экв. ацетата калия в ДМФА, в результате которой образуется 11 α -азид **110a**.

Восстановление 11 α -азида **110a** водородом на палладиевом катализаторе приводит к соединению **111a**, содержащему 11 α -аминогруппу. 11 β -Азид **110b** не восстанавливается до амина **111b** в данных условиях (восстанавливались ацетатные группы или сложный эфир в боковой цепи). В то же время трифенилфосфин в смеси ТГФ–H₂O восстанавливал 11 β -азид **110b** в 11 α -амин **111a**.

Нагревание 11 α -азида **110a** с десятикратным избытком NaN₃ в ДМФА до 100°C приводило к енаминокетону **112**. Биологическую активность этих соединений авторы работы¹⁷⁶ не исследовали.

В работе¹²³ 11-азидо-12-оксо производные **110a,b** восстанавливали NaBH₄ в присутствии хлорида кобальта и катализатора межфазного переноса до 11-амино-12-гидроксипроизводных **113a,b** (Схема 22). Исследование биологической активности соединений **108-113** на клетках SEM-GFP, инфицированных вирусом HIV-1_{NL4-3}, показало, что данные соединения не проявляют значительного эффекта или индуцируют репликацию вируса вместо ингибирования.

Модификация 11-азидо и 11-аминопроизводных ЖК может приводить к образованию биологически активных соединений. Так, авторы работы¹⁸⁰ показали, что производные по 11-азидо- и 11-аминогруппам, полученные из **110a** и **111a**, проявляют противотуберкулезную активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra. Наиболее активными оказались соединения **114-117** (Рисунок 14): IC₅₀ составляли 0.64·10⁻⁶, 1.08·10⁻⁶, 3.62·10⁻⁶, 2.70·10⁻⁶ г·мл⁻¹ соответственно.

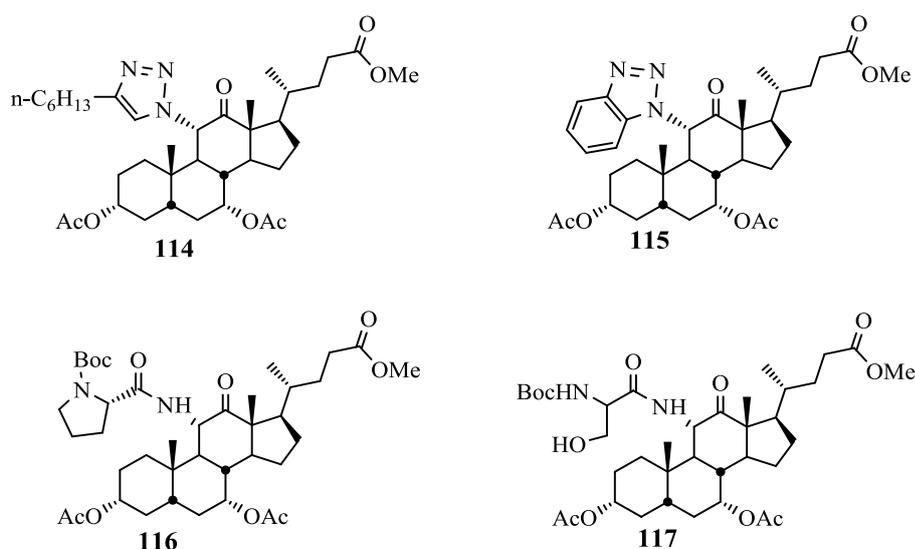


Рисунок 14

Другим направлением превращений α -бромкопроизводных ЖК является замена атома брома на гидроксильную группу. Данный подход используется в синтезе

полигидроксилированных ЖК, обладающих увеличенной полярностью (гидрофильностью) и являющихся потенциальными агентами для лечения различных заболеваний желчного тракта^{156, 181, 182}, а также труднодоступных ЖК¹⁸³ и их возможных метаболитов¹⁸⁴. Например, замещением атома брома в соединении **101** на гидроксигруппу, последующим восстановлением 7-оксогруппы и удалением защитных групп в интермедиате **118** синтезирована ЖК **119** с выходом 31% (в расчете на соединение **118**) (Схема 23)¹⁵⁶.

Превращение α -бромзамещенного оксофрагмента в двойную связь является ключевой стадией другого подхода, применяемого в синтезе полигидроксилированных ЖК. Так, восстановление 6-бром-7-оксопроизводного ЖК **101** боргидридом цинка приводит к бромгидрину. В результате последующей реакции элиминирования образуется 6(7)-двойная связь в стероидном остова¹⁵⁶ (соединение **120**, Схема 23). Дальнейшее окисление двойной связи с помощью *m*-CPBA дает 6 α ,7 α -эпоксипроизводное **121**. Кислота **122** образуется в результате раскрытия эпоксиды и удаления защитных групп (Схема 23). Оба описанных подхода, а также другие превращения позволяют получать различные изомеры ди-, три- и тетрагидроксилированных ЖК^{156, 181, 182, 183, 184}.

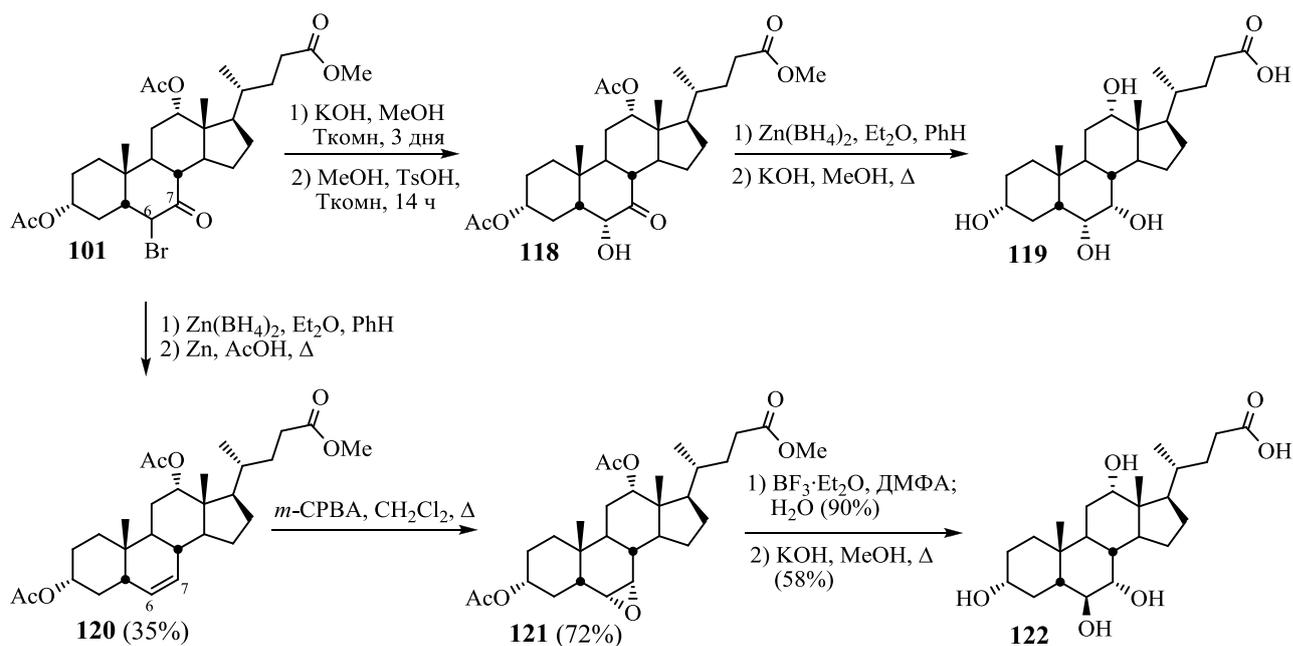


Схема 23

Бромпроизводные ЖК также используют при модификации стероидного остова другими галогенами, например атомом фтора. В патенте¹⁸⁵ описан синтез фторпроизводного УДХК. Замещение атома брома в соединении **123** на гидроксильную группу, защита 3-ОН-группы в интермедиате **124** и последующая стадия, основанная на взаимодействии соединения **125** по 6 α -ОН-группе с диэтиламинотрифторидом серы, приводили к 6 α -фторпроизводному **126** (Схема 24). Кислоту **127** получали в результате гидролиза сложноэфирной и восстановления карбонильной группы соединения **126** (суммарный выход составил ~4%).

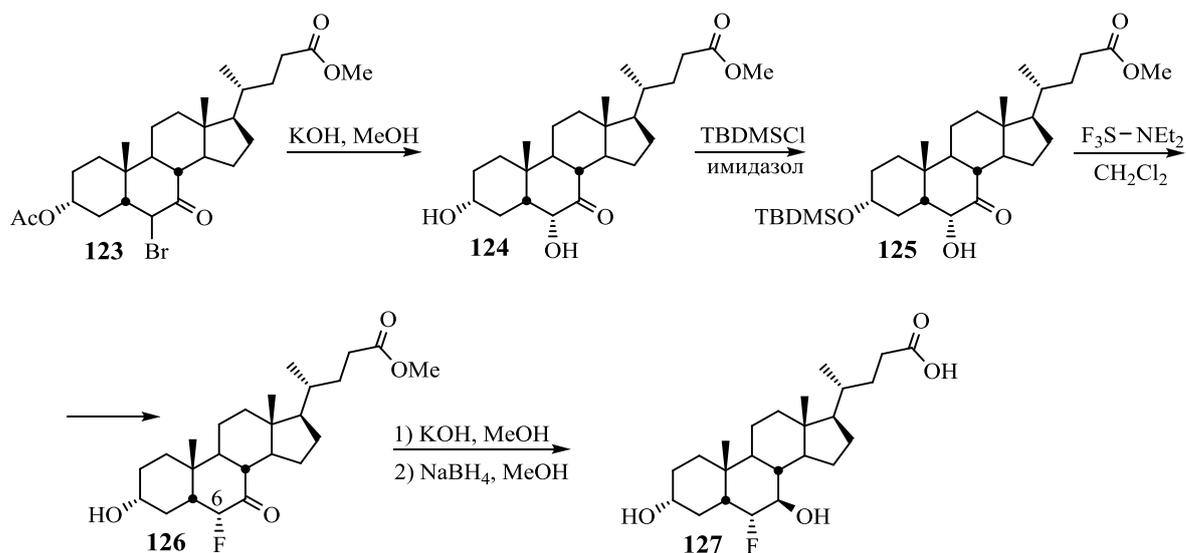


Схема 24

Альтернативный способ синтеза 6-фторпроизводных ЖК из кетона **128** описан в работе¹⁸⁶ (Схема 25). Ключевыми стадиями процесса являлись взаимодействие силиленолята **129** с фторирующим агентом Selectfluor и последующая реакция с NaOMe в метаноле, которые приводили к 6α-фторпроизводному **130**. Далее восстанавливали 7-оксогруппу до 7β-ОН, и в результате последовательности превращений, получили фторпроизводное УДХК **127** с суммарным выходом ~36%.

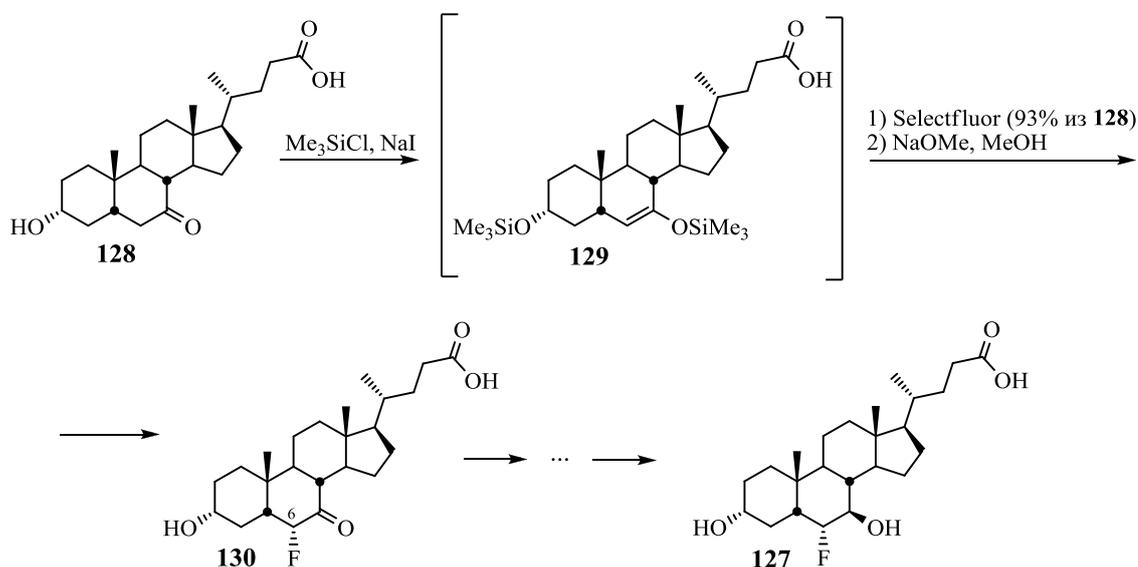


Схема 25

Наряду с гидроксильными группами и атомами галогенов остов ЖК модифицируют алкильными группами, для этого обычно проводят взаимодействие оксопроизводных ЖК с алкилгалогенидами в присутствии оснований^{187, 188}.

В поисках эффективных агонистов ядерного рецептора FXR группа ученых¹⁸⁷ исследовала ряд ЖК – ДХК, ЛХК, УДХК и ХДХК, самой активной оказалась последняя. Среди производных ХДХК, синтезированных группой ранее, большую активность, чем исходная

кислота, проявляло 6-метилпроизводное. Для выявления зависимости структура–свойство была проведена модификация ХДХК алкильными группами. В положение 6 стероидного остова вводили более объемные, чем метильная группа, алкильные заместители, такие как этильный, *n*-пропильный и бензильный. Ключевой стадией являлось алкилирование 7-оксопроизводного ХДХК **131** метилиодидом, алкил- или бензилбромидом в присутствии LDA в ТГФ (Схема 26). Следует отметить, что реакция протекала строго стереоселективно с образованием 6 α -алкильных производных **132a–d**, однако выходы на данной стадии были небольшими – 22, 12, 5 и 13% для R = Me, Et, Prⁿ и Bn соответственно. Причем авторы никак не объяснили причину низких выходов в данном превращении и оставили этот вопрос без рассмотрения. Последующая этерификация с образованием метиловых эфиров **133a–d** и восстановление 7-оксогруппы приводит к кислотам **134a–d**.

Дальнейшее исследование способности данных соединений связываться с рецептором FXR показало, что 6 α -этилхенодезоксихоловая кислота (**134b**) (эта полусинтетическая ЖК впоследствии получила название обетихоловой кислоты) является наиболее активным агонистом данного рецептора ($EC_{50} = 0.099 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹; для сравнения, в случае ХДХК $EC_{50} = 8.66 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹). Обетихоловую кислоту (**134b**) и ХДХК протестировали также на антихолестатическую активность *in vivo*. В результате было обнаружено, что соединение **134b** защищает гепатоциты от острого некроза, индуцированного ЛХК¹⁸⁷.

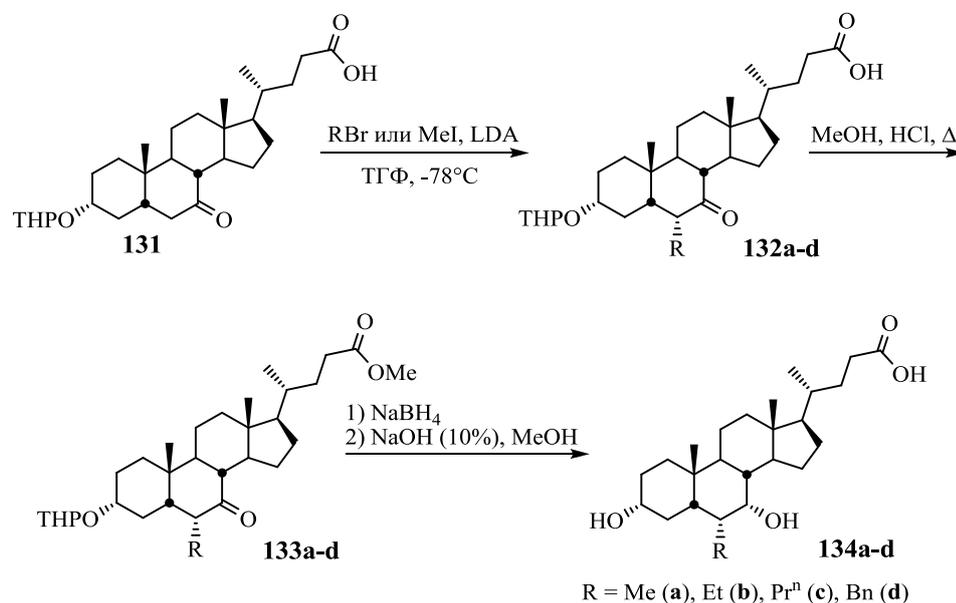


Схема 26

Впоследствии в работе¹⁸⁸ разработали другой подход к синтезу 6 α -этилхенодезоксихоловой кислоты (**134b**) (Схема 27). Использование нескольких оснований (LDA, BuⁿLi, HMPA) и этилиодида вместо этилбромиды на стадии алкилирования 7-оксопроизводного **131**, а также сокращение количества стадий синтеза привело к увеличению суммарного выхода с 2 до 20%.

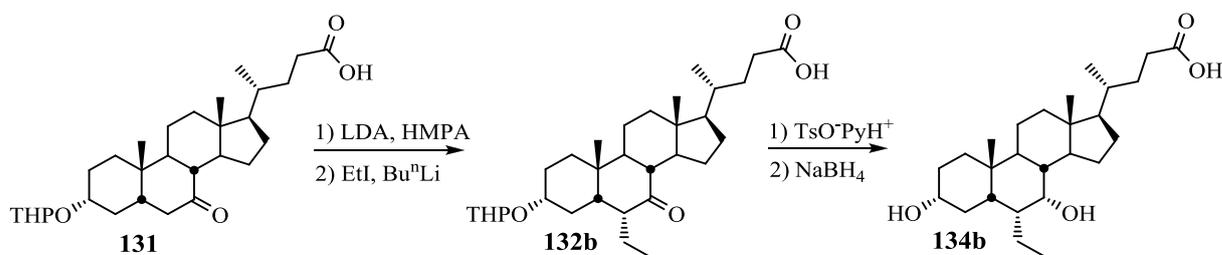


Схема 27

Обнаружение способности 6α-этилхенодезоксихолеовой кислоты (**134b**) селективно связываться с ядерным рецептором FXR и активировать его работу послужило началом обширных исследований по выявлению зависимости структура–свойство среди производных ЖК, обладающих свойствами агонистов ядерных рецепторов. Так, была синтезирована библиотека производных ХДХК с различными заместителями в положении 6 стероидного остова (аллильным, 2-гидроксиэтильным, пропаргильным, OH, OCH₃, F и др.), а также серия производных ХДХК по боковой цепи¹⁸⁹. В настоящее время исследования по поиску агонистов ядерных рецепторов среди производных ЖК проводят, объединяя химический синтез с предварительным математическим моделированием и квантово-химическими расчетами, в том числе с учётом пространственной ориентации заместителей (3D QSAR). Показано, что общей особенностью большинства активных молекул является наличие этильной группы в положении 6 стероидного остова^{43, 44, 114, 183, 190}.

Ещё одним важным классом реакций оксопроизводных ЖК, обусловленных существованием кетоенольного таутомерного равновесия, являются реакции конденсации, в которых оксопроизводные ЖК выступают в качестве метиленовых компонентов.

При проведении реакций конденсации с 3-оксопроизводными ЖК, которые обладают двумя α-положениями (2 и 4) в качестве основных продуктов образуются соединения, функционализированные по положению 2^{191, 192}. Например, при взаимодействии кетона **135** с этилформиатом в присутствии NaNH получено 2-гидроксиметиленовое производное **136** с выходом 93% (Схема 28). Наряду с реакцией конденсации в ходе превращения происходит

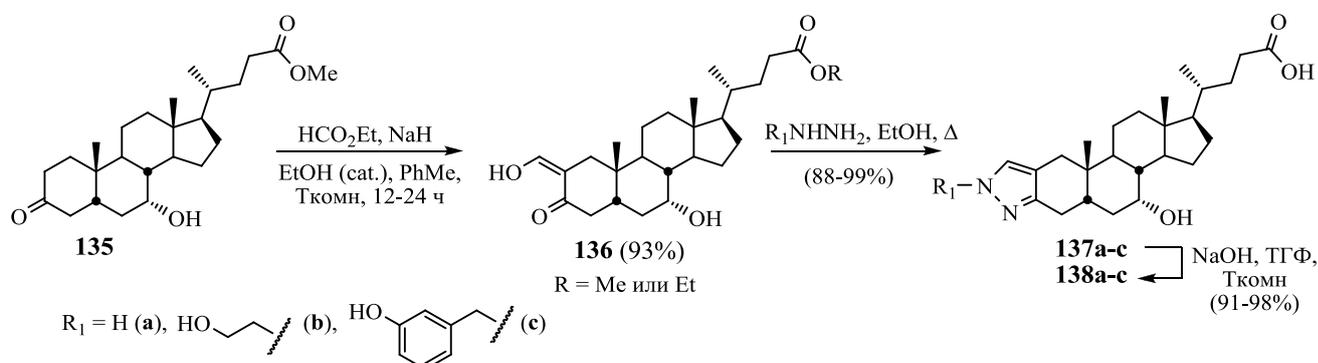


Схема 28

переэтерификация сложноэфирной группы и соединение **136** образуется в виде смеси метилового и этилового эфиров¹⁹².

Последующее взаимодействие таких 1,3-дикарбонильных производных с амбидентными нуклеофилами (например, NH_2OH , N_2H_4 и др.) позволяет синтезировать пентациклические соединения на основе ЖК, содержащие в структуре гетероциклический фрагмент. На схеме 28 рассмотрен один из возможных вариантов синтеза производных ЖК, содержащих пиразольный фрагмент, сопряженный с циклом А стероидного остова. Взаимодействие гидроксиметиленового производного **136** с различными гидразинами при кипячении в толуоле, приводит к пиразолсодержащим производным **137a–c** с выходами 99, 88 и 93% соответственно. В результате щелочного гидролиза соединений **137a–c** под действием 2М раствора NaOH в ТГФ при комнатной температуре получали кислоты **138a–c** соответственно¹⁹².

В целом, синтез гетероциклических производных ЖК осуществляется с использованием стандартных подходов: через промежуточное образование соединений, содержащих различные дикарбонильные или ненасыщенные карбонильные фрагменты, которые можно затем преобразовать в пяти-, шести- и семичленные гетероциклы¹⁹². В патенте¹⁹² представлено большое число способов синтеза гетероциклических производных ЖК, в качестве примеров приведены соединения **139-141** (Рисунок 15).

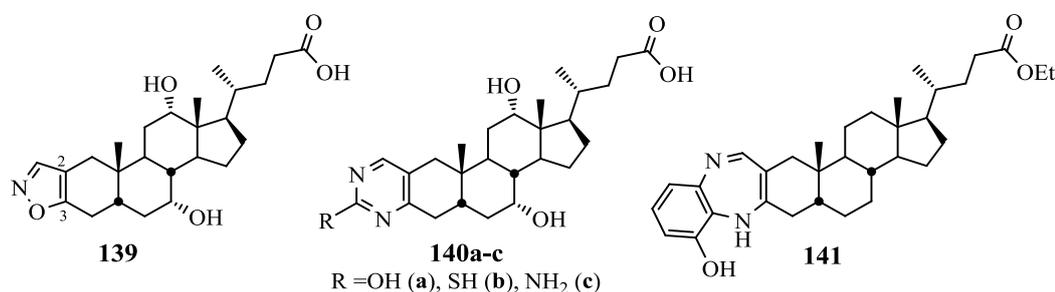


Рисунок 15

Производные ЖК, содержащие в своей структуре гетероциклические фрагменты также проявляют биологическую активность (например, цитотоксическую или противовоспалительную¹⁹³) и способность к ингибированию протеинтирозинфосфатазы 1B¹⁷⁷ либо служат переносчиками биологически активных молекул, увеличивая их биодоступность^{191, 192}.

Таким образом, в данном разделе были рассмотрены реакции бромирования различных карбонильных производных ЖК и применение получаемых соединений в дальнейшем синтезе при модификации стероидного остова функциональными группами, такими как азидо- и гидроксигруппы, атом фтора. Представлены реакции алкилирования α -положения оксипроизводных ЖК, которые приводят к образованию соединений, обладающих ценными биологическими свойствами, а также реакции конденсации с получением дикарбонильных

производных ЖК, которые можно использовать в синтезе соединений, содержащих в структуре гетероциклический фрагмент.

1.4.7. Синтез α,β -ненасыщенных карбонильных производных желчных кислот

α,β -Ненасыщенные карбонильные фрагменты являются важным структурным элементом биологически активных стероидов, таких как кортикостероиды и андрогенные половые гормоны, которые содержат 3-оксо-4(5)-еновый фрагмент в стероидном остова. Производные ЖК с α,β -ненасыщенным карбонильным фрагментом часто являются ключевыми интермедиатами в синтезе биологически активных соединений стероидного ряда^{178, 179, 194, 195, 196}.

Основные исследования по реакционной способности оксопроизводных ЖК с целью синтеза соединений, содержащих α,β -ненасыщенные карбонильные фрагменты, осуществлялись во второй половине XX века. В данном разделе рассмотрены преимущественно методы, которые используются в настоящее время. Одним из подходов к синтезу таких ЖК является образование α -бромзамещенного карбонильного производного и его последующее дегидробромирование^{158, 178, 177}, осуществляемое при кипячении бромпроизводных с Li_2CO_3 и LiBr в ДМФА^{177, 178}. Например, бромирование 3-оксопроизводного ЛХК **102** и последующая реакция дегидробромирования приводит к смеси соединений **142-144** (общий выход 48%), содержащих 3-оксо-1(2)-еновый, 3-оксо-4(5)-еновый и 3-оксо-1,4-диеновый фрагменты соответственно, среди которых соединение **143** является основным продуктом (Схема 29).

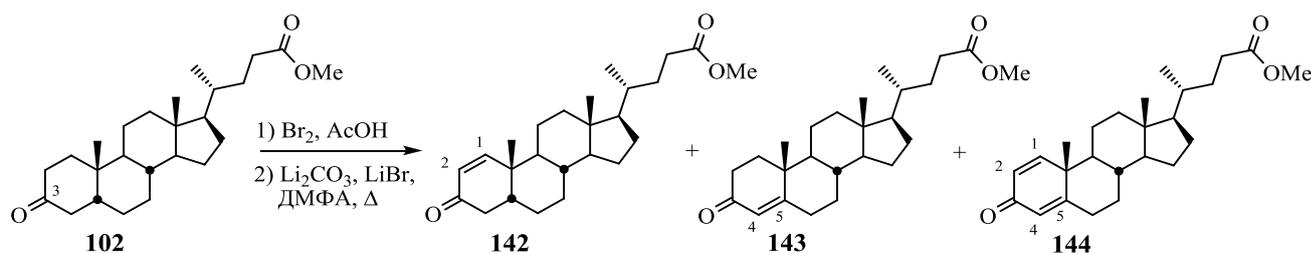


Схема 29

Основным недостатком описанного выше процесса является образование смесей продуктов, поскольку 3-оксопроизводные ЖК имеют два активных α -положения. Поэтому особый интерес при создании в стероидном остова кратных связей представляют реакции, позволяющие синтезировать индивидуальные еноны без примеси других структурных изомеров. В патенте¹⁸² описан метод получения производного ЖК, содержащего 3-оксо-1(2)-еновый фрагмент, из дибромида **145** (Схема 30). Дибромид представляет собой удобное исходное соединение, поскольку является единственным продуктом исчерпывающего бромирования соответствующего 3-оксопроизводного. При нагревании дибромида **145** с Li_2CO_3

и LiBr в ДМФА в реакцию дегидробромирования вступает только атом брома, находящийся в положении 2 стероидного остова, в результате чего образуется производное **146**, содержащее 4β-бром-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент. Восстановление соединения **146** цинковой пылью в уксусной кислоте приводит к удалению атома брома из положения 4 с образованием продукта **147**.

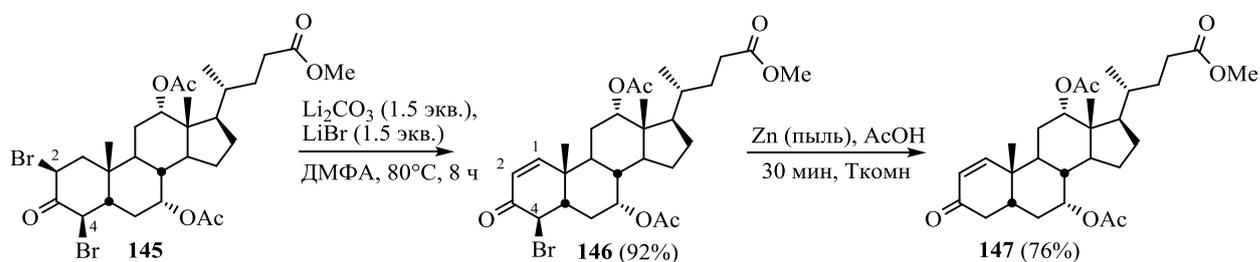


Схема 30

Еще одним способом селективного введения 1(2)- или 4(5)- двойной связи в стероидный остов ЖК является взаимодействие 3-оксопроизводных ЖК с ИВХ в присутствии каталитических количеств трифторуксусной кислоты в ДМСО (Схема 31)^{194, 197}.

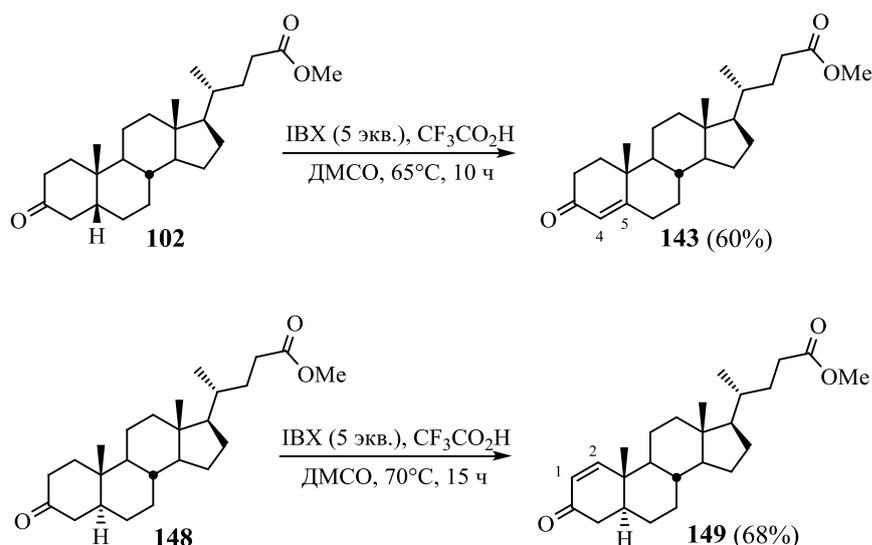


Схема 31

Следует отметить, что направление реакции зависит от строения производных ЖК, а именно от типа сочленения циклов А и В. Так, 3-оксостероиды, имеющие *цис*-сочленение циклов А и В (5β-Н), к которым относятся ЖК и их производные, в результате взаимодействия с ИВХ в приведенных условиях превращаются в соединения, содержащие 4(5)-двойную связь (например, продукт **143**, Схема 31). А в случае стероидов, с *транс*-сочленением циклов А и В (5α-Н), включая производные аллохолевых кислот, данная реакция приводит к продуктам, содержащим 1(2)-двойную связь в цикле А (например, превращение соединения **148** в продукт **149**, Схема 31).

Производные ЖК, содержащие в структуре α,β-ненасыщенный карбонильный фрагмент, представляют интерес и как целевые соединения, и как промежуточные продукты для

последующих модификаций. Важным направлением превращений 3-оксо-4(5)-еновых производных ЖК является восстановление 4(5)-двойной связи, приводящее к образованию соединений с *транс*-сочленением циклов А и В стероидного остова. Данная реакция является ключевой в синтезе аллохоловых кислот (*транс*-сочленение, 5 α -Н) из ЖК (*цис*-сочленение, 5 β -Н), поскольку природные источники для выделения их в достаточном количестве отсутствуют¹²⁹. Кроме того, для многих биологически активных стероидов также характерно *транс*-сочленение циклов А и В^{179, 194}. На схеме 32 в общем виде представлена полная схема синтеза аллохоловых кислот из ЖК. На первой стадии получают метиловый эфир ЖК, затем селективно окисляют 3-ОН группу до карбонильной и защищают ОН-группы в положениях 7 и/или 12, если они есть в исходной кислоте (соединение **150**). Далее действием IBX в присутствии трифторуксусной кислоты получают производное, содержащее 4(5)-двойную связь (соединение **151**). В результате восстановления двойной связи Li в жидком аммиаке при -78°C образуется производное ЖК **152**, с *транс*-сочленением циклов А и В. Последующее селективное восстановление 3-оксогруппы до 3 α -ОН реагентом K-Selectride с получением соединения **153** и гидролиз защитных и сложноэфирных групп приводят к целевому 5 α -эпимеру исходной ЖК.

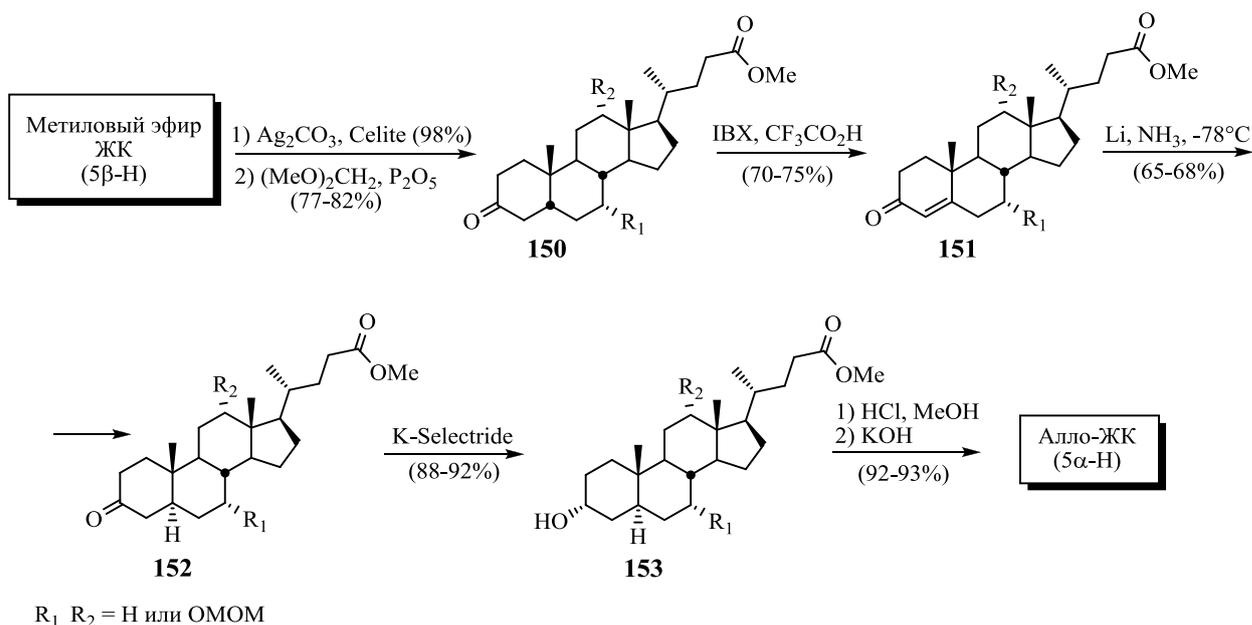


Схема 32

3-Оксо-4(5)-еновые производные ЖК используют также в синтезе соединений ланостанового типа. Так, в работе¹⁷⁷ взаимодействием енона **143** с MeI в присутствии Bu^tOK синтезировано *гем*-диметилпроизводное **154** (Схема 33). В ходе реакции наряду с введением в положение 4 двух метильных групп происходит миграция двойной связи. Последующая конденсация соединения **154** с этилформиатом в присутствии основания (MeONa) приводит к 2-гидроксиметил-3-оксопроизводному **155**, из которого впоследствии были получены

полициклы **156a-c**, **157a-c**. Такие продукты содержат различные пяти- и шестичленные гетероциклические фрагменты, сопряженные с циклом А. Выходы соединений **156** составляли 21–66%, а соединений **157** — 40–60% в пересчете на интермедиат **154**.

Данную модификацию остова осуществляли для создания структурных аналогов природных пентациклических тритерпенов, у которых ранее была обнаружена ингибирующая активность в отношении протеинтирозинфосфатазы 1В (РТР1В). Ингибирование этого фермента считается перспективным подходом для лечения диабета 2-го типа и ожирения. В исследованиях ингибирующей активности РТР1В самым активным из синтезированных соединений оказалась кислота **157b** ($IC_{50}=1.62 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹).

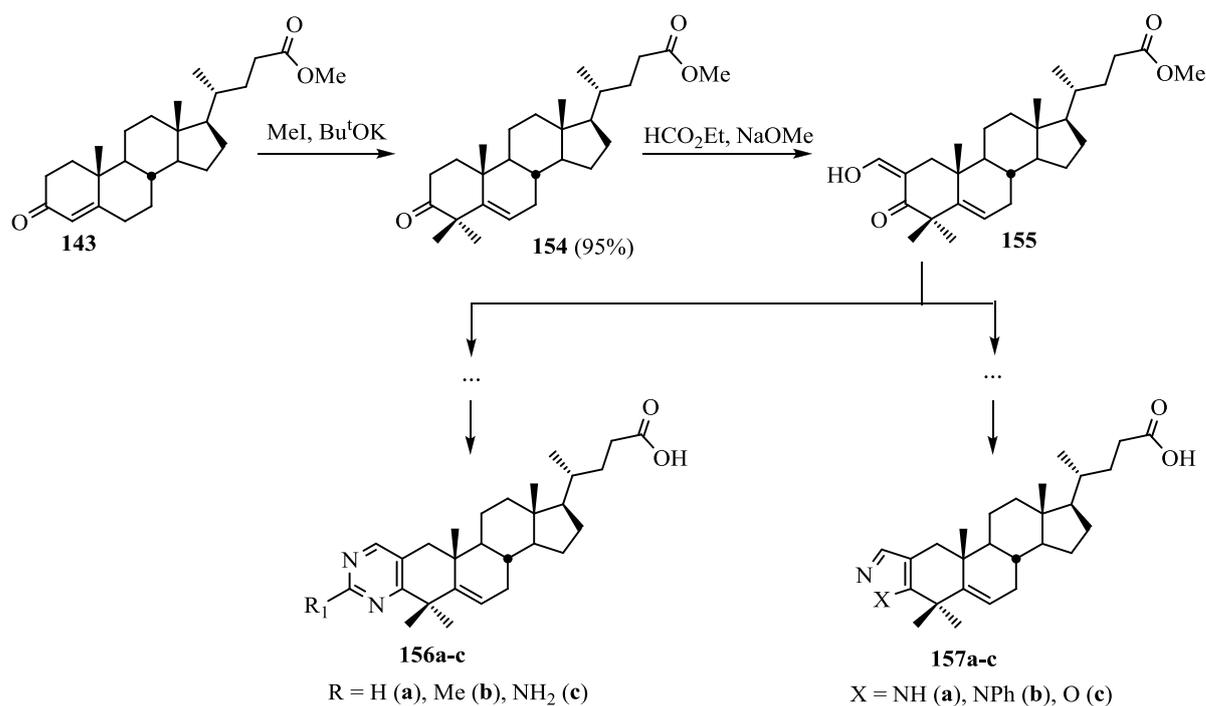


Схема 33

Еще одним примером использования 3-оксо-4(5)-еновых производных ЖК является синтез соединений с гетероатомом (N или O) в положении 4 стероидного остова. Окислительное расщепление 4(5)-двойной связи с последующим декарбоксилированием приводит к продукту, содержащему карбоксильную и карбонильную группы (например, превращение соединения **158**, Схема 34). Такие продукты в дальнейшем применяют при получении производных с лактамным или лактонным циклом, которые в свою очередь служат интермедиатами для синтеза более сложных соединений. Так, в работе¹⁹⁵ окислительным расщеплением 4(5)-двойной связи соединения **158** и последующим взаимодействием продукта **159** с жидким аммиаком синтезировали амид **160**, содержащий в положении 4 стероидного остова группу NH вместо CH₂ (Схема 34). Амид **160** служил исходным соединением в синтезе биологически активных стероидов **161a,b**.

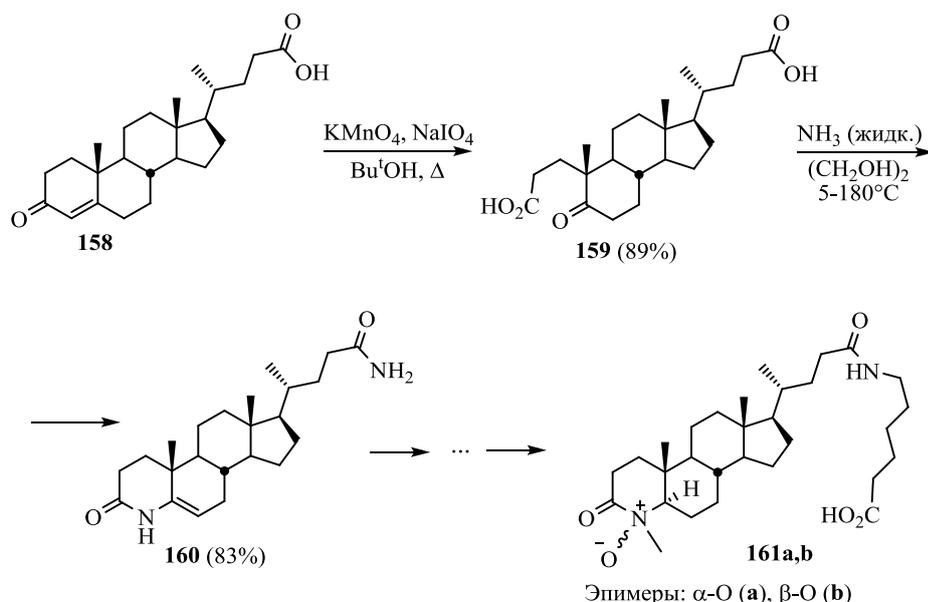


Схема 34

Описан пример образования лактонного цикла в стероидном остове (Схема 35)¹⁵⁸. Озонолиз соединения **162** с последующим окислением приводит к кислоте **163**, которая при взаимодействии с уксусным ангидридом в присутствии HClO_4 образует лактон **164** (выход 62% в пересчете на субстрат **162**).

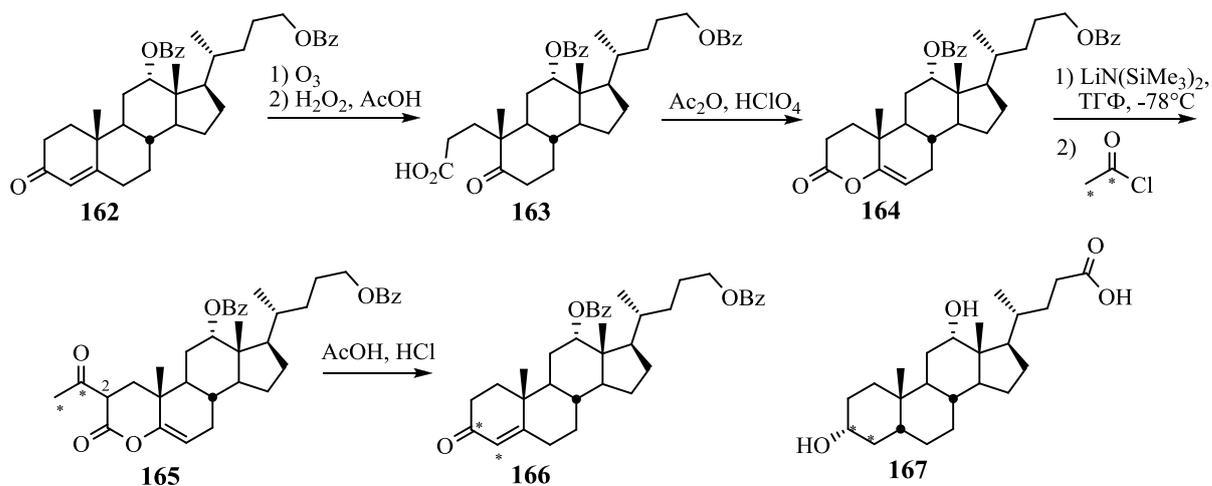


Схема 35

В работе¹⁵⁸ производные ЖК, содержащие в структуре лактонный цикл, использовали в синтезе аналогов ЖК с изотопами углерода ^{13}C (на схеме 35 обозначены звездочками). Ацилирование положения 2 соединения **164** хлоруксусным ангидридом, содержащим изотопы ^{13}C , приводило к соединению **165**. Реакции раскрытия лактонного цикла и обратной циклизации под воздействием кислоты давали $[3,4-^{13}\text{C}_2]$ -производное **166** (выход 58% в пересчете на соединение **164**). Далее последовательностью реакций его превращали в $[3,4-^{13}\text{C}_2]$ -дезоксихолевую кислоту **167**. Аналогичным способом были получены $[3,4-^{13}\text{C}_2]$ -аналоги ХК и ХДХК¹⁵⁸.

Таким образом, выше рассмотрены способы формирования α,β -ненасыщенных карбонильных фрагментов в остове ЖК. Показаны возможные применения производных ЖК, содержащих 3-оксо-4(5)-еновый фрагмент, включая синтез аллохоловых кислот, соединений ланостанового типа и стероидов, содержащих гетероатом в положении 4.

1.4.8. Реакции нуклеофильного присоединения по карбонильной группе.

Окисление пероксикислотами и пероксидами

Оксопроизводные ЖК могут подвергаться дальнейшим химическим превращениям с участием карбонильных групп, таким как присоединение углерод-, кислород- или азотцентрированных нуклеофилов к карбонильному атому углерода, либо окислению под действием пероксидов или пероксикислот.

В качестве примеров С-нуклеофилов рассмотрим реагенты Гриньяра, илиды фосфора и серы. Взаимодействие карбонильных производных ЖК с реактивами Гриньяра позволяет модифицировать остов ЖК алкильными группами по положению 3 или 7. Недостатком этой реакции является отсутствие стереоселективности и образование смесей продуктов с различной ориентацией гидроксильных и алкильных групп^{115,198}, поэтому она практически не используется в химии ЖК.

В работе¹⁹⁹ на примере 7-оксо- (**88**), 7,12-диоксопроизводных ЖК (**89**) и дегидро-ЖК (**170**) была проведена реакция Виттига с бромидом трифенилэтилфосфония, из которого в присутствии Bu^tOK в ТГФ получается илид фосфора (Схема 36). Взаимодействие с илидом фосфора по 7-оксогруппе протекает с образованием только *E*-изомеров этилиденовых производных **168**, **169** и **172**. В то же время реакция с илидом фосфора с участием 3-оксогруппы не была стереоспецифичной: из дегидро-ЖК (**170**) получалась смесь моно- (**171a,b**) и биспродуктов (**172a,b**) в виде *E*- и *Z*-изомеров в равном соотношении. 12-Оксогруппа соединений **89** и **170** в указанных условиях в реакцию не вступала. Авторы не объяснили низкие выходы в данном превращении потерями при хроматографии или другими причинами и оставили этот вопрос без рассмотрения.

Введение этилиденовых групп в остов ЖК приводит к увеличению ее гидрофобности. Исследование мембранотоксичности натриевых солей исходных (**88**, **89**, **170**) и полученных кислот (**168**, **169**, **171**, **172**) путем измерения гемолитического потенциала (Lys50 и Lys100 — соответственно концентрация вещества, при которой гибнут 50 и 100% эритроцитов) показало, что они являются менее токсичными (значения Lys50 варьировались от $2.95 \cdot 10^{-3}$ до $56.00 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹, значения Lys100 — от $6.10 \cdot 10^{-3}$ до $175 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹), чем натриевая соль ДХК (Lys50 = $2.30 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹, Lys100 = $5.00 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹).

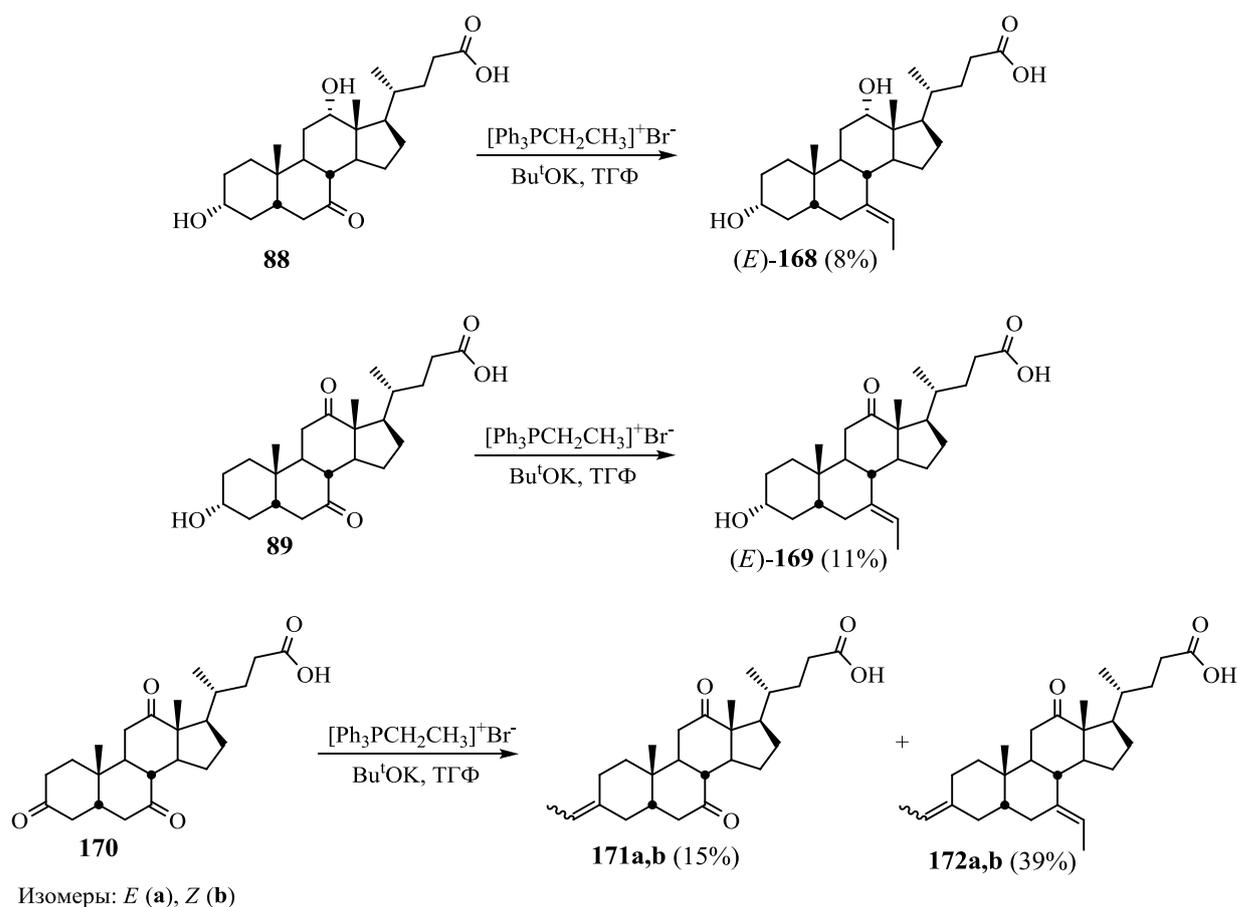


Схема 36

Взаимодействие оксопроизводных с илидами серы приводит к формированию эпоксидного цикла, который является высокореакционноспособным структурным фрагментом, позволяющим проводить дальнейшие превращения. Например, реакция 3-оксопроизводного ДХК **173** с метилидом диметилсульфоксония протекает стереоселективно с образованием одного диастереомера эпоксипроизводного **174** (Схема 37)¹⁶⁶. Последующее раскрытие эпоксидного цикла полифункциональными аминами (например, замещенным этилендиамином) или азидом натрия с дальнейшим восстановлением азидогруппы до аминогруппы приводит к соединениям **175** и **176**, содержащим в структуре OH- и NH₂-группы. Эти продукты исследовали на антибактериальную и противогрибковую активность *in vitro* в отношении различных культур. Соединение **175** проявило высокую антибактериальную (IC₅₀ против *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* составила 5.14·10⁻⁶ и 5.21·10⁻⁶ г·мл⁻¹) и противогрибковую активность (IC₅₀ против *Sporothrix schenckii*, *Trichophyton mentagrophytes* и *Aspergillus fumigatus* были равны 3.36·10⁻⁶, 6.25·10⁻⁶ и 8.14·10⁻⁶ г·мл⁻¹ соответственно).

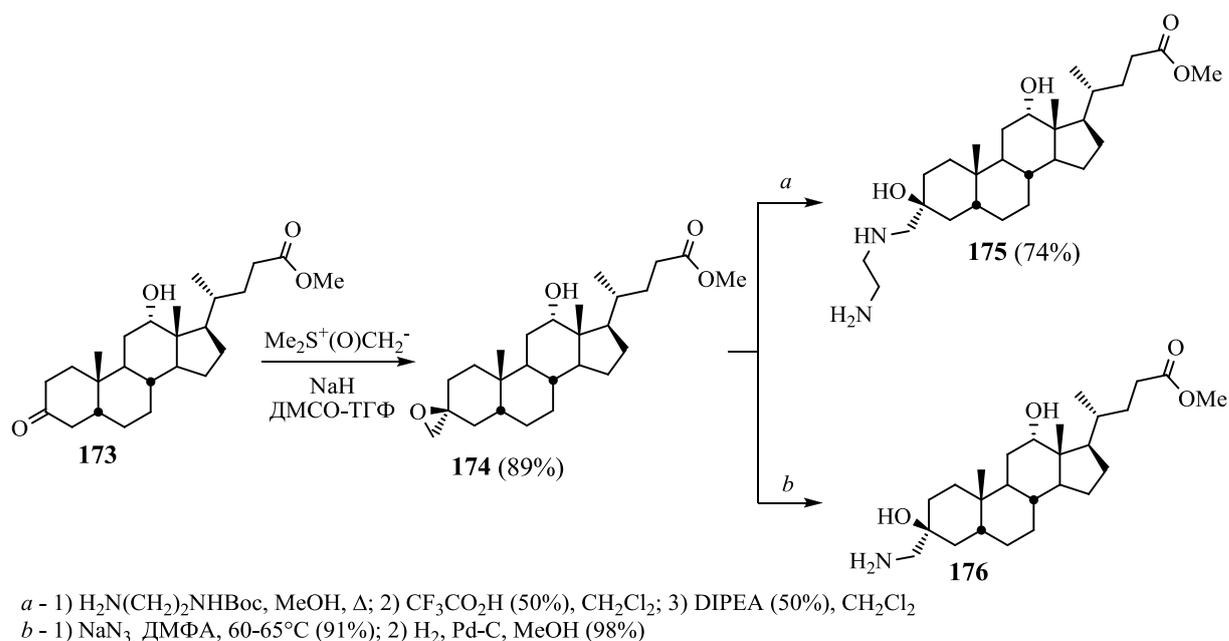


Схема 37

Среди реакций с участием карбонильных групп оксипроизводных ЖК с O-центрированными нуклеофилами следует рассмотреть реакции с многоатомными спиртами и соединениями, содержащими в структуре несколько гидроксильных групп. Взаимодействие карбонильных групп производных ЖК с многоатомными спиртами, приводящее к образованию кеталей, используют в многостадийных синтезах для защиты карбонильных групп¹³⁰. Иногда в ходе получения кеталей наблюдаются побочные процессы, обусловленные полифункциональностью исходной молекулы. Например, в работе¹³⁰ при взаимодействии 3-оксипроизводного ЖК **177** с этиленгликолем наряду с формированием 1,3-диоксоланового цикла происходила дегидратация с образованием 7(8)- и 11(12)-двойных связей в стероидном остане (соединение **178**, Схема 38).

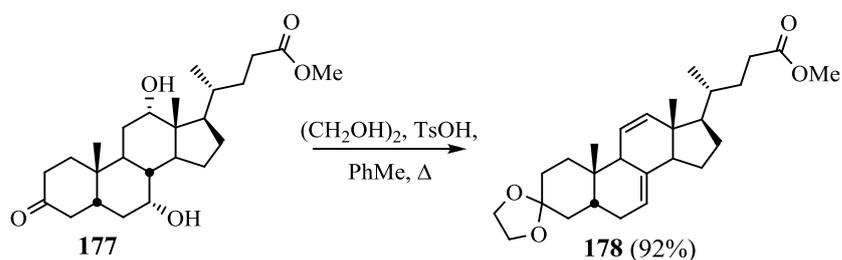


Схема 38

Другим примером получения кеталей для их последующего применения является взаимодействие оксипроизводных ЖК с винной кислотой. Продукты таких реакций использовали в синтезе биологически активных солей стронция (**179**)⁵³ и в комплексообразовании с цисплатином (**180**) для уменьшения его цитотоксичности^{51, 59} (Рисунок 16).

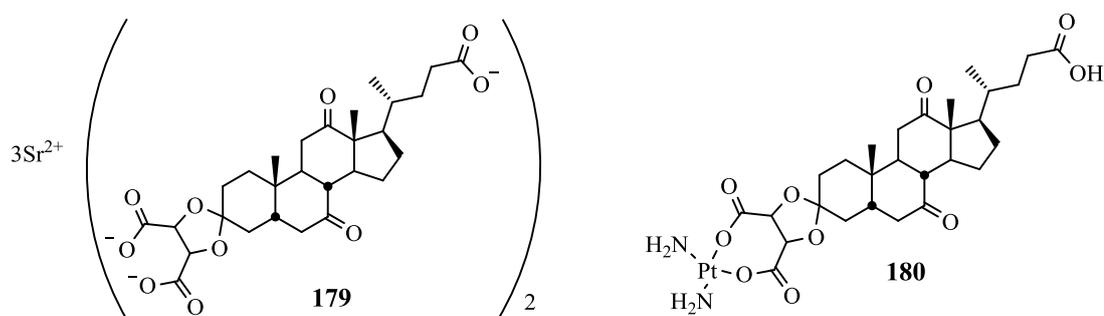


Рисунок 16

Реакции оксипроизводных ЖК с N-нуклеофилами приводят к образованию иминов различного строения. Например, в работе¹⁶⁴ синтезировали серию бистиосемикарбазонов **181a-g** (Рисунок 17). Соединения **181a-c** были исследованы *in vitro* на антибактериальную активность в отношении *S. Aureus*, *Streptococcus Pyogenes*, *E. coli* (значения МИС варьировались от $32 \cdot 10^{-6}$ до $256 \cdot 10^{-6}$ г·мл⁻¹).

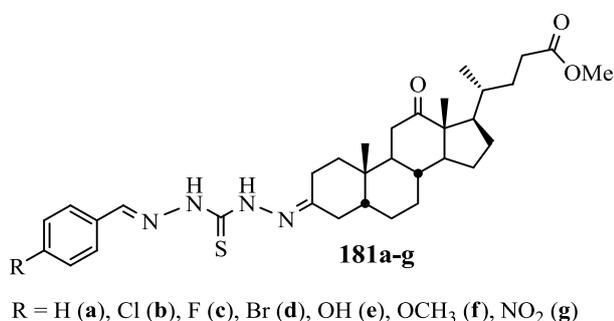


Рисунок 17

Оксимы являются важным классом производных ЖК, нашедшим широкое применение в синтезе различных азотсодержащих производных ЖК. Оксимы получают взаимодействием оксипроизводных ЖК с гидроксиламином в метаноле или этаноле^{67, 159, 163, 165}. Последующее их восстановление до соответствующих аминопроизводных можно осуществить несколькими способами, например: натрием при кипячении в *n*-пропанол¹⁵⁹; системой NaBH₃CN – TiCl₃ в метаноле⁶⁷ или водородом на платиновом катализаторе¹⁶⁵. Так из диоксипроизводного **182** был получен сначала диоксим **183**, а затем диамин **184** (Схема 39)⁶⁷. Описанные методы приводят к образованию α-аминогрупп, что позволяет сохранять поверхностную амфифильность молекулы.

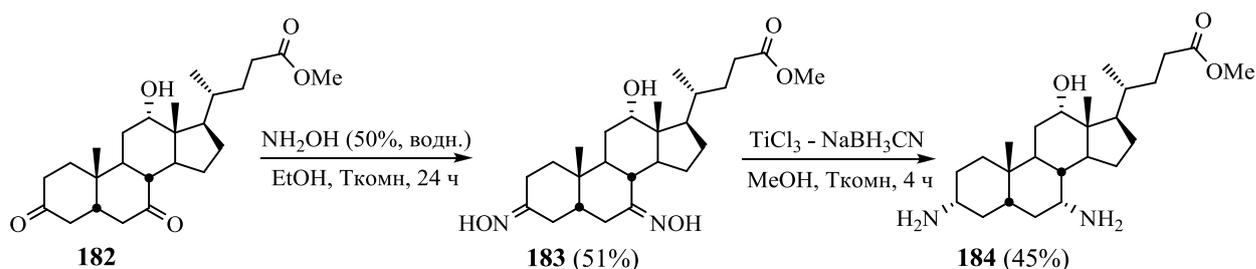


Схема 39

Восстановление 12-оксимной группы является единственным методом введения аминогруппы в положение 12 стероидного остова ЖК. Авторы работы¹²¹ применили комбинацию методов по восстановлению оксимной и азидогрупп для получения 3 α ,7 α ,12 α -триаминоаналога ЖК **187** (Схема 40). Сначала взаимодействием соединения **58** с гидроксиламином с последующим щелочным гидролизом получили кислоту **185**. Восстановление оксимной группы натрием в этаноле до 12-аминогруппы, дальнейшая реакция полученного амина с Voc_2O и этерификация карбоксильной группы приводили к преимущественному образованию 12 α -изомера **186a** (соотношение **186a:186b** составило 85:15, выход 32% в пересчете на соединение **58**). Нуклеофильное замещение активированных гидроксильных групп в положениях 3 и 7 на азидогруппы, их восстановление до аминогрупп и удаление Voc -защиты дали целевой 3 α ,7 α ,12 α -триаминоаналог ЖК **187**.

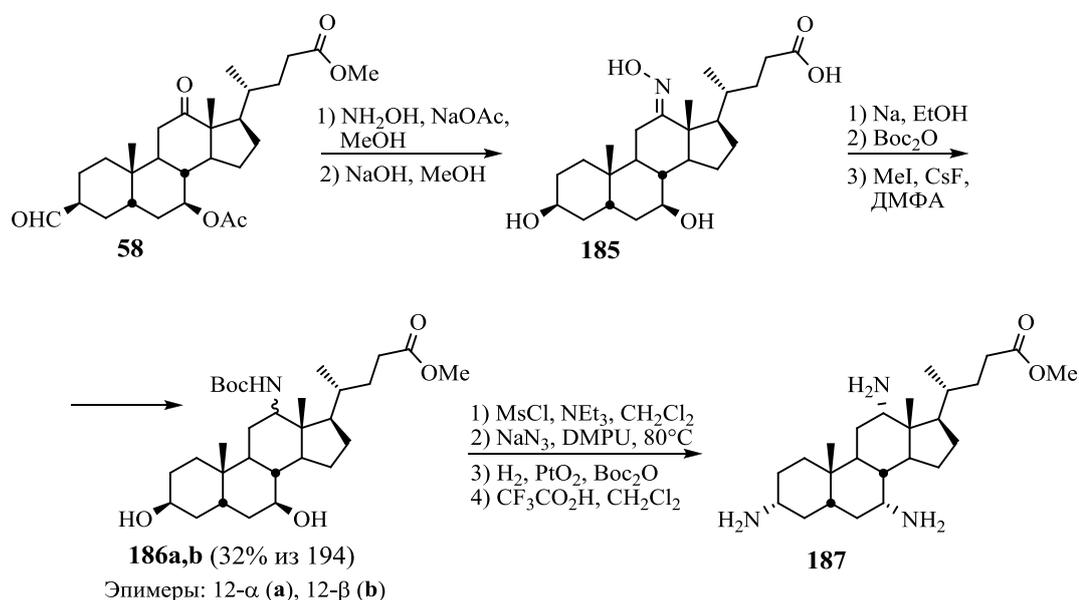


Схема 40

Производные ЖК по аминогруппам пригодны для использования в качестве вспомогательных хиральных агентов в стереоселективного синтеза, экстракции или хроматографическом разделении. В работах^{200, 201} исследовали константы связывания соединений **188a,b** (Рисунок 18) с различными анионами. Константы связывания соединения **188a** с анионами были от двух до пяти раз выше аналогичных констант соединения **188b**.

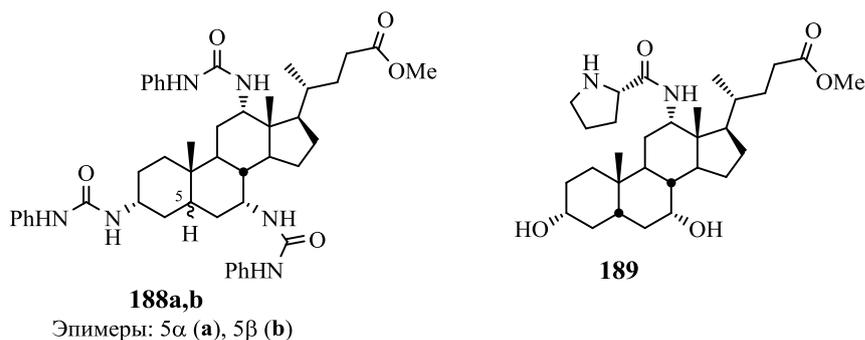


Рисунок 18

12-(D-Пролиноил)аминопроизводное ЖК **189** (Рисунок 18) использовали в качестве катализатора в асимметрической альдольной конденсации циклических кетонов и ароматических альдегидов, энантиомерные избытки достигали 98%²⁰².

Одной из областей применения оксимов ЖК является синтез лактамов. Оксимы ЖК под действием кислотных дегидратирующих агентов (например, тионилхлорида¹⁶³) подвергаются перегруппировке Бекмана, которая приводит к образованию семичленного лактамного цикла. В работе¹⁶³ синтезирован ряд производных ЖК и ДЖК, содержащих лактамный цикл, и исследовано их цитотоксическое действие в отношении различных опухолевых клеточных линий (MGC 7901, SMMC 7404, HeLa). Соединения **190** и **191** (Рисунок 19) проявили наиболее высокую цитотоксическую активность в отношении клеточной линии Hela ($IC_{50} = 14.3 \cdot 10^{-6}$ и $24.3 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹), сравнимую с активностью цисплатина ($IC_{50} = 20.6 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹).

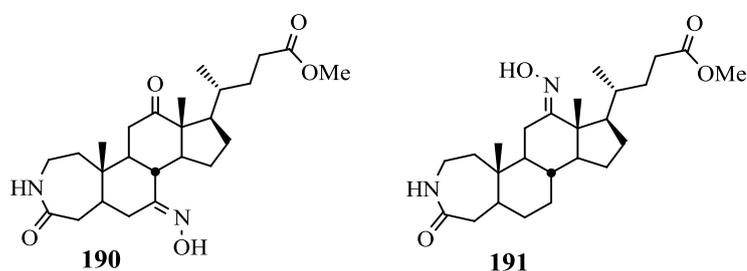


Рисунок 19

Другим направлением модификации оксопроизводных ЖК являются реакции окисления, например окисление по Байеру–Виллигеру^{130, 160, 161, 162, 166, 203}, приводящее к расширению цикла и образованию лактона. Такие лактоны являются ключевыми интермедиатами в синтезе секостероидов и макроциклических структур на основе ЖК^{160, 161, 162}, а также производных, содержащих гетероатомы в стероидном остове^{130, 166}.

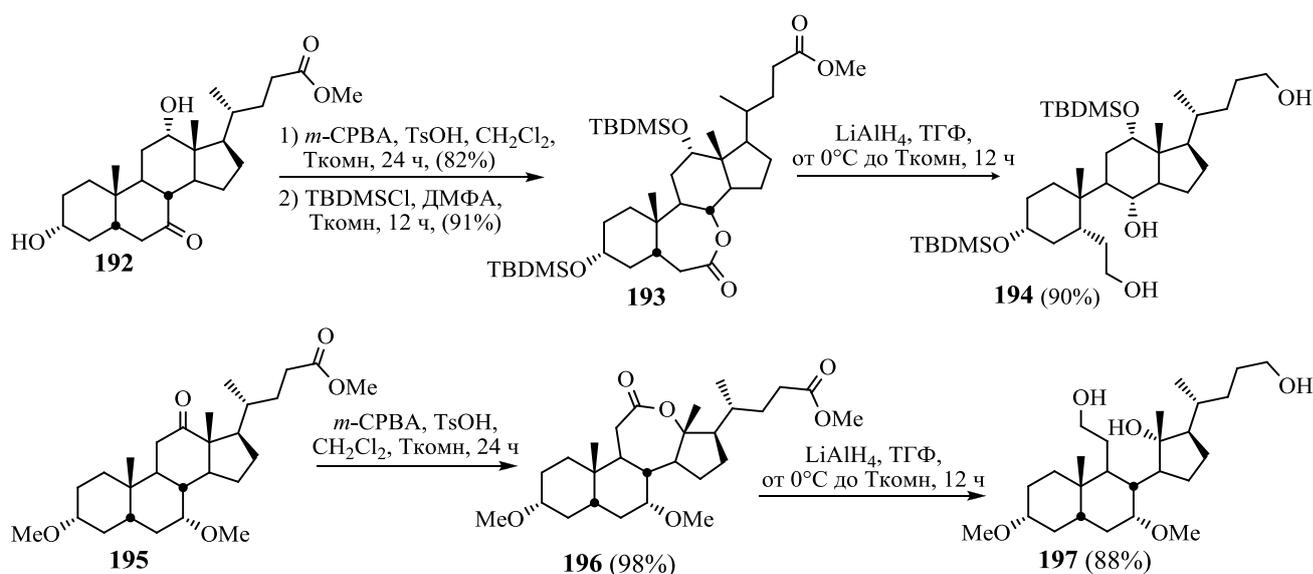


Схема 41

В работах^{160, 161, 162} окислением 7-оксопроизводного ЖК **192** действием *m*-CPBA был синтезирован лактон **193**, восстановление которого алюмогидридом лития в ТГФ приводило к 7,8-секостероиду **194** (Схема 41). Аналогичные реакции провели для 12-оксопроизводного **195**; при восстановлении лактона **196** образовался 12,13-секостероид **197**.

Продукты **194** и **197** в свою очередь могут использоваться для дальнейших модификаций. Так, авторы работ^{160, 161, 162} провели последовательность превращений, включающую реакцию метатезиса или 1,3-циклоприсоединения, и получили макроциклические структуры **198a-d**, **199a-d**, **200**, **201** (Рисунок 20).

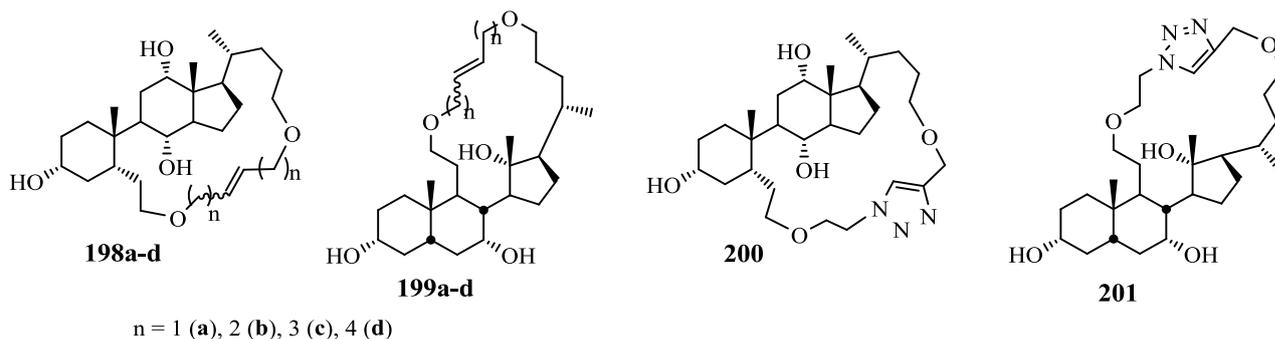


Рисунок 20

Замещение одной или нескольких метиленовых групп стероидного остова на гетероатом (O, N, S) может приводить к изменению нативной и/или возникновению новой биологической активности. Так, в работах^{130, 166} был разработан синтетический подход, включающий промежуточное образование лактонного производного ЖК, который позволяет вводить гетероатомы в положения 3 и 12 стероидного остова. Этим методом получены соединения **202a-d** и **203a-e** (Рисунок 21).

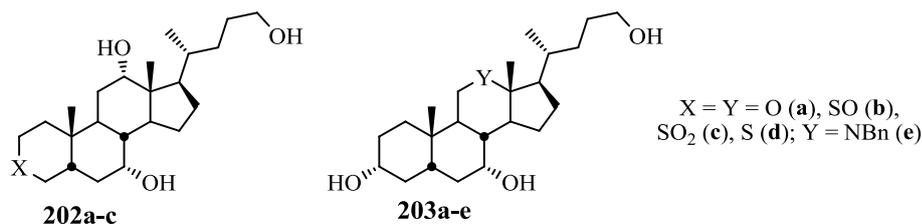


Рисунок 21

На схеме 42 представлена последовательность реакций, приводящая к соединениям **202a,d**. Восстановление лактона **204** диизобутилалюминийгидридом (DIBAL-H) дает лактол **205**, при окислительном расщеплении которого образуется ключевой интермедиат **206**. При взаимодействии соединения **206** с метиллитием в ТГФ формируется тетрагидропирановый цикл и получается продукт **202a**, содержащий атом кислорода в положении 3 стероидного остова. Введение серы в это положение осуществляется дополнительной цепочкой превращений, которая включает восстановление формилоксигруппы в интермедиате **206** до гидроксильной (соединение **207**) и последующие реакции с мезилхлоридом и сульфидом натрия.

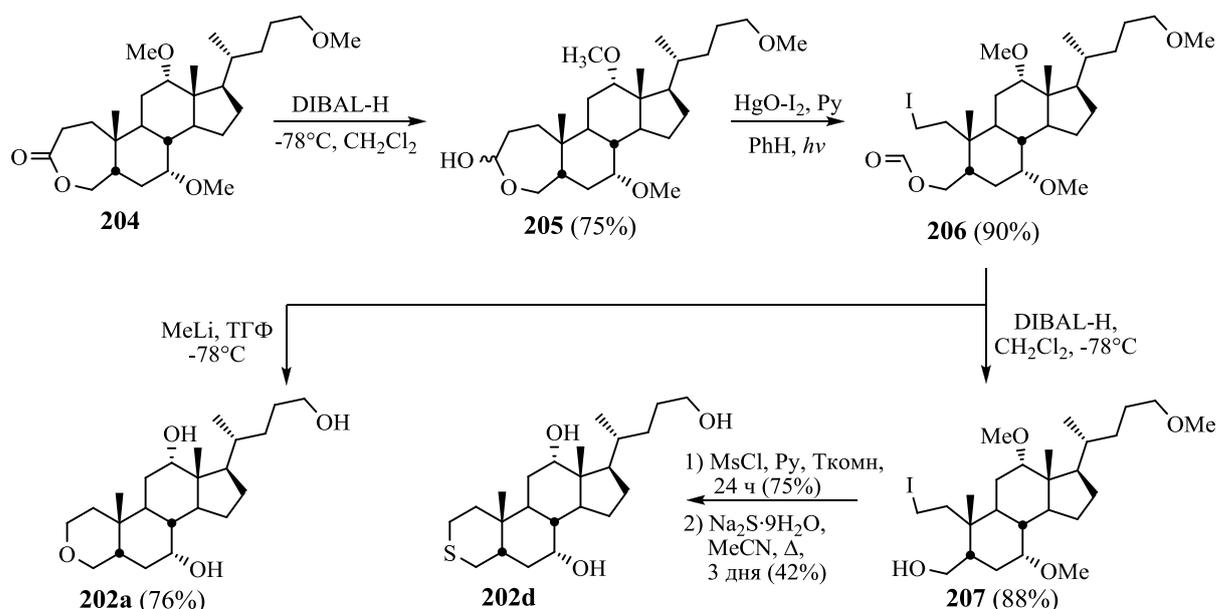


Схема 42

Окисление карбонильных производных ЖК пероксидами приводит к 1,2,4,5-тетраоксанам. Так, при взаимодействии 3-оксипроизводных ХК **208a-c** с пероксидом водорода в присутствии кислотного катализатора при пониженной температуре или с $(\text{Me}_3\text{Si})_2\text{O}_2$ в присутствии триметилсилилтрифлата (TMSOTf) образуются димерные тетраоксаны **209a-c**, **210a-c** (Схема 43)^{124, 204}. Следует отметить, что при использовании одного стереоизомера хирального кетона **208** в результате димеризации получают два диастереомера **209** и **210**.

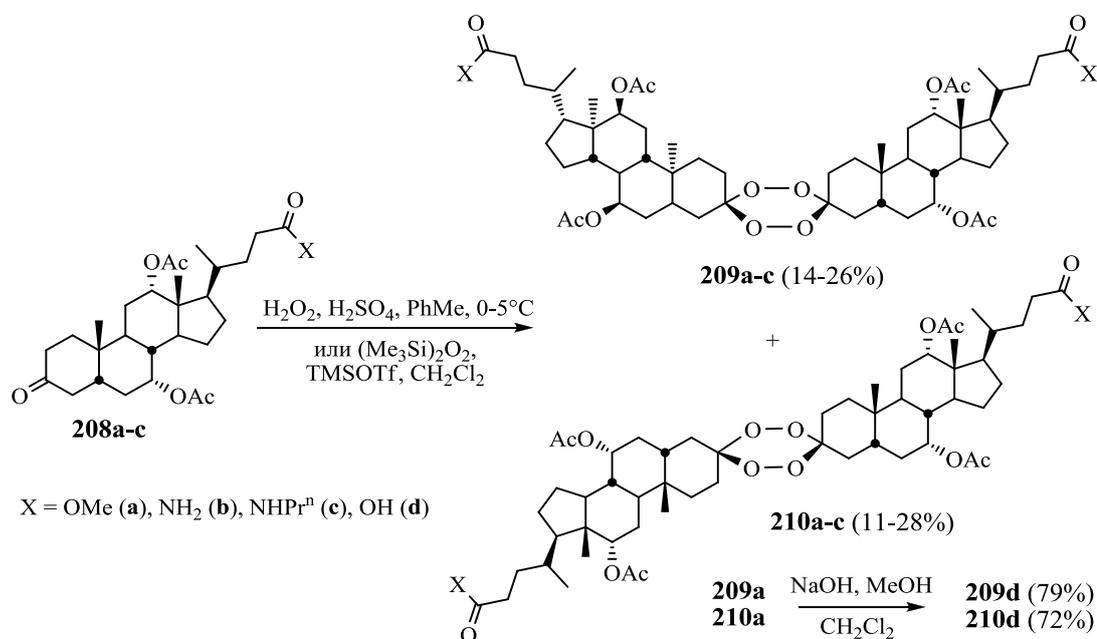
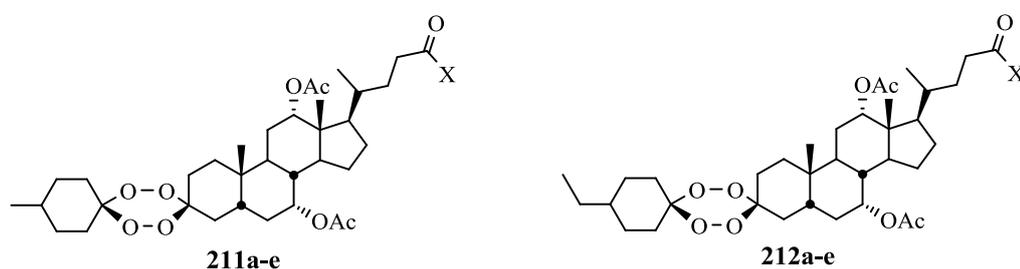


Схема 43

Синтезированные соединения проявили противомаларийную активность *in vitro* в отношении *Plasmodium falciparum* D6 и *P. falciparum* W2^{124, 204}, а также антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеточных линий FemX и HeLa¹²⁴. Самым активным и в то

же время низкотоксичным оказался *n*-пропиламид **209c** ($IC_{50} = 9.29 \cdot 10^{-9}$ моль·л⁻¹ в отношении *P. falciparum* D6), при этом в качестве стандарта использовали артемизинин – препарат против тропической малярии ($IC_{50} = 8.6 \cdot 10^{-9}$ моль·л⁻¹)^{124, 204}. Наиболее высокую антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеточных линий FemX и HeLa, сравнимую с активностью цисплатина, проявили соединения **208b,d** и **209b** (значения IC_{50} варьировались от $3.1 \cdot 10^{-6}$ до $6.2 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹; для сравнения, в случае цисплатина $IC_{50} = 3.5 \cdot 10^{-6}$ моль·л⁻¹ в отношении клеток HeLa)¹²⁴.

В работе²⁰⁵ окислением соединения **208a** пероксидом водорода и последующим взаимодействием интермедиата с различными циклическими кетонами синтезировали смешанные 1,2,4,5-тетраоксаны, которые проявили противомаларийную активность в тестах *in vitro*²⁰⁵ и *in vivo*²⁰⁶. Примеры некоторых синтезированных соединений (**211a–c**, **212a–e**) приведены на рисунке 22. Смешанные тетраоксаны обладали более высокой противомаларийной активностью в отношении *P. falciparum* D6 и *P. falciparum* W2 по сравнению с димерными тетраоксанами, полученными на основе ЖК или из циклических кетонов²⁰⁵. Наиболее активными оказались соединения **211a,b**: IC_{50} в отношении *P. falciparum* D6 составили $1.53 \cdot 10^{-9}$ и $1.17 \cdot 10^{-9}$ моль·л⁻¹, а для *P. falciparum* W2 $0.98 \cdot 10^{-9}$ и $0.58 \cdot 10^{-9}$ моль·л⁻¹ соответственно.



X = OH (a), NH₂ (b), NHMe (c), NHEt (d), NHPrⁿ (e)

Рисунок 22

Таким образом, в данном разделе представлены реакции карбонильных групп оксипроизводных ЖК с различными С-, О- и N-нуклеофилами, которые приводят к соединениям, пригодным для последующей модификации. Рассмотрено окисление оксипроизводных ЖК в условиях реакции Байера–Виллигера, в результате которого образуются соединения с лактонным циклом. Такие лактоны являются ключевыми интермедиатами в синтезе секостероидов, макроциклических структур и соединений, содержащих гетероатом в строидном остове. Описаны также реакции окисления оксипроизводных ЖК пероксидом водорода в кислотной среде, которые используют в синтезе димерных или смешанных тетраоксанов.

1.5. Заключение

В настоящем обзоре представлен широкий спектр разнообразных химических превращений желчных кислот с участием стероидного остова, которые приводят к образованию производных, обладающих биологической активностью или ценными физико-химическими свойствами. Рассмотрены особенности строения ЖК, их биологические функции и основные источники.

Кратко рассмотрены модификации боковой цепи ЖК, связанные в первую очередь с получением производных по нативной карбоксильной группе (солей, комплексов, сложных эфиров и амидов), а также изменением длины боковой цепи и введением различных функциональных групп. Зачастую данные производные ЖК являются биологически активными соединениями, обладающими антипролиферативной, противоопухолевой, антимикробной, противогрибковой, антиостеопорозной и другими активностями.

Модификация стероидного остова основана на превращениях нативных гидроксильных групп, которые включают реакции этерификации, замещения, элиминирования и окисления. Структура стероидного остова определяет разную реакционную способность как нативных гидроксильных, так и других функциональных групп циклов А, В и С, что позволяет селективно модифицировать ту или иную группу в молекулах ЖК. Следует отметить, что реакции этерификации гидроксильных групп являются одними из способов получения конъюгатов ЖК с биологически активными молекулами с целью их адресной доставки к определенным органам, вследствие особенностей распределения ЖК в организме. В некоторых случаях такая конъюгация позволяет значительно уменьшить токсичность и другие негативные побочные эффекты исходного лекарственного агента.

Оксопроизводные ЖК являются важным классом соединений, широко используемым в органическом синтезе. Наряду с восстановлением карбонильных групп до гидроксильных с β -конфигурацией, которое приводит к образованию эпимеров ЖК, химическая лабильность карбонильных производных, обусловленная кето-енольной таутомерией, позволяет проводить глубокую модификацию стероидного остова.

Особое внимание в обзоре уделено $\beta\alpha$ -алкилпроизводным ЖК, в частности $\beta\alpha$ -этилхенодесоксихолевой кислоте, проявляющей высокое активирующее действие в отношении ядерного рецептора FXR. Приведен также ряд примеров, в которых оксопроизводные ЖК выступают в качестве метиленовых компонентов в реакциях конденсации, что обуславливает формирование различных 1,3-дикарбонильных фрагментов. Дикарбонильные производные в свою очередь используются в синтезе биологически активных соединений, которые содержат в структуре гетероциклический фрагмент, конденсированный с циклом А стероидного остова.

α -Бромзамещенные оксопроизводные ЖК выступают ключевыми интермедиатами при модификации стероидного остова новыми функциональными группами, такими как F, OH, N₃ (реакции нуклеофильного замещения атома брома), а также при формировании кратных связей (реакции элиминирования).

Среди α,β -ненасыщенных карбонильных производных ЖК наибольшую ценность представляют соединения, содержащие 3-оксо-4(5)-еновый фрагмент. Такие производные являются интермедиатами в синтезе аллохолевых кислот, соединений с остовом ланостанового типа, биологически активных стероидов, в том числе содержащих гетероатом (O или N) в положении 4, а также ЖК с изотопами углерода ¹³C в остове.

Реакции карбонильных производных с различными нуклеофильными агентами позволяют модифицировать стероидный остов функциональными группами, перспективными с точки зрения дальнейших превращений, – эпоксидными, алкилиденовыми, оксимными и др. Окисление карбонильных производных в условиях реакции Байера–Виллигера приводит к образованию соединений с аннелированным семичленным лактонным циклом, которые широко используются в синтезе секостероидов и макроциклических структур на основе ЖК, а также производных ЖК, содержащих в положениях 3 и 12 стероидного остова вместо CH₂-группы атомы O и S или группы SO, SO₂, NPh.

Множество возможных путей модификации желчных кислот и в настоящее время обуславливает постоянный интерес исследователей к химии соединений этого класса.

ГЛАВА 2. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Интерес исследователей к химическим превращениям желчных кислот обусловлен широким спектром нативной биологической активности, особенностями строения, высокой энантиомерной чистотой и доступностью этого класса веществ. Химия ЖК базируются на известных органических реакциях, позволяющих проводить химические трансформации функциональных групп, как в боковой цепи, так и в остове молекулы. В литературном обзоре были рассмотрены различные комбинации таких реакций, которые приводят к образованию соединений, обладающих ценными свойствами (в том числе биологической активностью и амфифильностью) и огромным потенциалом для использования различных областях химической науки: медицинской химии, супрамолекулярной химии, науки о материалах и других.

Объектом исследований данной работы является ДХК (Рисунок 23), – вторичная ЖК – образующаяся из ХК в кишечнике млекопитающих под воздействием кишечной микрофлоры. Её доля в общем пуле желчных кислот составляет около 20%. Дезоксихолевая кислота выполняет множество физиологических функций и используется в различных фармацевтических композициях в качестве природного поверхностно-активного вещества, способствующего растворению или увеличению абсорбции других соединений. Согласно обзору патентов и исследовательских статей, опубликованных в 2011–2014 годах²⁰⁷, ДХК широко используется в качестве исходного материала для получения новых производных, пригодных для терапевтического применения: противораковых агентов, поверхностно-активных веществ, усилителей абсорбции, носителей для адресной доставки лекарств к определенным органам. Немаловажными факторами при выборе объекта для исследований явились его доступность и низкая стоимость.

Целью данной работы является расширение круга биологически активных производных ДХК путем синтеза новых соединений модификацией как стероидного остова, так и боковой цепи молекулы новыми функциональными группами.

Работу условно можно разделить на две части: модификацию стероидного остова и модификацию боковой цепи ДХК. Легкость получения карбонильных групп в остове окислением нативных гидроксильных групп открывает широкие возможности для дальнейших химических превращений. В настоящей работе новые соединения синтезировали из оксопроизводных ДХК, основываясь на таких свойствах карбонильных групп, как енолизация и взаимодействие с нуклеофильными агентами. Способность карбонильных соединений образовывать енольную форму позволяет формировать 1,3-дикарбонильные фрагменты (реакции конденсации) или α,β -ненасыщенные карбонильные фрагменты (введение функциональной группы в α положение относительно карбонильной и последующее элиминирование с образованием двойной связи).

Взаимодействие карбонильной группы с илидами серы (углеродцентрированные нуклеофилы) приводит к формированию эпоксидного цикла, который в свою очередь легко вступает в реакции с различными нуклеофилами. Модификация боковой цепи, как правило, заключается в синтезе таких производных как сложные эфиры и амиды. Кроме этого встречаются трансформации, сопровождающиеся изменением длины боковой цепи или введением новых функциональных групп. В то же время в литературе описано ограниченное число производных ЖК, содержащих в боковой цепи терминальный гетеро- или карбоциклический фрагмент. Основываясь на концепции биоизостеризма в работе были получены производные ДХК, содержащие фрагменты 3'-замещенных 1,2,4-оксадиазолов, которые являются биоизостерами карбоксильной группы и ее производных (сложные эфиры, амиды).

Исследование биологической активности *in vitro* синтезированных соединений проводилось сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН. Была исследована антипролиферативная активность (цитотоксическое действие в отношении различных опухолевых клеточных линий) и противовоспалительная активность (способность влиять на продукцию оксида азота (NO) целевых соединений, а также всех промежуточных продуктов синтеза. Вследствие присущего желчным кислотам органотропизма, а именно участия в процессе кишечно-печеночной циркуляции, исследование антипролиферативной активности новых производных проводилось на клетках аденокарциномы прямой кишки человека (HuTu-80), гепатоцеллюлярной карциномы человека (HepG2) и клетках гепатомы мыши (MH-22a). В качестве контроля были использованы клетки эпидермоидной карциномы шейки матки человека (KB-3-1), аденокарциномы легких человека (A-549), не относящиеся к кишечно-печеночным линиям, макрофагальные мышинные клеточные линии (J-774, RAW264.7) и нетрансформированные фибробласты человека (hFF-3). Антипролиферативная активность синтезированных продуктов представлена в виде значений IC_{50} – концентраций полумаксимального ингибирования. Эффективность соединений определяли по значениям индексов селективности (SI), которые вычисляются как отношение цитотоксичности соединения в отношении нормальных клеток к цитотоксичности в отношении опухолевых клеток. Анализ противовоспалительного действия полученных соединений был проведен с помощью теста, оценивающего способность соединения влиять на продукцию NO (одного из медиаторов воспалительных процессов в живых организмах^{208, 209, 210}) индуцибельной NO-синтазой в макрофагальных клетках J-774, стимулированных липополисахаридами, или макрофагальных клетках RAW264.7, стимулированных интерфероном гамма. Результаты исследования противовоспалительной активности представлены в виде значений IC_{50}^{NO} , которые определяли как концентрацию соединения, обеспечивающую 50%-ное снижение образования NO в клетках.

2.1 Синтез α -замещенных α,β -ненасыщенных карбонильных производных дезоксихолевой кислоты

Ранее было показано, что формирование 2-циано-3-оксо-1(2)-енового фрагмента в цикле А остова пентациклических тритерпеноидов (бетулин²¹¹, бетулиновая^{212, 213}, олеаноловая²¹⁴, урсоловая²¹⁴, глицирретовая^{215, 216, 217} кислоты) увеличивает противовоспалительную и противоопухолевую активность полученных соединений в сравнении с исходными молекулами. Все эти полусинтетические производные в микро- и наномолярных концентрациях индуцируют апоптоз опухолевых клеток различной природы, а также эффективно ингибируют синтез оксида азота (II) (NO)^{217, 218, 219, 220, 221}, одного из основных медиаторов воспаления. Одним из наиболее активных производных является солоксолон метил (метилвый эфир 2-циано-3,12-диоксо-18 β H-олеан-1(2),9(11)-диен-30-овой кислоты)^{217, 221}, полученный модификацией циклов А и С глицирретовой кислоты (Рисунок 23).



Рисунок 23

Желчные кислоты и пентациклические тритерпеноиды – полициклические соединения, которые являются биогенетическими родственниками, поскольку образуются в ходе биоциклизации сквалена. Пентациклические тритерпеноиды характеризуются *транс*-сочленением циклов А и В, наличием двух метильных групп в положении 4 и отсутствием функциональных групп в цикле В. Структура ЖК млекопитающих включает жесткий стероидный остов, состоящий из четырех сопряженных циклов с *цис*-сочленением циклов А и В (Рисунок 23 и 24), и короткую алифатическую боковую цепь с терминальной карбоксильной группой. ДХК единственная из ЖК человека содержит функциональные группы в циклах А и С и не содержит функциональных групп в цикле В (Рисунок 1), что позволяет осуществить модификации колец А и С подобные описанным выше для тритерпенов.

Целью данной части работы является синтез полного аналога солоксолон метила на базе ДХК формированием 2-циано-3-оксо-1(2)-енового и 12-оксо-9(11)-енового фрагментов в циклах А и С остова, а также синтез других структурных аналогов для изучения зависимости структура–свойство.

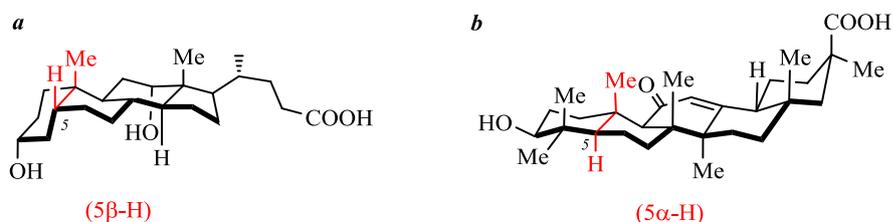


Рисунок 24. *цис*-Сочленение циклов А и В в дезоксихолеовой кислоте (а) и *транс*-сочленение в глицерретовой кислоте (b)

Основываясь на всём вышесказанном, основными задачами данной части работы являются:

1. Синтез соединений, содержащих 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент в цикле А и 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент (аналог солоксолон метила) или 12-оксо-группу в цикле С для изучения влияния стероидного остова на биологическую активность.
2. Синтез соединений, содержащих 12-оксо-9(11)-еновый или 12-оксо фрагмент в цикле С и различные α,β -ненасыщенные 3-оксо фрагменты в цикле А для изучения влияния наличия нитрильной группы и расположения кратных связей в остове на биологическую активность.

Ключевыми интермедиатами в синтезе целевых соединений являются 3-оксопроизводные ДХК **213** и **218**, содержащие в цикле С 12-оксо или 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент соответственно (Схема 44). Метилловый эфир ДХК **86** был выбран в качестве стартового соединения. Поскольку ЖК являются полифункциональными молекулами, при проведении многостадийных синтезов используют их сложные эфиры во избежание побочных реакций, связанных с карбоксильной группой. Эфир **86** был получен метилированием ДХК диазометаном (Схема 44). Дикетон **213** был получен из **86** окислением реагентом Джонса с выходом 94%. Последовательность превращений, приводящая к образованию соединения **218** исходя из метилового эфира ДХК **86**, приведена на схеме 44. Защита 3-ОН группы в ходе реакции ацилирования уксусным ангидридом в пиридине (соединение **214**) (ход реакции контролировали ТСХ, чтобы избежать ацилирования 12-ОН группы), с последующим окислением свободной гидроксильной группы реагентом Джонса привели к образованию карбонильной группы в 12-м положении (соединение **215**). Формирование 9(11)-двойной связи в остове тритерпеноидов осуществляли реакцией бромирования – дегидробромирования в уксусной кислоте^{214, 221}. Взаимодействие соединения **215** с бромом в уксусной кислоте не привело к образованию 11-бромпроизводного, несмотря на то, что в литературе описана реакция бромирования 12-оксопроизводных ЖК¹⁷⁵. Дальнейшее формирование 9(11)-двойной связи осуществляли взаимодействием с SeO₂. В литературе описано несколько методик формирования 12-оксо-9(11)-енового фрагмента в цикле С стероидного остова ЖК окислением оксидом селена (IV)^{222, 223, 224}, которые отличаются длительностью проведения реакции (от 18 до

72 часов), способами обработки и выделения конечного соединения, однако, в них отсутствуют указания об используемом соотношении реагентов и их концентрации в реакционной смеси, поэтому воспроизвести указанные методики не представляется возможным. В связи с этим мы были вынуждены исследовать данную реакцию и провести подбор условий, позволяющих синтезировать соединение **216**, что будет описано ниже. Кипячение **215** с шестикратным избытком SeO_2 в уксусной кислоте в течение 24 часов приводило к образованию **216** с выходом 75%. Последующее удаление ацетатной защитной группы KOH в метаноле приводило к образованию соединения **217**, в результате окисления продукта **217** реагентом Джонса образовывался ключевой интермедиат **218**, общий выход которого составил 45% в пересчете на эфир **86**.

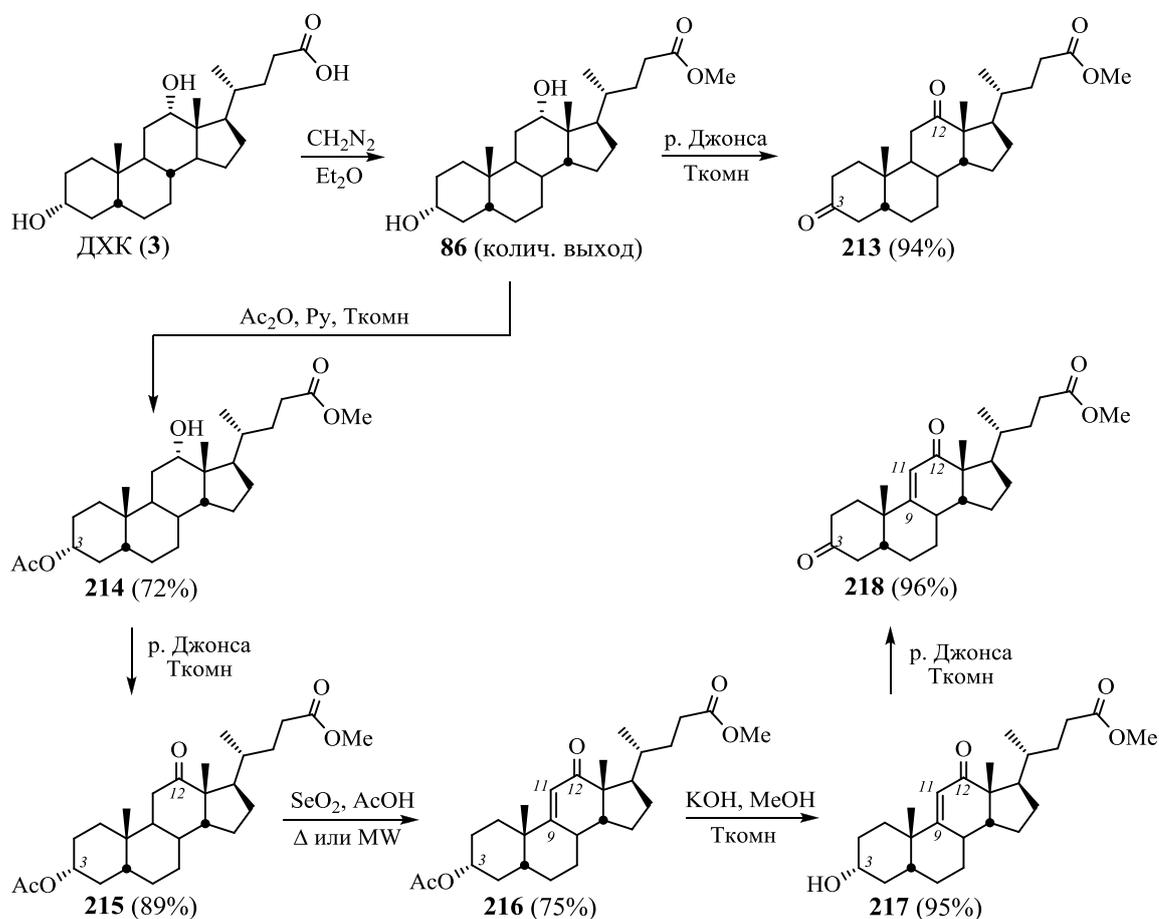


Схема 44

К основным недостаткам стадии окисления **215** диоксидом селена (IV) мы отнесли большой расход реагента, а также длительное время протекания реакции: полная конверсия **215** в **216** (ход реакции контролировали ЯМР ^1H) достигалась при непрерывном кипячении в течение 24 часов. В случае неполной конверсии разделение продукта **216** и реагента **215** методом колоночной хроматографии является трудоёмким и малоэффективным, поскольку оба вещества имеют близкие величины фактора удерживания. Следует отметить, что проведение

реакции с использованием трехкратного избытка SeO_2 и кипячении реакционной смеси в течение 48 часов приводит к полной конверсии исходного соединения **215**.

Использование микроволнового излучения в качестве альтернативного способа нагрева реакционных смесей часто оказывается полезным в органическом синтезе, поскольку оно позволяет значительно сократить время протекания органических реакций и избежать нежелательных побочных процессов²²⁵. Для подбора условий окисления **215** диоксидом селена в уксусной кислоте мы провели ряд экспериментов с использованием MW-излучения и изучили зависимость от температуры реакционной смеси, соотношения и концентрации реагентов (Таблица 1).

Таблица 1. Влияние температуры реакционной смеси, соотношения и концентрации реагентов при окислении **215** диоксидом селена в уксусной кислоте под воздействием MW-излучения

| № | Соединение 215 , мг | Молярное соотношение 215 : SeO_2 | T , °C | t , ч | Соотношение 215 : 216 (данные ЯМР ^1H) |
|-----------|----------------------------|--|------------|------------|--|
| 1 | 100 | 1:6 | 120 | 0.5 | 1 : 0 * |
| 2 | 100 | 1:6 | 120 | 4 | 2 : 1 * |
| 3 | 100 | 1:6 | 120 | 4 | 2 : 1 |
| 4 | 100 | 1:6 | 150 | 0.5 | 1.2 : 1 |
| 5 | 100 | 1:6 | 150 | 1 | 1 : 2.6 |
| 6 | 100 | 1:6 | 180 | 0.5 | 1 : 13 |
| 7 | 100 | 1:2 | 180 | 0.5 | 1.5 : 1 |
| 8 | 100 | 1:2 | 180 | 1 | 1.2 : 1 |
| 9 | 100 | 1:2 | 180 | 2 | 1.2 : 1 |
| 10 | 100 | 1:3 | 180 | 0.5 | 1 : 10 |
| 11 | 100 | 1:3 | 180 | 1 | 1 : 8 |
| 12 | 100 | 1:4 | 180 | 0.5 | 1 : 13 |
| 13 | 100 | 1:4 | 180 | 1 | 1 : 13 |
| 14 | 100 | 1:5 | 180 | 0.5 | 1 : 8 |
| 15 | 100 | 1:5 | 180 | 1 | 1 : 10 |
| 16 | 50 | 1:3 | 180 | 0.5 | 2 : 3 |
| 17 | 400 | 1:3 | 180 | 0.5 | 0 : 1 |

Количество уксусной кислоты в каждом эксперименте 2 мл.

*Кипячение при атмосферном давлении (без использования MW-излучения)

Обнаружено, что микроволновое излучение не влияет на скорость реакции: при использовании шестикратного избытка SeO_2 и нагревании реакционной смеси до 120°C с помощью MW-излучения конверсия **215** в **216** была такой же, как и при обычном кипячении реакционной смеси при атмосферном давлении за одинаковое время (по данным ЯМР ^1H , см. эксперименты №1–3, Таблица 1). Проведение экспериментов при различной температуре показало, что ~90% конверсия достигается при температуре 180°C (эксперимент №6). Для подбора минимального необходимого количества SeO_2 были проведены эксперименты с различным мольным соотношением реагентов. Было показано, что двукратного избытка SeO_2 недостаточно для полной конверсии **215** в **216** при температуре 180°C (эксперименты №7–9), а в случае 3–5-кратного избытка SeO_2 конверсия составляет около 90% (эксперименты №10–15).

Следующим этапом стал подбор оптимальной концентрации исходного соединения **215** в реакционной смеси. Лучшие результаты в экспериментах с использованием MW-излучения были достигнуты при увеличении концентрации в четыре раза (400 мг в 2 мл AcOH) и использовании трехкратного избытка SeO_2 при температуре 180°C (эксперимент №17). Таким образом, использование микроволновой установки в синтезе позволило сократить время протекания реакции с 24 часов до 30 минут и уменьшить количество используемого SeO_2 с шестикратного избытка до трехкратного.

Для выделения продукта **216** из реакционной смеси и его очистки также был проведен подбор условий. Колоночная хроматография без предварительной окислительной обработки была малоэффективной и сопровождалась большими потерями. Окисление сырого продукта хромовой кислотой согласно методике²²² не приводило к полному удалению селенсодержащих побочных продуктов. Поэтому мы проводили обработку сырого продукта 30%-ным раствором H_2O_2 в ТГФ (данная методика используется при работе с селенорганическими соединениями²²⁶), что позволило нам выделить соединение **216** с выходом 75%.

Далее мы осуществили синтез целевых продуктов, содержащих 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент в цикле А. Для введения нитрильной группы в α -положение к карбонильной, мы выбрали способ, заключающийся в раскрытии изоксазольного цикла, поскольку именно этот метод часто используется в химии природных соединений^{211–217} (Схема 45). Изоксазольный цикл формировали в два этапа: первоначально получили 1,3-дикарбонильный фрагмент в цикле А, который затем циклизовали взаимодействием с гидроксиламином. Формирование 1,3-дикарбонильного фрагмента в цикле А осуществляли конденсацией 3-оксопроизводных **213** и **218** с метилформиатом в бензоле в присутствии NaOMe . Взаимодействие 3-оксопроизводного **218**, содержащего 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент в цикле С, с метилформиатом привело к образованию 2- (**219a**) и 4-гидроксиметиленовых (**219b**) производных в соотношении 10:1 (по данным ЯМР ^1H). В то время как реакция 3,12-диоксопроизводного **213** с метилформиатом в

тех же условиях привела к образованию 2- (**220a**) и 4-гидроксиметиленовых (**220b**) производных в соотношении 2 : 1 (по данным ЯМР ^1H). Различная реакционная способность карбонильных групп циклов А и С соединения **213** позволяет вводить новые функциональные группы в цикл А, не затрагивая при этом цикл С. Данная особенность характерна для всех ЖК и их производных: функциональные группы в положении 12 экранируются боковой цепью молекулы и в связи с этим проявляют гораздо меньшую реакционную способность по сравнению с функциональными группами цикла А¹⁹⁹. Дальнейшие превращения проводили со смесями изомеров **219a,b** (выход сырого продукта 97%) и **220a,b** (количественный выход сырого продукта).

Индивидуальные изомеры **219a**, **219b**, **220a**, **220b** были выделены колоночной хроматографией с выходами 66, 5, 19, 12% соответственно и охарактеризованы. Низкие выходы обусловлены близкими значениями факторов удерживания соответствующих изомеров, что препятствует полному разделению соединений. Наряду с индивидуальными изомерами в результате хроматографии были выделены фракции, содержащие смеси продуктов **219a,b** (9%) и **220a,b** (35%) соответственно. Конфигурация двойной связи гидроксиметиленовой группы в соединениях **219a**, **219b**, **220a**, **220b** была определена на основании анализа следующих спектральных данных:

– Химические сдвиги ОН-групп находятся в диапазоне 14.2–15.5 м.д. в спектрах ЯМР ^1H всех этих соединений. Такие сдвиги характерны для сильной водородной связи, поэтому существует только одна возможная ориентация двойной связи относительно карбонильной группы при С-3 (*Z*-конфигурация двойной связи);

– *Z*-ориентация хорошо согласуется с данными спектров NOESY ^1H - ^1H (для **219a** наблюдаются кросс-пики между (H-26)–(H-1,1') и (H-26)–(H-11); для **220a** – между (H-26)–(H-1') и (H-26)–(H-11e); для **219b** и **220b** – между (H-26)–(H-5), (H-26)–(H-6e), (H-26)–(H-7a)).

Изоксазольные производные **221a,b**, содержащие 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент в цикле С, были получены конденсацией **219a,b** с $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (1.1 экв.) в смеси $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ при комнатной температуре за 8 часов (выход сырого продукта 94%). Дальнейшие превращения проводили со смесью изомеров **221a,b**. Для установления структуры и физико-химических характеристик соединения **221a** и **221b** были выделены колоночной хроматографией с выходами 68 и 9% соответственно. Конденсация смеси изомеров **220a,b**, содержащих в цикле С только 12-оксогруппу, с $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (1.1 экв.) в среде $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ при 40°C в течение трех часов привела к образованию смеси соединений **222a,b**, которая далее использовалась без разделения. Индивидуальные изомеры **222a** и **222b** были выделены колоночной хроматографией с выходами 25 и 21% соответственно. Низкие выходы соединений **222a** и **222b**

обусловлены близкими значениями их факторов удерживания; в результате хроматографии также была выделена фракция, содержащая смесь продуктов **222a,b** с выходом 30%.

Расщепление изоксазольных циклов соединений **221a,b** и **222a,b** проводили метилатом натрия в метаноле при комнатной температуре. Изоксазольный цикл соединения **221a**, сочлененный со стероидным остовом по связи C(2)–C(3), раскрывался с образованием CN-группы (соединение **223**), в то время как изоксазольный цикл соединения **221b**, сочлененный со стероидным остовом по связи C(3)–C(4), не подвергался расщеплению в данных условиях. О протекании реакции свидетельствует исчезновение сигналов группы СН-26 соединения **221a** в спектрах ЯМР (δ_H 8.01 м.д. и δ_C 148.65 м.д.), а также возникновение сигнала CN-группы на δ 115.75 м.д в спектре ЯМР ^{13}C . Сигналы группы СН-26 изомера **221b** сохраняются в спектрах ЯМР 1H и ^{13}C . Продукт **223** был выделен из реакционной смеси колоночной хроматографией на силикагеле, выход составил 64%. Взаимодействие смеси изомеров **222a,b** с метилатом натрия в метаноле приводило к раскрытию только изоксазольного цикла соединения **222a**, сочлененного со стероидным остовом по связи C(2)–C(3), и образованию продукта **224**. О протекании реакции свидетельствует исчезновение сигналов группы СН-26 соединения **222a** в спектрах ЯМР (δ_H 7.98 м.д. и δ_C 149.13 м.д.), а также возникновение сигнала CN-группы на δ 116.08 м.д в спектре ЯМР ^{13}C . Сигналы группы СН-26 изомера **222b** в спектрах ЯМР 1H и ^{13}C сохраняются. Соединения **224** и **222b** разделяли колоночной хроматографией на силикагеле.

Ряд проведенных нами дополнительных экспериментов с изоксазольными производными **221b** и **222b** показал, что увеличение температуры реакционной смеси или времени реакции не приводят к раскрытию изоксазольного цикла (ход реакции контролировали ЯМР 1H). Детальное исследование указанной реакции не проводилось, поскольку соединения **221b** и **222b** являются минорными изомерами.

Следует отметить, что в литературе нет данных по производным ЖК, содержащим гетероциклический фрагмент, сочлененный со стероидным остовом по связи C(3)–C(4). В то время как существует большое число примеров соединений с различными пяти-, шести- и семичленными гетероциклическими фрагментами, сочлененными со стероидным остовом по связи C(2)–C(3)¹⁹².

Формирование 1(2)-двойной связи в цикле А осуществляли кипячением соединений **223** и **224** с 2,3-дихлор-5,6-дициан-1,4-хиноном (DDQ; реагент, используемый для мягкого окисления) в бензоле. Окисление соединения **223**, содержащего в цикле С 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент, привело к образованию целевого продукта **225** (полного аналога солоксолон метила), содержащего в цикле А 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент, с выходом 55%. Общий выход соединения **225** в пересчете на соединение **218** составил 15%. Второй целевой продукт **226** был

получен из соединения **224**, содержащего в цикле С только 12-оксогруппу, таким же способом, общий выход в пересчете на соединение **213** составил 35%.

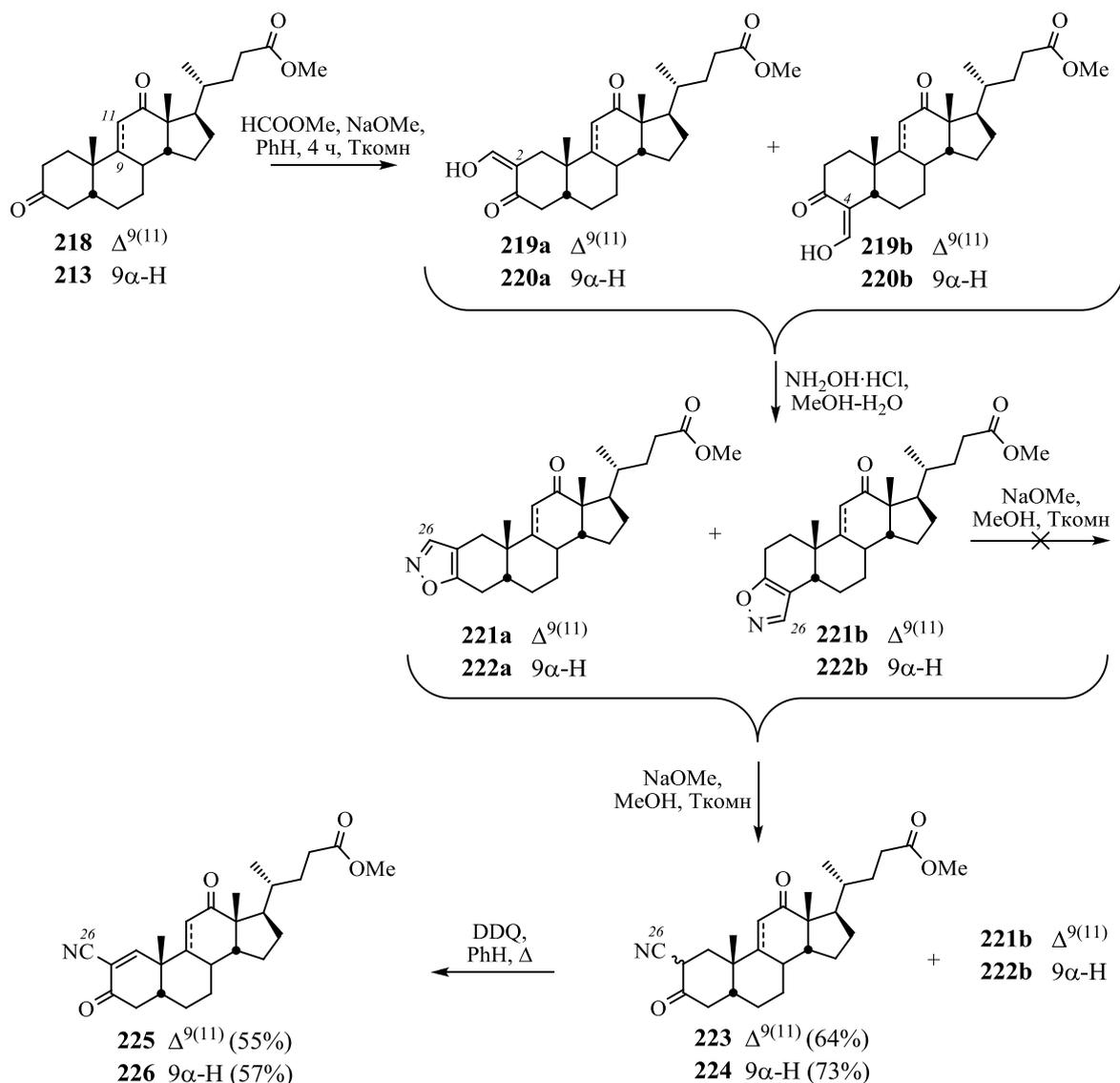


Схема 45

В рамках поставленных задач, а именно синтеза соединений, содержащих 12-оксо-9(11)-еновый или 12-оксо фрагмент в цикле С и кратные С=С связи в различных положениях цикла А, были получены соединения **227–230** (Схема 46).

Для введения в стероидный остов 4(5)-двойной связи использовалась известная литературная методика¹⁷⁷, включающая в себя получение 4-бромпроизводного и последующую реакцию дегидробромирования. Так, взаимодействие соединения **218** с бромом в уксусной кислоте с последующим нагреванием бромпроизводного с карбонатом лития и бромидом лития в ДМФА привело к образованию продуктов **227** и **228** в соотношении 4:1 (по данным ЯМР ¹H), содержащих 4(5)- и 1(2)-двойную связь в цикле А соответственно. Соединение **227** было выделено колоночной хроматографией с выходом 60%. Бромирование 3,12-диоксопроизводного **213** и последующее дегидробромирование привело к образованию

продуктов **229** и **230** в соотношении 4:1, содержащих 4(5)- и 1(2)-двойную связь в цикле А соответственно. Индивидуальные продукты **229** и **230** были выделены колоночной хроматографией с выходами 63 и 16%.

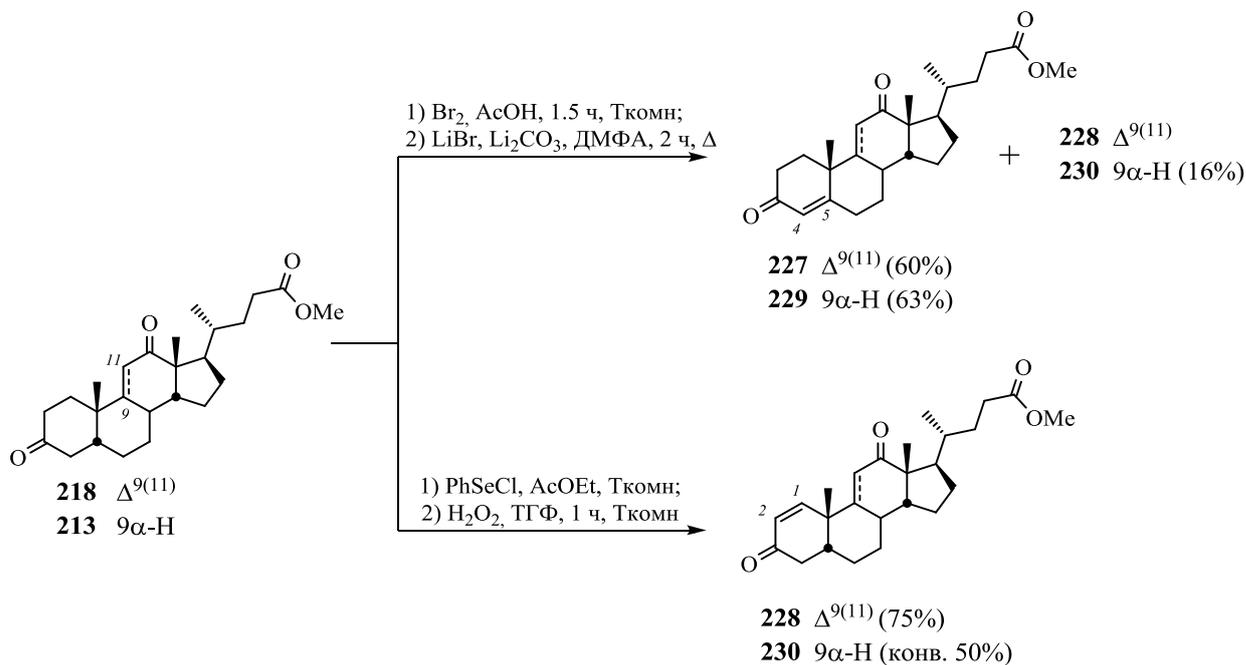


Схема 46

Другой общий метод получения α,β-непредельных карбонильных соединений заключается во взаимодействии карбонильного соединения с PhSeCl и последующим окислением промежуточного селенсодержащего продукта^{226, 227, 228}. Реакция соединения **218** с PhSeCl (1.1 экв.) в этилацетате и последующее окисление селенорганического интермедиата перекисью водорода в ТГФ приводит к образованию продукта **228**, содержащего 3-оксо-1(2)-еновый фрагмент, а также следовых количеств соединений **227** и 3-оксо-1,4-диенового производного (по данным ЯМР ¹H). При проведении аналогичной реакции с 3,12-диоксопроизводным **213** наблюдалось образование сложной смеси продуктов (продукт **230** являлся основным) в сочетании с неполной конверсией исходного кетона (50%), которая не изменялась при увеличении времени реакции. Увеличение количества PhSeCl до 1.5 эквивалентов приводило к увеличению доли 3-оксо-1,4-диенового производного в реакционной смеси. Проведение реакции в хлористом метиле или ТГФ также не приводило к полной конверсии исходного кетона или значительному изменению состава реакционной смеси. Следует отметить, что региоселективность реакции присоединения PhSeCl к карбонильным соединениям отдельно не изучалась. В литературе описаны примеры реакций на базе соединений стероидного ряда, протекающие с преимущественным присоединением PhSe-группы по положению 4 стероидного остова²²⁶.

Обе упомянутые реакции введения двойной связи в α -положение к карбонильной группе протекают через образование енольной формы, поэтому можно предположить, что фактором, определяющим направление реакции, является природа растворителя.

Таким образом, была успешно реализована схема введения 2-циано-1(2)-ен-3-онового фрагмента в цикл А остова ДХК и получены целевые соединения **225** и **226**; осуществлен синтез соединений **227–230**, содержащих кратные С=С связи в различных положениях цикла А.

Результаты исследования антипролиферативной и противовоспалительной активности *in vitro* синтезированных производных представлены в таблице 2 в виде значений IC_{50} (концентраций полумаксимального ингибирования). Анализ полученных данных позволяет выделить некоторые зависимости «структура – биологическая активность» для производных ДХК:

- 1) Формирование фармакофорного 2-циано-3-оксо-1(2)-енового фрагмента в цикле А стероидного остова приводит к усилению цитотоксического действия полученных соединений по сравнению с исходной ДХК. При сравнении абсолютных величин токсичности конечных соединений тритерпеновый остов оказывается более предпочтительным, чем стероидный, однако производные ДХК проявляют высокую селективность в отношении клеток кишечно-печеночной природы по сравнению с солоксолон метилом (сравните **225**, **226** и солоксолон метил). Отсутствие 9(11)-двойной связи в цикле С для соединений, содержащих 2-циано-3-оксо-1(2)-енового фрагмента в цикле А, приводит к значительному снижению цитотоксичности в отношении опухолевых клеток (сравните **225** и **226**).
- 2) Наличие CN-группы в цикле А приводит к увеличению цитотоксического действия в отношении клеток кишечно-печеночной природы для соединений, содержащих 9(11)-двойную связь в цикле С (сравните **225** и **228**), и к снижению цитотоксического действия для соединений, содержащих в цикле С только 12-оксогруппу (сравните **226** и **230**).
- 3) Изменение расположения двойной связи в цикле А (1(2) на 4(5)) не приводит к значительным изменениям цитотоксичности (сравните **227** и **228**; **229** и **230**).
- 4) Введение в цикл А полярных функциональных групп таких как гидроксиметиленовая, циано-группа или изоксазольный цикл увеличивает цитотоксичность соединений и расширяет спектр биологического действия по сравнению с исходной кислотой. Положение функциональной группы влияет на активность соединения: положение 2 является более предпочтительным, чем положение 4 в случае гидроксиметиленовой группы (сравните **219a** и **219b**; **220a** и **220b**), сочленение изоксазольного цикла со стероидным остовом по связи С(3)–С(4) предпочтительнее, чем по связи С(2)–С(3) (сравните **222a** и **222b**). Для 2-гидроксиметиленовых производных отсутствие 9(11)-

Таблица 2. Значения IC₅₀ (мкМ) и SI для целевых соединений **225-230**, интермедиатов, ДХК и солоксолон метила

| Соединение | IC ₅₀ ^{HuTu80} | SI ^{HuTu80} | IC ₅₀ ^{HepG2} | SI ^{HepG2} | IC ₅₀ ^{MH-22} | SI ^{MH-22} | IC ₅₀ ^{KB-3-1} | SI ^{KB-3-1} | IC ₅₀ ^{J774} | IC ₅₀ ^{NO} |
|-------------------------|------------------------------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| 213 | 56.3±8.2 | 1.7 | >100 | - | >100 | - | >100 | - | >100 | 10.5±0.1 |
| 218 | 26.8±2.7 | 3.7 | >100 | - | >100 | - | >100 | - | >100 | 10.1±0.6 |
| 219a | 10.5±0.5 | 9.6 | 16.9±0.8 | 5.8 | 38.2±0.3 | 2.6 | >100 | - | >100 | 9.3±0.3 |
| 219b | 13.2±0.6 | 7.6 | 68.1±8.1 | 1.4 | >100 | - | 21.9±0.6 | 4.5 | >100 | 9.4±0.3 |
| 220a | 6.5±0.5 | 3.2 | 8.1±0.2 | 2.6 | 9.8±0.3 | 2.1 | 4.9±0.5 | 4.2 | 20.9±1.6 | 7.9±0.8 |
| 220b | 18.9±1.7 | 5.3 | >100 | - | 70.7±1.1 | 1.4 | >100 | - | >100 | 10.1±1.3 |
| 221a | 13.0±0.2 | 7.6 | 20.3±1.6 | 4.9 | 21.8±1.1 | 4.5 | 21.9±1.4 | 4.6 | >100 | 8.4±0.6 |
| 222a | 38.2±3.3 | 2.6 | 38.9±1.6 | 2.5 | 30.1±2.9 | 3.3 | >100 | - | >100 | 24.9±0.3 |
| 222b | 19.5±0.6 | 5.1 | 21.5±0.7 | 4.6 | 24.8±0.8 | 4.0 | >100 | - | >100 | 37.7±5.2 |
| 225 | 18.3±0.4 | 5.5 | 19.6±0.5 | 5.1 | 31.1±1.4 | 3.2 | >100 | - | >100 | 14.3±0.9 |
| 226 | 94.2±0.9 | 1.06 | >100 | - | 51.5±0.1 | 1.9 | >100 | - | >100 | 11.9±0.1 |
| 227 | 55.7±3.6 | 1.6 | >100 | - | 51.5±1.4 | 1.7 | >100 | - | >100 | 12.2±1.9 |
| 228 | 43.3±5.8 | 2.3 | >100 | - | 23.2±0.4 | 4.3 | >100 | - | >100 | 11.4±1.5 |
| 229 | 39.9±4.2 | 1.5 | >100 | - | 33.8±1.6 | 1.9 | >100 | - | 63.4±5.2 | 10.3±1.9 |
| 230 | 37.2±4.8 | 2.7 | >100 | - | 43.1±2.5 | 2.3 | >100 | - | >100 | 8.7±0.3 |
| ДХК | 82.9±1.9 | 1.2 | >100 | - | 51.8±0.6 | 1.9 | >100 | - | >100 | 50.7±6.5 |
| Солоксолон метил | 0.7±0.2 | 4.7 | 2.4±0.4 | 1.4 | 2.5±0.2 | 1.3 | 0.3±0.1 | 11 | 3.3±0.1 | 0.1±0.1 |

Данные получены сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН.

Результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение средней величины из трех независимых экспериментов.

Индекс селективности (SI) рассчитывался как отношение IC₅₀^{J774} к IC₅₀^{HuTu80}, IC₅₀^{HepG2}, IC₅₀^{MH-22} и IC₅₀^{KB-3-1} соответственно. IC₅₀^{NO} определяли как концентрацию соединения, обеспечивающую 50%-ное снижение образования NO в клетках J774, стимулированных липополисахаридами.

двойной связи в цикле С значительно увеличивает токсичность как против опухолевых, так и неопухолевых клеток (сравните **220a** и **219a**). Соединение **220a** оказалось самым токсичным соединением в ряду синтезированных производных.

- 5) Все синтезированные производные проявляют более высокую противовоспалительную активность по сравнению с исходной кислотой. Следует отметить, что полученные соединения обладают близкими значениями IC_{50}^{NO} (7.9–14.3 мкМ) вне зависимости от функциональных групп остова, за исключением изоксазольных производных **222a,b**, которые оказались менее активными ($IC_{50}^{NO} = 24.7$ и 37.7 мкМ).

Таким образом, в данной части работы был синтезирован ряд производных ДХК, в том числе 14 новых соединений ранее не описанных в литературе. Был осуществлен синтез фармакофорного 2-циано-1(2)-ен-3-онового фрагмента в цикле А остова ДХК и получены целевые соединения **225** и **226**; подобраны условия, позволяющие селективно получать различные α,β -ненасыщенные карбонильные фрагменты в циклах А и С остова ДХК (получены соединения **227–230**). Вследствие исследования реакции окисления метилового эфира 3-ацетокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты **215** диоксидом селена в уксусной кислоте (формирование 9(11)-двойной связи) с использованием микроволнового реактора были подобраны условия, позволившие сократить время протекания реакции и количество используемого окислителя. В результате исследований антипролиферативной и противовоспалительной активности *in vitro* полученных веществ были выделены наиболее активные соединения, содержащие полярные функциональные группы в цикле А остова ДХК (гидроксиметиленовая (**219a**, **219b**, **220a**), циано-группа (**225**), изоксазольный цикл (**221a**)). Исследование антипролиферативной активности показало, что полученные соединения проявляют цитотоксическое действие в отношении печеночных и кишечных опухолевых клеточных линий, и нетоксичны по отношению к неопухолевой линии клеток, а также к клеткам эпидермоидной карциномы, что может объясняться, высоким сродством ЖК и их производных к клеткам данной природы. Синтезированные соединения обладают более выраженной биологической активностью по сравнению с исходной кислотой. Самыми активными соединениями оказались гидроксиметиленовые производные **219a** и **220a**, они проявили наибольшую антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеток кишечно-печеночной природы, но продукт **220a** оказался высоко токсичен в отношении других клеточных линий, как опухолевых, так и нормальных.

2.2 Синтез 2-аминометиленовых производных метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты

Опираясь на данные приведенного литературного обзора по химии ЖК, можно заключить, что модификация стероидного остова или карбоксильной группы азотсодержащими функциональными группами зачастую приводит к соединениям, обладающим ценными биологическими свойствами (противоопухолевая^{78, 91, 126, 163}, противомикробная и противогрибковая^{88, 138–140, 167}, противотуберкулезная¹⁸⁰ активности, ингибирование кишечных и печеночных транспортеров ЖК^{82, 95} и др.). Поэтому синтез и исследование биологических свойств азотсодержащих производных ЖК представляют особый интерес.

Анализ результатов предыдущей части работы показал, что одним из наиболее активных соединений оказался метиловый эфир 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (**220a**), синтезируемый из ДХК в три стадии. Данное соединение было выбрано для дальнейших модификаций, поскольку при создании биологически активных соединений немаловажную роль играет не только эффективность соединения, но и легкость его получения.

В связи с вышесказанным в данной части работы решались следующие задачи:

1. Подбор условий реакции получения метилового эфира 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (**220a**) для увеличения его содержания в реакционной смеси.
2. Синтез ряда производных ДХК модификацией гидроксиметиленовой группы соединения **220a** алифатическими диаминами и аминспиртами.

Метиловый эфир 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты **220a** является основным продуктом реакции конденсации метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты **213** с метилформиатом в бензоле и присутствии метилата натрия (Схема 45). Однако он образуется в смеси со своим структурным изомером – 4-гидроксиметиленовым производным **220b**, соотношение **220a** : **220b** составило 2:1 согласно данным ЯМР ¹H (суммарный выход смеси изомеров **220a,b** после очистки колоночной хроматографией составил 82%). Для увеличения содержания изомера **220a** в реакционной смеси реакцию конденсации соединения **213** с метилформиатом проводили с использованием таких оснований как гидрид натрия и *трет*-бутилат калия. Наилучшие результаты были достигнуты при использовании в качестве основания гидрида натрия: соотношение соединений **220a** и **220b** в реакционной смеси составило 8:1; в то время как при проведении реакции с Bu¹OK соотношение продуктов составило 3:1, согласно данным ЯМР ¹H (Таблица 3). Следует отметить, что при увеличении времени реакции, проводимой с NaNH, с 4 до 72 часов в реакционной смеси обнаруживалось только соединение **220a**. Вероятно, отсутствие второго изомера **220b** в реакционной смеси связано с её осмолением и разложением продуктов из-за увеличения времени реакции. Изомер

220a выделили в индивидуальном виде из реакционной смеси, полученной в результате реакции с NaH, колоночной хроматографией с выходом 74% и использовали в дальнейшем синтезе.

Таблица 3. Соотношение продуктов **220a:220b** в реакциях конденсации с использованием различных оснований.

| № | Основание | Время реакции | Соотношение 220a:220b (ЯМР ¹ H) |
|---|--------------------|---------------|--|
| 1 | NaOMe | 4 ч | 2 : 1 |
| 2 | Bu ^t OK | 4 ч | 3 : 1 |
| 3 | NaH | 4ч | 8 : 1 |
| 4 | NaH | 72 ч | 1 : 0 |

Для модификации **220a** азотсодержащими функциональными группами были выбраны амины: *N,N*-диметилэтилендиамин, *N,N*-диэтилэтилендиамин, *N,N*-диметил-1,3-пропандиамин, *N,N*-диэтил-1,3-пропандиамин, 2-аминоэтанол и 3-аминопропанол. Незамещенные амины не использовались в синтезе, поскольку взаимодействие с ними может приводить к продуктам димеризации.

Соединение **220a** является полифункциональным и наряду с гидроксиметиленовой группой содержит две карбонильные группы в положениях 3 и 12 стероидного остова, а также сложноэфирную группу в боковой цепи. Все перечисленные функциональные группы потенциально могут вступать в реакцию с аминами. В литературе представлены несколько методик модификации гидроксиметиленовой группы аминами на примере полусинтетических производных природных соединений^{229, 230, 231, 232, 233}. Мы использовали методику, основанную на взаимодействии гидроксиметиленовой группы с амином при кипячении в ТГФ в инертной атмосфере. Соединение **220a** и 1.5 экв. соответствующего амина кипятили в ТГФ в атмосфере аргона, время реакции составляло от 1.5 до 2.5 часов. В данных условиях в реакцию с аминами вступала только гидроксиметиленовая группа соединения **220a**, что приводило к образованию соответствующих 2-аминометиленовых производных **231-236** (Схема 47). Полученные продукты выделили колоночной хроматографией на силикагеле, выходы составили 57-69%. *Z*-Конфигурацию енаминовой группы соединений **231-236** подтвердили на основании анализа данных ЯМР ¹H: химический сдвиг сигнала N-H расположен на δ 9.62-9.88 м.д., что свидетельствует об участии протона NH-группы в образовании водородной связи с карбонильной группой при атоме C-3.

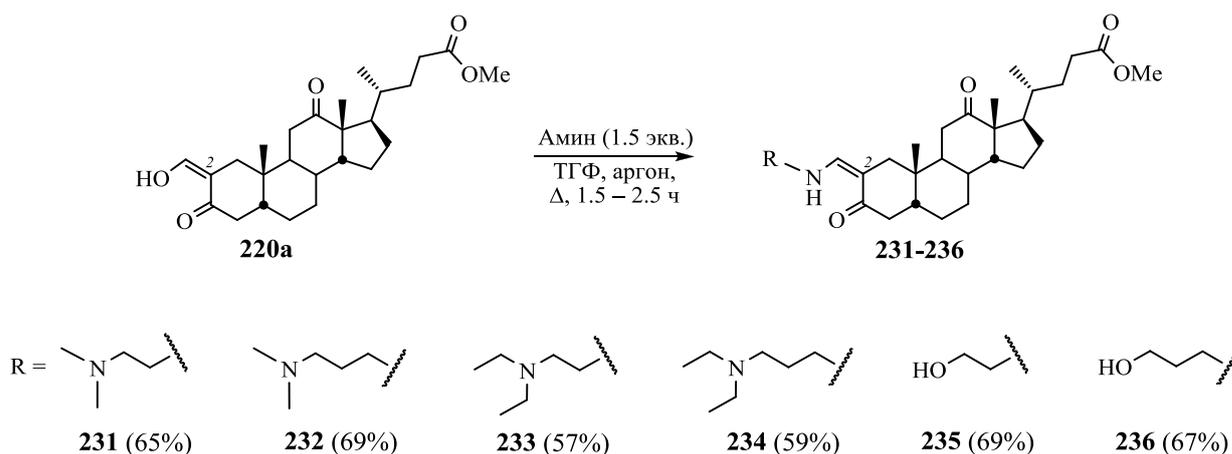


Схема 47

Результаты исследования антипролиферативной активности *in vitro* синтезированных производных представлены в таблице 4 в виде значений IC_{50} .

Таблица 4. Значения IC_{50} (мкМ) для соединений **231-236**, **220a** и ДХК.

| Соединение | IC_{50}^{HuTu80} | IC_{50}^{HepG2} | IC_{50}^{KB-3-1} |
|-------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| 231 | 10.5±0.7 | 13.3±0.5 | 9.3±0.7 |
| 232 | 12.0±0.3 | 13.7±0.5 | 12.2±0.9 |
| 233 | 16.4±1.6 | 13.7±0.4 | 11.4±0.8 |
| 234 | 12.8±0.9 | 16.1±1.2 | 13.6±0.4 |
| 235 | 29.8±1.3 | 33.1±1.8 | 27.9±2.1 |
| 236 | 31.3±1.1 | 29.7±1.5 | 30.3±0.9 |
| 220a | 6.5±0.5 | 8.1±0.2 | 4.9±0.5 |
| ДХК | 82.9±1.9 | >100 | >100 |

Данные получены сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН. Результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение средней величины из трех независимых экспериментов.

Анализ полученных данных позволяет выделить некоторые зависимости «структура – биологическая активность»:

- 1) Введение в цикл А диметиламино-, диэтиламино- или гидроксиалкиламинометиленовых фрагментов снижает цитотоксическую активность продуктов по сравнению с 2-гидроксиметиленовым предшественником **220a**, но в то же время цитотоксическое действие соединений **231-236** остается выше такового для ДХК. У синтезированных производных отсутствует выраженная селективность действия в отношении опухолевых клеток кишечно-печеночной природы.

- 2) Введение терминальной гидроксильной группы вместо третичной аминогруппы приводит к снижению токсичности конечных соединений (сравните **235** или **236** с **231-234**).
- 3) Длина углеродной цепи во фрагменте диамина или аминоспирта не влияет на цитотоксичность соединений (сравните **231** и **232**; **233** и **234**; **235** и **236**).
- 4) Алкильный заместитель (Me или Et) при третичном атоме азота в диаминовом фрагменте не влияет на цитотоксичность соединений (сравните **231** и **233**; **232** и **234**).

Таким образом, в данной части работы было изучено взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты **213** с метилформиатом в присутствии различных оснований. Подобраны условия позволяющие получать 2-гидроксиметиленовое производное ДХК (**220a**) без примеси второго структурного изомера. Была осуществлена модификация положения 2 остова ДХК различными замещенными аминометиленовыми фрагментами. Синтезировано 6 новых азотсодержащих производных ДХК ранее не описанных в литературе.

В результате исследований антипролиферативной активности *in vitro* полученных соединений было выявлено, что синтезированные соединения обладают более выраженной биологической активностью по сравнению с исходной кислотой, но являются менее токсичными по сравнению с предшественником – метиловым эфиром 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты **220a**. Наиболее активными соединениями оказались производные **231-234**, содержащие различные диаминовые фрагменты в цикле А остова ДХК (значения IC₅₀ для указанных производных варьируются в диапазоне 9–16 мкМ). Следует отметить, что полученные соединения обладают близкими значениями IC₅₀ в отношении как опухолевых клеток кишечно-печеночной природы, так и клеток эпидермоидной карциномы шейки матки.

2.3 Синтез 3-замещенных производных метилового эфира 3-гидрокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты

Известно, что модификация остова или боковой цепи ЖК различными гетероатомсодержащими функциональными группами, в том числе и гетероциклическими фрагментами, может приводить к изменению нативной биологической активности и/или возникновению новой ^{68, 78, 81, 177, 180, 192, 193, 229, 234, 235}, что зачастую связано со способностью гетероатомов участвовать в образовании дополнительных водородных связей с рецепторами ^{79, 81, 87, 177, 229, 234, 235}. Гидрофобный стероидный остов обеспечивает транспорт

вещества через клеточные мембраны, а гетероатомсодержащие фрагменты могут менять как фармакодинамические, так и фармакокинетические параметры исходного соединения^{191, 192}.

Для реализации поставленной цели был выбран подход, заключающийся в формировании эпоксидного цикла и его последующем раскрытии нуклеофилами. Эпоксидный цикл является важной функциональной группой в органическом синтезе, поскольку вследствие своей напряженности обладает высокой реакционной способностью в реакциях с разнообразными нуклеофильными и электрофильными агентами. На основании вышесказанного и результатов, полученных в предыдущей главе, была поставлена цель модифицировать цикл А остова ДХК гетероатомсодержащими функциональными группами: алифатическими или циклическими азотсодержащими, а также различными ароматическими и гетероароматическими функциональными группами.

Анализ литературы показал, что производные ЖК, содержащие в структуре эпоксигруппу, редко встречается в литературе. Как правило, формирование эпоксидного цикла проводится путем селективного окисления двойных связей соответствующих предшественников или реакцией внутримолекулярного S_N^2 замещения в галогенгидриновых фрагментах в присутствии основания. Раскрытие эпоксидного цикла впоследствии позволяет вводить новые функциональные группы в положения 1^{182, 184}, 11¹⁵⁵, 6 и 7^{156, 181} стероидного остова. Другой способ получения эпоксидов заключается во взаимодействии карбонильной группы с метидами диметилсульфония или диметилсульфоксония (реакция Кори-Чайковского)^{236, 237}. Получение эпоксидного цикла (спиросочлененного со стероидным остовом) из карбонильной группы, расположенной в положении 3 остова ЖК, реакцией Кори-Чайковского упоминалось в литературе и иллюстрируется одним примером¹⁶⁷.

Для модификации был выбран метиловый эфир 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты **213** синтезируемый из ДХК в две стадии с общим выходом 94%.

В данной части работы были поставлены следующие задачи:

1. Синтез эпоксипроизводного ДХК путем взаимодействия метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты **213** с различными илидами серы.
2. Синтез библиотеки производных с азотсодержащими функциональными группами на основе полученного эпоксипроизводного реакцией раскрытия эпоксидного цикла различными алифатическими или алициклическими полифункциональными аминами.
3. Синтез библиотеки производных с ароматическими карбоциклическими или гетероциклическими фрагментами на основе полученного эпоксипроизводного реакцией раскрытия эпоксидного цикла серацентрированными нуклеофилами: производными тиофенолов или ароматическими гетероциклами, содержащими SH-группу.

Для синтеза эпоксипроизводных ДХК было изучено взаимодействие соединения **213** с двумя илидами серы. Метилиды диметилсульфония и диметилсульфония различаются по своей реакционной способности и приводят к образованию различных изомеров эпоксидов^{236, 237}. Взаимодействие diketона **213** с 1.5 эквивалентами метилица диметилсульфония (который был получен *in situ* при взаимодействии Me_3SI с гидридом натрия в ДМСО) при 10-12°C привело к образованию двух диастереомеров эпоксипроизводных **237** и **238** в соотношении 1:5 (согласно данным ЯМР ^1H) (Схема 48). Данная реакция осложняется тем, что наряду с образованием эпоксидного цикла протекает частичный гидролиз сложноэфирной группы в боковой цепи. Следует отметить, разделение смеси эпоксипроизводных **237** и **238** является трудоемким и малоэффективным процессом, поэтому использование соединения **238** в дальнейшем синтезе является нецелесообразным.

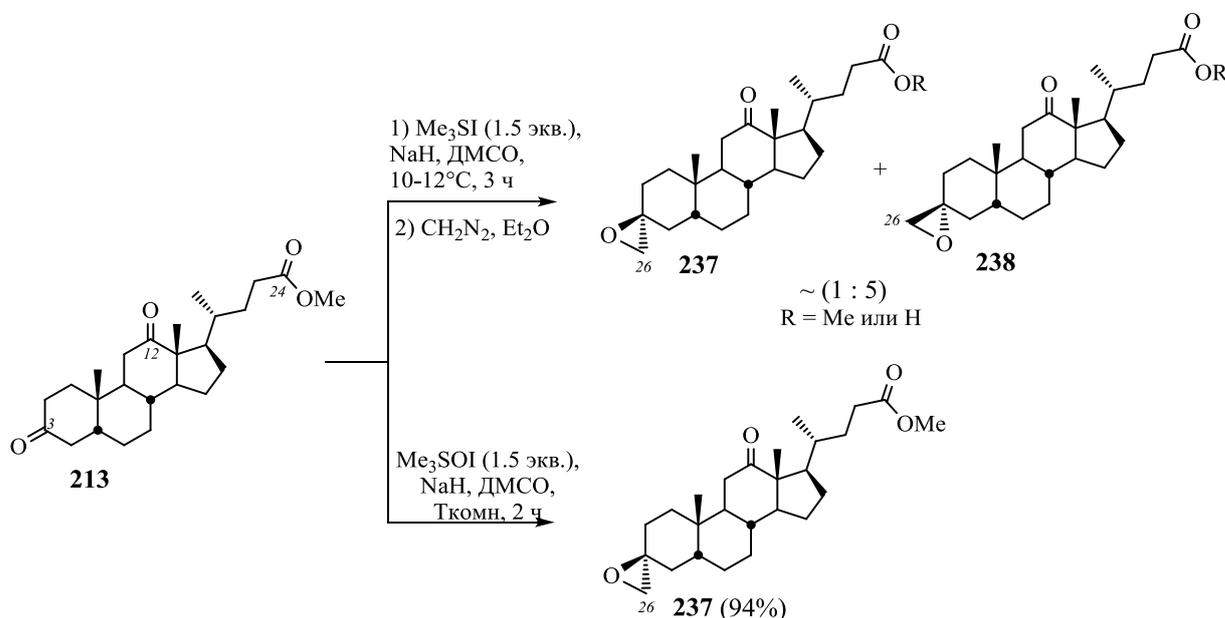


Схема 48

Взаимодействие diketона **213** с 1.5 эквивалентами метилица диметилсульфония (менее активного реагента, чем метилид диметилсульфония), полученного *in situ* реакцией Me_3SOI с гидридом натрия в ДМСО^{236, 237}, привело к образованию единственного стереоизомера эпоксипроизводного **237** с выходом 94% (Схема 48). Данная реакция протекала без образования побочных продуктов, что позволило использовать эпоксид **237** в последующих реакциях без очистки. Продукт **237** получали осаждением из реакционной смеси и сушкой на воздухе, что является очень простой и удобной процедурой, легко применимой в крупномасштабном синтезе.

Структура соединения **237** была подтверждена методами 1D и 2D ЯМР-спектроскопии. Данные ЯМР полученного эпоксипроизводного согласуются с приведенными в литературе для стероидного соединения, содержащего C-3 β -эпоксидный фрагмент¹⁶⁷. Характеристические

сигналы соединения **238** были получены из данных ЯМР ^1H и ^{13}C для очищенной смеси **237** : **238** (в соотношении 1: 5). В спектрах ЯМР для обоих диастереомеров **237** и **238** наблюдаются характерные сигналы эпоксидного цикла. Протоны эпоксидной группы соединения **237** расположены на δ 2.59 и 2.57 м.д. в виде дублетов АВ-системы ($^2J=4.7$ Гц), а для изомера **238** оба протона были эквивалентными и резонировали в виде синглета на δ 2.52 м.д. (ЯМР ^1H). Сигналы эпоксидного углерода (С-26) соединений **237** и **238** находились на δ 52.85 и 55.08 м.д. соответственно; сигналы углерода С-3 находились на δ 58.05 и 59.58 м.д. соответственно (по данным ЯМР ^{13}C).

Последующее раскрытие эпоксидного цикла нуклеофильными агентами позволяет вводить новые функциональные группы в положение 3 с высокой стереоселективностью и в то же время сохранять гидроксильную группу в цикле А стероидного остова. Модификации стероидного остова ЖК с сохранением гидроксильной группы можно осуществить взаимодействием карбонилсодержащих производных ЖК с реактивами Гриньяра, но данная реакция протекает нестереоспецифично и приводит к образованию смеси продуктов с различной ориентацией гидроксильной и алкильной групп. По этой причине реактивы Гриньяра почти никогда не используются для модификации ЖК^{115, 198}. Более того, модификация положения 3 стероидного остова обычно заключается в этерификации или замещении нативной гидроксильной группы или ее окислении до карбонильной и последующих трансформациях карбонильных производных, которые приводят к исчезновению нативной гидроксильной группы и, следовательно, к уменьшению гидрофильности соединения (см. главу 1), что, в свою очередь, может повлечь снижение биодоступности лекарственного агента.

Для последующего изучения зависимости структура – биологическая активность в качестве соединения-референса нами был синтезирован метиловый эфир 3 α -гидрокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты **239**, в положении 3 которого находится только гидроксильная группа. Соединение **239** получали гидролизом 3-ацетокси группы синтезированного ранее соединения **215** гидроксидом калия в метаноле (Схема 49).

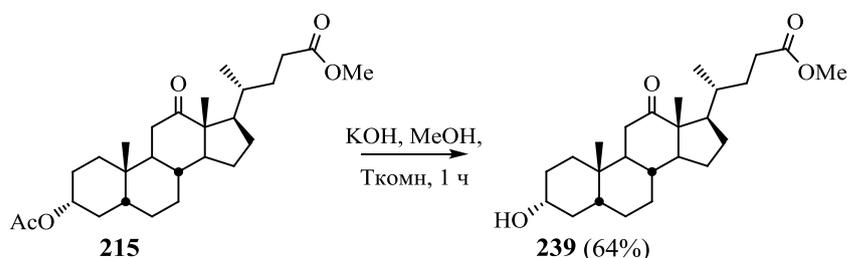


Схема 49

2.3.1 Раскрытие эпоксидного цикла метилового эфира 3-эпокси-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты азотцентрированными нуклеофилами

Для модификации остова ДХК алифатическими азотсодержащими фрагментами были выбраны диамины и аминоспирты, использованные в предыдущей части работы, поскольку была показана перспективность их введения в остов с точки зрения увеличения антипролиферативной активности конечных соединений по сравнению с ДХК. С целью расширить спектр производных ДХК, а также выявить зависимость биологической активности от конформационной подвижности заместителя для модификации остова были выбраны алициклические полифункциональные амины: 1-метилпиперазин, 1-этилпиперазин и морфолин.

Реакции раскрытия эпоксидного цикла нуклеофилами как правило, проводятся в апротонных диполярных растворителях (ДМСО, ДМФА, диоксан), поскольку относятся к S_N^2 типу. Однако в литературе приводятся примеры использования других растворителей, таких как спирты^{167, 238, 239, 240}, что значительно упрощает обработку реакционных смесей. Для подбора условий раскрытия эпоксидного цикла соединения **237** мы проводили реакцию с морфолином. В метаноле при комнатной температуре эпоксидный цикл не раскрывался, что, вероятно, связано с недостаточной нуклеофильностью атома азота морфолина и ограниченной растворимостью эпоксида **237** в указанных условиях. Проведение реакции в метаноле при кипячении в течение 12 часов привело к раскрытию эпоксидного цикла и образованию продукта с выходом 60%. Раскрытие эпоксидных циклов зачастую проводят с использованием в качестве катализаторов различных оснований, таких как NaOH, Cs₂CO₃ и другие^{241, 242}. Использование NaOH в реакции раскрытия эпоксидного цикла соединения **237** может способствовать гидролизу сложноэфирной группы в боковой цепи, а карбонаты щелочных металлов плохо растворимы в метаноле, и реакция происходит на границе поверхностей. В связи с этим для подбора условий раскрытия эпоксидного цикла соединения **237** мы использовали в качестве катализатора органическое основание NEt₃, позволяющее проводить реакцию в гомогенной среде и не приводящее к гидролизу сложноэфирной группы. Взаимодействие соединения **237** с морфолином в метаноле при комнатной температуре и присутствии NEt₃ протекало 12 часов и приводило к образованию продукта **248** с выходом 77% (Схема 50). Комбинирование условий проведения реакции – кипячение в присутствии основания – приводило к полной конверсии исходного эпоксипроизводного за 2 часа и образованию целевого продукта с количественным выходом. Именно эти условия и использовали в дальнейшем при проведении реакции с другими полифункциональными аминами.

Взаимодействие эпоксида **237** с первичными алифатическими диаминами (замещенные этилендиамины или 1,3-пропандиамины), алифатическими аминспиртами или вторичными циклическими диаминами (замещенные пиперазины и морфолин) приводило к раскрытию эпоксидного цикла и образованию единственного продукта соответственно (соединения **240-248**, Схема 50) с выходами от 26% до 78% после очистки колоночной хроматографией.

Анализ данных ЯМР ^1H показал, что для синтезированных производных **240-248** наблюдается смещение характеристического сигнала группы $\text{CH}_2\text{-26}$: для соединений **240**, **241**, **243**, **244** в область слабого поля (δ 2.62–2.70 м.д.), для соединений **242** и **245-248** в область сильного поля (δ 2.20–2.54 м.д.); в спектрах ЯМР ^{13}C наблюдаются смещения сигналов атомов углерода C-3 и C-26: сигналы C-3 для всех соединений смещаются в область слабого поля (δ 69.73–70.58 м.д.), сигналы C-26 для соединений **240**, **241**, **243**, **244** смещаются в область сильного поля (δ 47.77–49.38 м.д.), для соединений **242** и **245-248** в область слабого поля (δ 60.75–69.52 м.д.).

Следует отметить, что карбонильная группа в положении 12 стероидного остова, а также сложноэфирная группа в боковой цепи не реагировали с диаминами и аминспиртами в указанных условиях – образование иминов или амидов не наблюдалось.

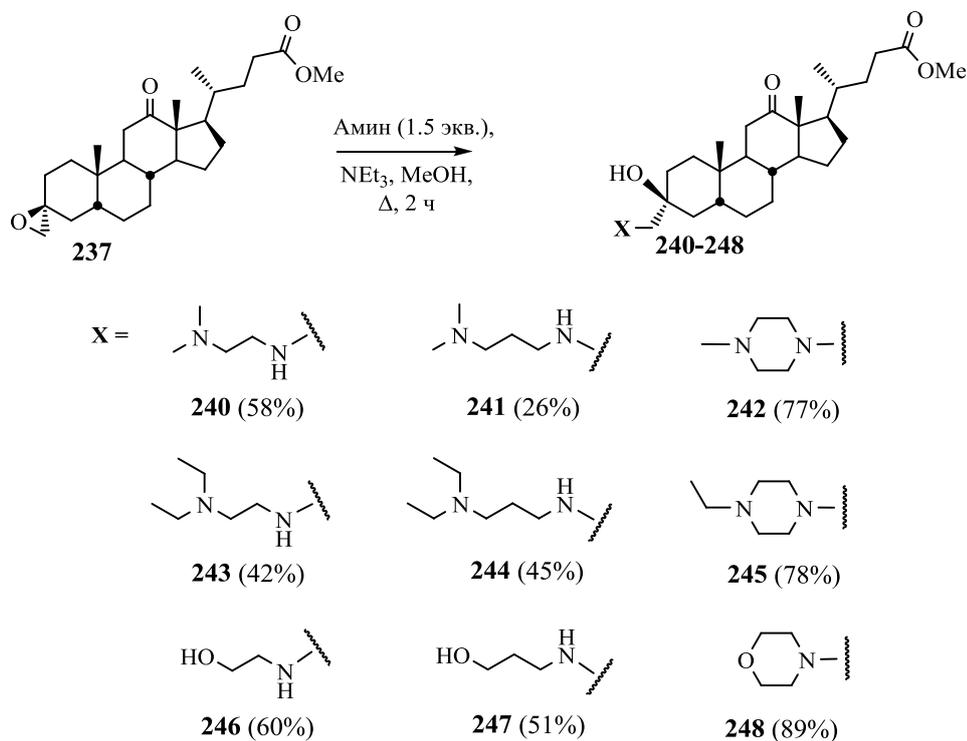


Схема 50

Результаты исследования антипролиферативной активности *in vitro* синтезированных производных **237**, **239-248** представлены в таблице 5 в виде значений IC_{50} . Анализ полученных данных позволяет выделить некоторые зависимости «структура – биологическая активность» для производных ДХК:

Таблица 5. Значения IC_{50} (мкМ) и SI для соединений **237**, **239-247**, комплекса **241-ZnCl₂** и ДХК.

| Соединение | IC_{50}^{HuTu80} | SI^{HuTu80} | IC_{50}^{HepG2} | SI^{HepG2} | IC_{50}^{KB-3-1} | SI^{KB-3-1} | IC_{50}^{A549} | SI^{A549} | IC_{50}^{hFF-3} |
|-----------------------------|--------------------|---------------|-------------------|--------------|--------------------|---------------|------------------|-------------|-------------------|
| 240 | 7.1±0.6 | 3.6 | 8.0±0.9 | 3.2 | 26.2±0.8 | 1.0 | 36.1±0.7 | 0.7 | 25.4±2.2 |
| 241 | 3.0±0.4 | 2.2 | 4.0±0.2 | 1.6 | 5.9±0.5 | 1.1 | 6.8±0.1 | 1.0 | 6.5±0.47 |
| 242 | 4.6±0.2 | 6.9 | 3.6±0.7 | 9.0 | 23.5±1.7 | 1.4 | 21.6±2.5 | 1.5 | 32.5±1.4 |
| 243 | 3.3±0.1 | 2.2 | 4.3±0.3 | 1.7 | 21.6±3.4 | 0.3 | 25.5±0.8 | 0.3 | 7.4±1.0 |
| 244 | 1.0±0.6 | 6.3 | 3.7±0.2 | 1.7 | 6.7±0.6 | 0.9 | 6.8±0.3 | 0.9 | 6.3±0.4 |
| 245 | 8.4±1.2 | 2.1 | 3.9±0.3 | 4.5 | 28.6±0.5 | 0.6 | 23.5±3.0 | 0.7 | 17.4±1.6 |
| 246 | 4.44±0.34 | 7.8 | 5.8±1.3 | 6.0 | 17.74±2.8 | 2.0 | 29.56±2.47 | 1.2 | 34.8±1 |
| 247 | 4±0.5 | 8.3 | 7.26±0.55 | 4.6 | 22.8±1.78 | 1.5 | 28.98±3.5 | 1.1 | 33.3±1.2 |
| 248 | 9.9±0.3 | 5.1 | 7.5±1.24 | 6.7 | 8.4±0.47 | 6.0 | >50 | - | >50 |
| 241-ZnCl₂ | 5.3±0.5 | - | 4.6±0.3 | - | 5.0±0.1 | - | - | - | - |
| 237 | 17.0±1.6 | 3.2 | 43.5±1.9 | 1.2 | 27.9±2.5 | 1.9 | - | - | 53.9±3.3 |
| 239 | >100 | 1 | 39.5±0.1 | >3.9 | >100 | - | - | - | >100 |
| ДХК | 82.9±1.9 | >1.2 | >100 | - | >100 | - | - | - | >100 |

Данные получены сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН.

Результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение средней величины из трех независимых экспериментов.

Индекс селективности (SI) рассчитывался как отношение IC_{50}^{hFF-3} к IC_{50}^{HuTu80} , IC_{50}^{HepG2} , IC_{50}^{KB-3-1} и IC_{50}^{A549} соответственно.

- 1) Введение в положение 3 остова ДХК алифатического или циклического фрагмента полифункционального амина увеличивает цитотоксическое действие полученных соединений по сравнению с исходной кислотой, эпоксипроизводным **237** и соединением **239**.
- 2) Удлинение углеродной цепи в фрагменте диамина приводит к увеличению цитотоксического действия в отношении всех использованных клеточных линий и значительно уменьшает селективность в отношении клеток кишечно-печеночной природы (сравните **240** и **241**; **243** и **244**); удлинение углеродной цепи во фрагменте аминокспирта заметно не влияет на цитотоксичность соединений (сравните **246** и **247**)
- 3) Замена метильных групп на этильные при терминальном атоме азота алифатического диаминового фрагмента приводит к увеличению антипролиферативной активности производных. Эта закономерность более выражена для соединений **240** и **243**, содержащих этилендиаминовые фрагменты, в то время как для производных **241** и **244**, содержащих 1,3-диаминпропановый фрагмент, цитотоксичность увеличилась только в отношении клеточной линии NuTu-80. Замена метильного заместителя на этильный в пиперазиновом фрагменте приводит к одновременному снижению токсичности в отношении опухолевых клеточных линий и увеличению цитотоксичности в отношении нормальных клеток hFF-3 (сравните **242** and **245**).
- 4) Замена терминальной диметиламиногруппы на гидроксильную в производном, содержащем этилендиаминовый фрагмент приводит к увеличению токсичности в отношении опухолевых клеток и снижению токсичности в отношении неопухолевых клеток фибробластов hFF-3 (сравните **240** и **246**). Замена терминальной диэтиламиногруппы на гидроксильную в производном, содержащем этилендиаминовый фрагмент приводит к снижению токсичности в отношении всех клеточных линий, кроме KB-3-1. Для последней токсичность увеличивается в 1.2 раза (сравните **243** и **246**). Замена терминальной аминогруппы на гидроксильную в производных, содержащих 1,3-диаминопропановый фрагмент приводит к снижению токсичности в отношении всех опухолевых и нормальных клеточных линий (сравните **241** и **247**; **244** и **247**). Замена терминальной аминогруппы на кислород в производных, содержащих циклический фрагмент полифункционального амина, приводит к снижению токсичности в отношении всех клеточных линий кроме KB-3-1. Для последней токсичность увеличивается в 2.8 раза (сравните **242** и **248**) и в 3.4 раза (сравните **245** и **248**).
- 5) Введение циклического фрагмента полифункционального амина приводит к значительному снижению токсичности в отношении нормальных клеток hFF-3 (сравните **240** и **242**; **243** и **245**; **246** и **248**), что может быть связано с уменьшением их

конформационной подвижности. Примечательно, что в случае соединений **240** и **242**, содержащих метильный заместитель в диаминовом фрагменте, наличие дополнительного углеводородного мостика между двумя аминогруппами заметно повышает цитотоксичность в отношении всех исследованных опухолевых клеток, в то время как для этилсодержащих производных **243** и **245**, такая корреляция не наблюдалась, для производных **246** и **248** с кислородсодержащими заместителями при С-3 наблюдается снижение токсичности в отношении всех клеточных линий кроме KB-3-1, для последней токсичность увеличилась в 2.1 раза.

- б) Для неопухолевой клеточной линии фибробластов hFF-3 наименее токсичными производными оказались соединения, содержащие циклические фрагменты полифункциональных аминов, фрагменты аминспиртов или *N,N*-диметилэтилендиаминовый фрагмент. Удлинение углеводородной цепочки или этильные заместители в алифатических диаминовых фрагментах приводят к значительному увеличению цитотоксичности.

Синтезированные производные ДХК могут найти свое применение не только в качестве биологически активных соединений, но и в качестве лигандов в синтезе комплексных соединений. Так сотрудниками лаборатории металл-органических координационных полимеров ИХ СО РАН из соединения **241** был синтезирован комплекс **241-ZnCl₂**, в котором цинк координирует атомы азота диаминового фрагмента. Структура комплекса была подтверждена рентгеноструктурным анализом и приведена на рисунке 25 (РСА выполнили сотрудники лаборатории кристаллохимии ИХ СО РАН).

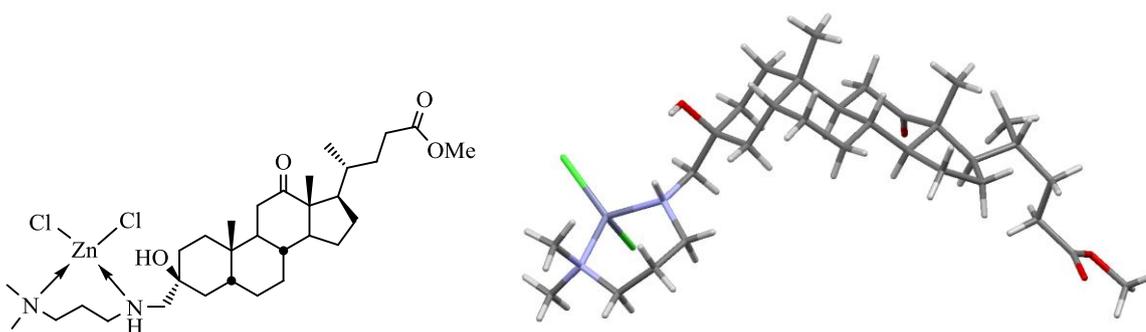


Рисунок 25. Структура комплекса **241-ZnCl₂**

Цитотоксичность комплекса исследовали в отношении клеточных линий HuTu-80, HepG2 и KB-3-1, данные представлены в виде значений IC₅₀ в таблице 5. Как видно из приведенных данных, комплексообразование соединения **241** с ZnCl₂ не приводит к значительному изменению токсичности полученного комплекса (сравните **241** и **241-ZnCl₂**). Токсичность в отношении клеточных линий HuTu-80 и HepG2 уменьшается в 1.8 и 1.2 раза соответственно, а в отношении клеточной линии KB-3-1 возрастает в 1.2 раза.

Сравнительный анализ данных таблицы 4 и таблицы 5 для соединений **231-236** и **240-241, 243-244, 246-247**, содержащих алифатические диаминовые заместители или фрагменты аминоспиртов, показал, что введение данных заместителей в положение 3 стероидного остова, является более предпочтительным, чем в положение 2, с точки зрения увеличения антипролиферативной активности конечных соединений. Токсичность всех указанных соединений в отношении опухолевых клеточных линий NuTu-80, HepG2 и KB-3-1 возросла (сравните **240** и **231**, **241** и **232**, **243** и **233**, **244** и **234**, **246** и **235**, **247** и **236**), за исключением токсичности соединений (**240** и **243**) с этилендиаминовым фрагментом в отношении линии KB-3-1, для них токсичность уменьшилась в 2.8 и 1.9 раза (сравните **240** и **231**, **243** и **233**).

Таким образом, в данной части работы была проведена модификация ДХК по положению 3 алифатическими и циклическими полифункциональными аминами и исследована антипролиферативная активность синтезированных продуктов.

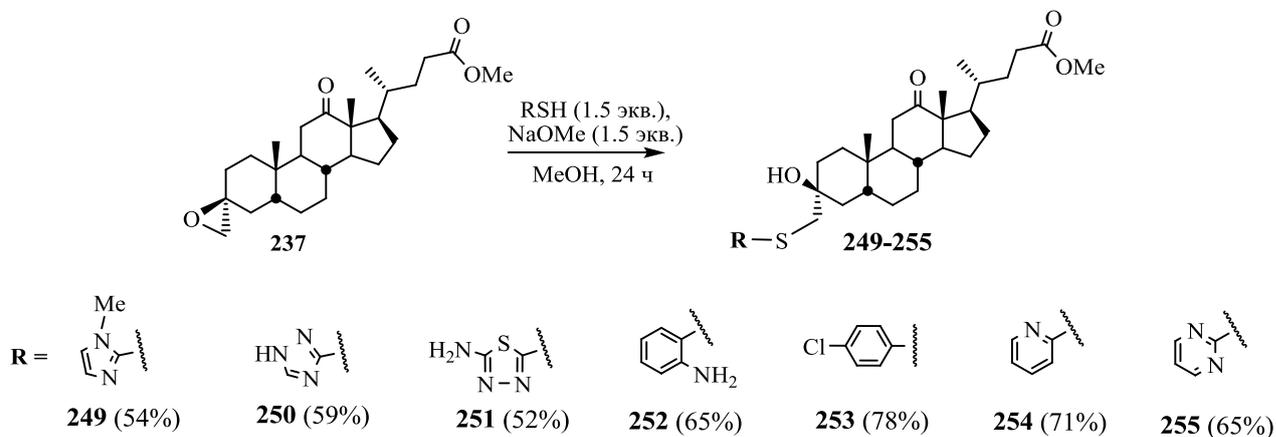
2.3.2 Раскрытие эпоксидного цикла метилового эфира 3-эпокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты серацентрированными нуклеофилами

В литературе посвященной химическим трансформациям ЖК можно найти ограниченное количество примеров синтеза их серосодержащих производных. Как правило, модификация затрагивает гидроксильные группы стероидного остова или боковой цепи, с образованием сложных эфиров серной кислоты (введение групп OSO₃H или OSO₃Na)^{43, 44, 100, 144}. Синтез соединений, содержащих связь C-S, встречаются гораздо реже и представлен несколькими примерами: создание гетероциклического стероидного остова, введением атома серы вместо метиленовой группы в положении 3¹³⁰ или 12¹⁶⁶; введение алкил- и арилсульфанильных групп в положение 11¹⁵⁵; формирование терминальной сульфанильной группы в боковой цепи^{99, 243}. Но биологическая активность этих соединений либо изучалась мало, либо не изучалась вовсе. Поэтому синтез и изучение биологической активности производных ЖК, содержащих ароматические карбо- или гетероциклические фрагменты, а также серосодержащие функциональные группы представляет особый интерес.

В целях расширения круга производных ДХК мы провели модификацию цикла А соединения **237** ароматическими карбо- или гетероциклическими фрагментами путем раскрытия эпоксидного цикла серацентрированными нуклеофилами. Для осуществления указанных превращений в качестве S-нуклеофилов были выбраны пяти- и шестичленные гетероциклы, содержащие сульфанильную группу, и несколько производных тиофенолов.

Взаимодействие полученного ранее эпоксипроизводного **237** с тиолами проводили в метаноле при комнатной температуре в присутствии метилата натрия. Метилат натрия

использовался для формирования тиолят-анионов – более нуклеофильных агентов по сравнению с тиолами. Другие основания не применялись во избежание побочных реакций, например, гидролиза сложноэфирной группы в боковой цепи молекулы. Данная реакция приводит к образованию единственного продукта в каждом случае (**249-255**, Схема 51). Соединения **249-255** были выделены колоночной хроматографией с выходами 52–78%.



Предложенная методика хорошо зарекомендовала себя в случае всех использованных S-нуклеофилов. Более того наличие дополнительной нуклеофильной группы, например NH₂, в используемых тиолах (2-аминотиофенол, 5-амино-1,3,4-тиадиазол-2-тиол) не препятствует селективному раскрытию эпоксидного цикла S-нуклеофилом, и в результате реакции образуется только один продукт (соединения **251** и **252**). Также значительными преимуществами данной реакции является отсутствие побочных продуктов и легкость стадии очистки конечного соединения, сопровождающаяся довольно высокими выходами, что позволяет синтезировать целевые соединения в больших масштабах.

Результаты исследования антипролиферативной активности и противовоспалительной активности (на способности ингибировать продукцию оксида азота (II) индуцибельной NO-синтазой) *in vitro* синтезированных производных **237**, **239**, **249-255** представлены в таблице 6 в виде значений IC₅₀. Анализ полученных данных позволяет выделить некоторые зависимости «структура – биологическая активность»:

- 1) Введение фрагментов замещенных тиофенолов (2-аминофенилсульфанильный и 4-хлорфенилсульфанильный) в положение 3 остова ДХК не приводит к увеличению цитотоксичности конечных соединений по сравнению с ДХК, эпоксипроизводным **237** и соединением **239**, содержащим в положении 3 только гидроксильную группу. Соединения **252** и **253** оказались нетоксичными в отношении всех исследованных клеточных линий.
- 2) Введение гетарилсульфанильных фрагментов в положение 3 остова ДХК приводит к увеличению цитотоксического действия в отношении опухолевых клеточных линий

Таблица 6. Значения IC_{50} (мкМ) и SI для соединений **237, 239, 249–255** и ДХК.

| Соединение | IC_{50}^{HuTu80} | SI^{HuTu80} | IC_{50}^{HepG2} | SI^{HepG2} | IC_{50}^{MH-22} | SI^{MH-22} | IC_{50}^{KB-3-1} | SI^{KB-3-1} | IC_{50}^{hFF-3} | $IC_{50}^{RAW264.7}$ | IC_{50}^{NO} |
|------------|--------------------|---------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|--------------------|---------------|-------------------|----------------------|----------------|
| 249 | 13.0±2.8 | >7.7 | 86.7±9.0 | >1.1 | >100 | - | 34.9±5.0 | >2.9 | >100 | >100 | 66.0±5.8 |
| 250 | 2.6±0.1 | >38.5 | >100 | - | >100 | - | 11.3±2.3 | >8.8 | >100 | >100 | 24.1±1.4 |
| 251 | >20 | - | >20 | - | >20 | - | >20 | - | >20 | >20 | 10.3±0.4 |
| 252 | 29.3±6.4 | >3.4 | >100 | - | >100 | - | >100 | - | >100 | >100 | 17.2±0.9 |
| 253 | >100 | - | >100 | - | >100 | - | >100 | - | >100 | >100 | 65.0±3.2 |
| 254 | 25.6±4.4 | >3.9 | 60.8±5.0 | >1.6 | >100 | - | >100 | - | >100 | >100 | 62.1±1.7 |
| 255 | 8.3±1.3 | >12.0 | 39.5±0.1 | >2.5 | 89.3±16.4 | >1.1 | 15.5±4.1 | >6.5 | >100 | >100 | >100 |
| 237 | 17.0±1.6 | 3.2 | 43.5±1.9 | 1.2 | 68.8±6.6 | >1.5 | 27.9±2.5 | 1.9 | 53.9±3.3 | >100 | 16.4±0.9 |
| 239 | >100 | - | 25.7±3.6 | >3.9 | >100 | - | >100 | - | >100 | >100 | 50.9±5.9 |
| ДХК | 82.9±1.9 | >1.2 | >100 | - | 51.8±0.6 | >1.9 | >100 | - | >100 | >100 | 83.6±1.6 |

Данные получены сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН.

Результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение средней величины из трех независимых экспериментов.

Индекс селективности (SI) рассчитывался как отношение IC_{50}^{hFF-3} к IC_{50}^{HuTu80} , IC_{50}^{HepG2} , IC_{50}^{MH-22} и IC_{50}^{KB} соответственно.

IC_{50}^{NO} определяли как концентрацию соединения, обеспечивающую 50%-ное снижение образования NO в макрофагах RAW264.7, стимулированных интерфероном гамма (IFN γ).

человека по сравнению с ДХК, эпоксипроизводным **237** и соединением **239**, содержащим в положении 3 только гидроксильную группу. Однако наблюдается селективность действия синтезированных производных: они не проявляют токсическое действие в отношении неопухолевых клеточных линий RAW264.7 и hFF3, а также в отношении мышинной опухолевой линии клеток МН-22а, и проявляют умеренную токсичность в отношении печеночной опухолевой линии клеток HepG2. Клеточная линия HuTu-80 является самой чувствительной к действию полученных соединений.

- 3) Введение арил- или гетарилсульфанильных фрагментов, кроме пиримидинсульфанильного, приводит к увеличению противовоспалительной активности (способности ингибировать продукцию оксида азота (II) индуцибельной NO-синтазой) по сравнению с ДХК.

Сравнение индексов селективности синтезированных производных позволило выделить три наиболее активных соединения (проявляющих более высокую антипролиферативную активность): **249**, **250** и **255**, содержащих 1-метилимидазолсульфанильный, 1,2,4-триазолсульфанильный и пиримидинил-сульфанильный фрагменты, соответственно. Соединение **251** обладает низкой растворимостью в условиях эксперимента, поэтому получить данные по его антипролиферативной активности не удалось. Наиболее высокую противовоспалительную активность проявили соединения **250–252**, а также эпоксипроизводное **237**. Интересно отметить, что наличие пиримидинсульфанильного фрагмента способствует увеличению антипролиферативной активности в отношении опухолевых клеток, но не влияет на ингибирование продукции NO (см. данные для соединения **255**).

В лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН была исследована противовоспалительная активность *in vivo* соединений **237**, **239** и **249–255** на моделях гистаминового и формалинового отека мышинной лапы.

В ходе эксперимента на модели гистаминового отека заметный противовоспалительный эффект в дозе 50 мг/кг проявили только соединения **249** и **254**, содержащие 1-метилимидазолсульфанильный и пиридинилсульфанильный фрагмент, соответственно (уровень воспаления составил 65.3 и 73.7% по сравнению с контрольной группой) (Рисунок 26). Было показано, что активность производных **249** и **254**, сопоставима с активностью диклофенака натрия, известного противовоспалительного лекарственного средства (уровень воспаления 62.5% по сравнению с контролем). При уменьшении дозы до 25 мг/кг соединения **249** и **254** не проявили противовоспалительную активность на данной модели (данные не приведены).

При исследовании противовоспалительной активности на модели формалинового воспаления было обнаружено, что в дозе 50 мг/кг эпоксипроизводное **237** и соединения **249**, **254**

и **255**, содержащие 1-метилимидазолилсульфанильный, пиридинилсульфанильный и пиримидинилсульфанильный фрагменты, соответственно, заметно снижают воспалительный отек. Уровень воспаления составил 62.8, 77.2, 71.2 и 70.2% соответственно по сравнению с контрольной группой. Следует отметить, что уровень противовоспалительной активности указанных соединений был аналогичен уровню активности диклофенака натрия (уровень воспаления 72.5% по сравнению с контрольной группой) (Рисунок 26).

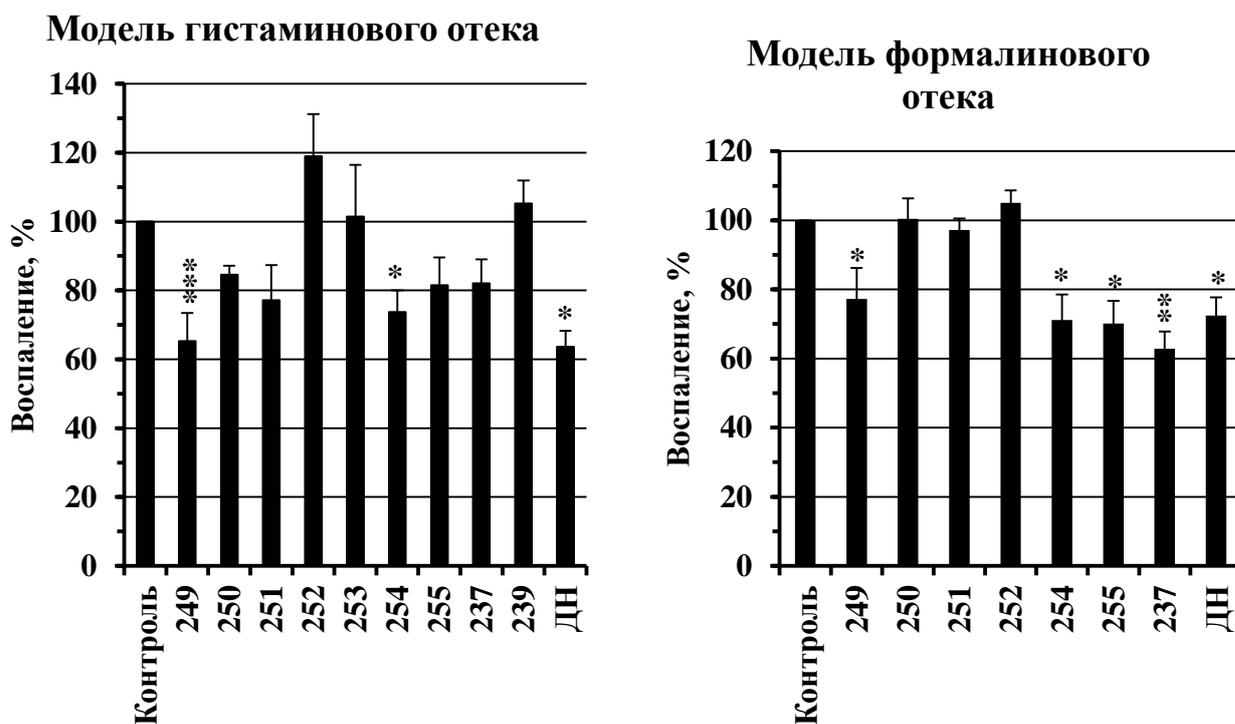


Рисунок 26. Противовоспалительная активность *in vivo* соединений **237**, **239** и **249–255**. Данные получены сотрудниками лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН. Анализируемые соединения вводили перорально в дозе 50 мг/кг. В качестве контрольного препарата использовали диклофенак натрия (ДН) (20 мг/кг). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

Следует отметить, что нам не удалось выявить корреляцию между способностью синтезированных соединений к подавлению продукции NO *in vitro* с их противовоспалительным потенциалом *in vivo*. Синтезированные производные можно разделить на две группы: первая группа (соединения **250-251**) проявляет ингибирующую активность в отношении синтеза NO (Таблица 6), вторая группа (соединения **249**, **254** и **255**) проявляет противовоспалительную активность *in vivo* без какого-либо влияния на синтез NO (Рисунок 26).

Таким образом, в данной части работы было синтезировано 18 новых ранее не описанных в литературе соединений. Изучены реакции взаимодействия метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с метилидом диметилсульфония и метилидом диметилсульфоксония. Подобраны условия для селективного синтеза одного изомера

эпоксипроизводного (метиловый эфир С-3 β -эпокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты). Раскрытием эпоксидного цикла азот- и серацентрированными нуклеофилами синтезирован ряд новых производных ДХК модифицированных по положению 3 различными алифатическими и циклическими полифункциональными аминами, а также арил- и гетарилсульфанильными фрагментами.

Исследование биологической активности (антипролиферативной, противовоспалительной) позволило выявить закономерности структура–свойство и соединения-лидеры в каждой группе производных (242, 244, 246-248 и 249, 250, 254, 255). Показано, что модификация остова ДХК азотсодержащими группами является более предпочтительной, чем арил- или гетарилсульфанильными фрагментами, с точки зрения увеличения антипролиферативной активности.

2.4 Синтез гетероциклических производных дезоксихолевой кислоты

Данная часть работы посвящена модификации боковой цепи ДХК. Целью является синтез новых производных трансформацией нативной карбоксильной группы ДХК в гетероциклические фрагменты и последующее изучение биологической активности полученных соединений.

Карбоксильная группа играет важную роль в биохимии живых систем также как и в разработке лекарственных препаратов. Карбоксильная группа, зачастую, является важной составляющей фармакофорного фрагмента: кислотность в сочетании с возможностью образовывать относительно сильные электростатические взаимодействия и водородные связи, является причиной того, что карбоксильная группа часто является определяющей во взаимодействии «лекарственный агент – цель». Однако наличие карбоксильной группы в препарате или потенциальном лекарственном агенте нередко имеет свои недостатки: характерная токсичность препаратов, возникающая в результате метаболизма карбоксильной группы, снижение способности к пассивной диффузии через биологические мембраны. Чтобы избежать некоторых недостатков и в то же время сохранить полезные свойства карбоксильного фрагмента, используют (био)изостеры карбоновых кислот. Важным классом биоизостеров карбоновых кислот и их производных (сложные эфиры, амиды) являются пятичленные гетероциклы, в частности 1,2,4- и 1,3,4-оксадиазолы. Соединения, содержащие в своей структуре фрагмент оксадиазола, обладают различными биологическими свойствами, в том числе противовоспалительной, анальгетической, антимикробной, антипролиферативной, антидиабетической, противоаллергической, противоопухолевой и многими другими активностями, что, по всей вероятности, связано со способностью последних образовывать

различные связи с рецепторами^{244, 245, 246}. В литературе практически отсутствуют примеры модификации карбоксильной группы желчных кислот в оксадиазолы²⁴⁷.

В рамках означенной цели была поставлена задача синтезировать ряд производных ДХК трансформацией карбоксильной группы ДХК в 3-замещенные 1,2,4-оксадиазольные фрагменты.

Ключевыми реагентами необходимыми для синтеза целевых соединений являются *N'*-гидрокси(алкил/арил)имидамы, которые первоначально взаимодействуют с активированной карбоксильной группой ДХК с образованием соответствующих интермедиатов (имидамидов карбоновых кислот). На следующей стадии под воздействием циклизующего агента образуются целевые гетероциклические производные.

Первоначально был синтезирован ряд *N'*-гидрокси(алкил/арил)имидамидов **257a-e**, в соответствии с известными литературными методиками^{248, 249}. Синтез осуществлялся взаимодействием ароматических и алифатических нитрилов различного строения (соединения **256a-e**) с гидроксиламином в спирте (Схема 52). Выделение и очистка продуктов осуществлялась перколяцией на силикагеле или оксиде алюминия, и последующей перекристаллизацией твердых веществ.

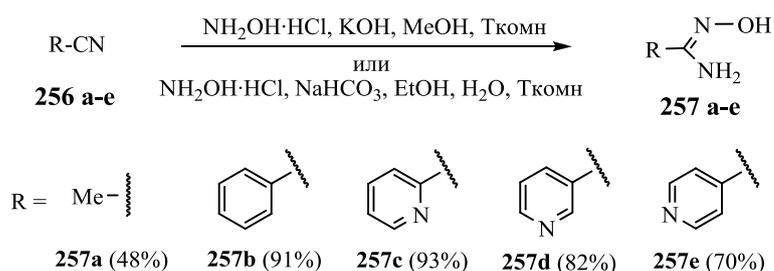


Схема 52

Согласно литературным данным, активация карбоксильной группы может проводиться различными реагентами: *N*-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолином, карбодиимидами, *N*-гидроксиисукцинимидом, карбонилдиимидазолом и др. Из всего множества существующих реагентов, нами был выбран карбонилдиимидазол (CDI), поскольку образующиеся в ходе реакции продукты его разложения, не затрудняют дальнейший процесс выделения и очистки целевых соединений. Первоначально была проведена реакция ДХК с CDI и *N'*-гидроксиимидами **257a** и **257b**, но в результате образовалась сложная смесь трудно идентифицируемых продуктов, что, по всей видимости, связано с полифункциональностью ДХК, а именно наличием свободных гидроксильных групп в стероидном остове. В связи с этим далее указанные превращения проводились с 3,12-диацетоксипроизводным ДХК (ацетокси-группы выступают защитными группами).

Ацилирование ДХК уксусным ангидридом или ацилхлоридом по известным литературным методикам^{79, 250} сопровождалось образованием неидентифицированного

побочного продукта, обладающего схожим фактором удерживания с целевым диацетатом. Очистка 3,12-диацетоксипроизводного ДХК колоночной хроматографией была малоэффективной и трудоемкой и не приводила к отделению индивидуального продукта от примеси. Использование диацетата в дальнейшем синтезе без предварительной очистки также осложняло стадию выделения целевых продуктов, и указанную примесь не удавалось отделить от конечных продуктов. Поэтому далее мы подобрали условия реакции ацилирования ДХК уксусной кислотой. Кипячение ДХК в уксусной кислоте в течение нескольких суток (образовавшуюся в ходе реакции воду удаляли азеотропной перегонкой с бензолом с использованием насадки Дина-Старка) и последующее взаимодействие с уксусным ангидридом привело к образованию диацетата **258** (Схема 53). Использование диацелированного производного ДХК в качестве стартового соединения позволило в дальнейшем синтезировать интермедиаты и целевые продукты в индивидуальном виде и выделять их на каждой стадии с достаточно высокими выходами.

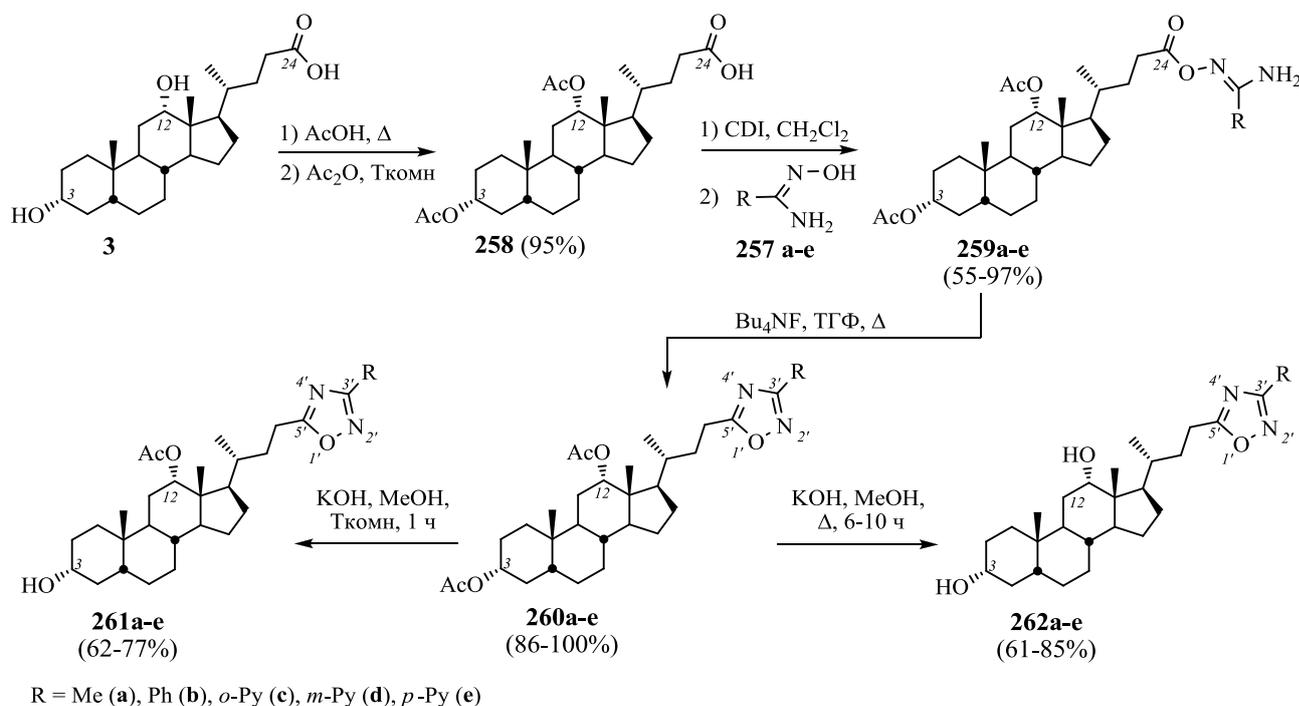


Схема 53

Активация карбоксильной группы диацетата **258** карбонилдиимидазолом и последующее взаимодействие с *N'*-гидроксиимидами **257a-e** приводили к образованию соответствующих имидамидов **259a-e** с выходами 89, 82, 97, 55 и 58% соответственно. В спектрах ЯМР ^{13}C об образовании соединений **259a-e** свидетельствует смещение характеристического сигнала C-24 в область сильного поля: для соединения **258** $\delta_{\text{C}} \sim 180$ м.д., для продуктов **259a-e** $\delta_{\text{C}} \sim 171$ м.д. В спектрах ЯМР ^1H наблюдается исчезновение сигналов N–OH-группы исходных *N'*-гидроксиимидамидов и C(O)OH диацетата **258**. 1,2,4-Оксадиазольные производные **260a-e** получали циклизацией промежуточных производных **259a-e** в присутствии фторида

тетрабутиламмония, эффективного катализатора для получения 1,2,4-оксадиазолов²⁵¹, при кипячении в ТГФ. По данным спектров ЯМР ¹H об образовании 1,2,4-оксадиазольного цикла свидетельствует исчезновение сигналов NH₂-группы имидамидов и смещение в слабое поле сигналов групп CH₂-23: для соединения **259a** δ_H 2.38 и 2.23 м.д., для соединений **259b-e** δ_H ~2.5 и ~2.4 м.д., для соединения **260a** δ_H 2.83 и 2.68 м.д., для соединений **259b-e** δ_H ~2.9 и ~2.8 м.д. В спектрах ЯМР ¹³C наблюдается смещение в слабое поле сигналов C-5' (для соединений **259a-e** δ_C ~171 м.д. (C-24), для **260a-e** δ_C ~180 м.д.) и C-3' (для соединений **259a-e** δ_C ~153-156 м.д., для **260a-e** δ_C ~166-168 м.д.).

Различная реакционная способность гидроксильных групп стероидного остова позволила в дальнейшем осуществить полный гидролиз обеих 3- и 12-ацетоксигрупп (получение нативного остова ДХК) или же селективно гидролизовать только 3-ацетоксигруппу. Удаление ацетильной защиты с 3-ОН-группы проводили в условиях щелочного гидролиза при комнатной температуре за 1 час (соединения **261a-e**), для полного гидролиза обеих ацетоксигрупп реакционную смесь кипятили от 6 до 10 часов (соединения **262a-e**) (Схема 53).

Используемые в предложенном синтезе реагенты являются дешевыми и доступными, все реакции протекают с образованием единственного продукта, что позволяет избежать стадии хроматографического разделения продуктов реакции. Все реакции легко масштабируются. Структуры новых соединений были подтверждены методами ЯМР ¹H, ¹³C и масс-спектрометрией высокого разрешения.

Результаты исследования антипролиферативной активности *in vitro* синтезированных производных **259a,b,d** – **262a,b,d** представлены в таблице 7 в виде значений IC₅₀. Анализ полученных данных позволяет выделить некоторые зависимости «структура – биологическая активность».

- 1) Модификация нативной карбоксильной группы в боковой цепи ДХК в 3-замещенные 1,2,4-оксадиазолы приводит к увеличению токсичности синтезированных производных по сравнению с исходной кислотой (для соединений со всеми типами остова: 3,12-диацетокси-, 3-гидрокси-12-ацетокси, 3,12-дигидрокси-5 β -холанов).
- 2) При увеличении гидрофильности стероидного остова (переходе от 3,12-диацетокси-5 β -холана к 3,12-дигидрокси-5 β -холану) для производных, содержащих метильную группу в оксадиазольном цикле, наблюдается снижение токсичности в отношении клеток НуТи-80 и повышение токсичности в отношении клеток НерG2 и KB-3-1 (сравните **260a-262a**); для производных с фенильным заместителем токсичность увеличивается в отношении всех исследованных клеточных линий (сравните **260b-262b**). Для производных, содержащих *мета*-пиридинильный заместитель, схожей корреляции не наблюдается,

среди соединений **260d-262d**, наиболее токсичным является **261d** в отношении клеток HepG2 и KB-3-1.

- 3) Нециклические интермедиаты **259a,b,d** проявили селективность действия по отношению к клеткам кишечно-печеночной природы HuTu-80 и HepG2 и проявили большую токсичность, чем в отношении клеток KB-3-1.

Таблица 7. Значения IC_{50} (мкМ) для соединений **259a,b,d – 262a,b,d** и ДХК.

| Соединение | IC_{50}^{HuTu80} | IC_{50}^{HepG2} | IC_{50}^{KB-3-1} |
|-------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| 259a | 4.91±0.31 | 6.65±0.59 | 33.82±0.34 |
| 259b | 19.84±0.64 | >20 | >20 |
| 259d | 10.9±1.1 | 6.7±0.9 | 21.9±1.2 |
| 260a | 11.9±2.2 | >50 | 21.8±2.9 |
| 260b | >50 | >50 | >50 |
| 260d | >50 | >50 | >50 |
| 261a | 22.3±1.8 | 14.3±0.3 | 13.9±0.3 |
| 261b | >20 | >20 | >20 |
| 261d | 39.9±2.9 | 8.4±0.2 | 5.9±0.3 |
| 262a | 31.2±1.0 | 12.3±0.7 | 13.9±0.2 |
| 262b | 2.43±0.04 | 5.03±0.58 | 6.89±0.15 |
| 262d | >50 | >50 | >50 |
| ДХК | 82.9±1.9 | >100 | >100 |

Данные получены сотрудниками лаборатории биохимии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН. Результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение средней величины из трех независимых экспериментов.

Таким образом, в данной части работы был предложен и успешно реализован подход к синтезу 1,2,4-оксадиазольных производных ДХК, содержащих метильный, фенильный или пиридинильный заместитель в гетероциклическом фрагменте, синтезировано 20 новых ранее не описанных в литературе соединений. Использование в качестве стартового соединения 3,12-диацетоксипроизводного ДХК и последующий полный или частичный гидролиз ацетокси-групп позволил получить целевые соединения на трех типах стероидного остова и выявить закономерности структура – активность в зависимости от гидрофобности стероидного остова. В результате исследований антипролиферативной активности *in vitro* полученных соединений были выделены наиболее активные соединения **261d** и **262b**, содержащие мета-пиридинильный и фенильный заместители в гетероциклическом фрагменте соответственно.

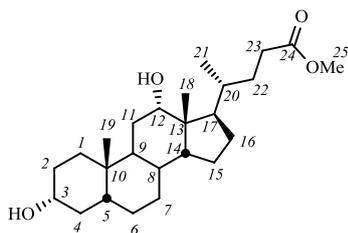
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектральные и аналитические измерения проводились в Химическом сервисном центре коллективного пользования СО РАН. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали на спектрометрах Bruker AV-300 (рабочая частота на ядрах ^1H – 300.13 МГц, на ядрах ^{13}C – 75.47 МГц), AV-400 (рабочая частота на ядрах ^1H – 400.13 МГц, на ядрах ^{13}C – 100.61 МГц), DRX-500 (рабочая частота на ядрах ^1H – 500.13 МГц, на ядрах ^{13}C – 125.76 МГц), AV-600 (рабочая частота на ядрах ^1H – 600.30 МГц, на ядрах ^{13}C – 150.95 МГц). В качестве внутреннего стандарта использовали сигналы хлороформа (δ_{H} 7.24, δ_{C} 76.90 м.д.), ДМСО (δ_{H} 2.50, δ_{C} 39.52 м.д.), CD_3OD (δ_{H} 3.31, δ_{C} 49.00 м.д.). Химические сдвиги сигналов (δ) приведены в миллионных долях (м.д.), а значения констант взаимодействия (J) в герцах (Гц). Строение полученных соединений устанавливали на основе анализа спектров ЯМР ^1H и ^{13}C с привлечением спектров двойного резонанса ^1H - ^1H , двумерных спектров гомоядерной ^1H - ^1H корреляции (^1H - ^1H COSY) и двумерных спектров гетероядерной ^{13}C - ^1H корреляции на прямых (C–H COSY, $^1J_{\text{C,H}} = 160$ Гц) и дальних константах спин-спинового взаимодействия (COLOC, $^{2,3}J_{\text{C,H}} = 10$ Гц). Для соединений **231-236**, **258**, **259c-e**, **260a-e**, **261b-e**, **262b-e** в спектрах ^1H ЯМР указаны химические сдвиги только характеристических сигналов, поскольку остов молекулы в ходе реакции сохраняется. Температуры плавления определяли на микронагревательном столике Кофлера (производство ГДР) или приборе METTLER TOLEDO FP900 и не корректировали. Элементный состав определяли на приборе EURO EA3000 с автоматическим CHNS-анализатором. Данные элементного состава, обозначенные символами элементов, находились в пределах $\pm 0,4\%$ от теоретических значений. Точные значения масс молекулярных ионов определены на масс-спектрометре высокого разрешения с двойной фокусировкой «DFS» (Double Focusing Sector Mass Spectrometer, DFS High Resolution GC/MS) Thermo Scientific. Оптические вращения измерялись с помощью поляриметра PolAArg 3005. Удельное вращение выражено в (град·мл) \times (г·дм) $^{-1}$, концентрация раствора (г) \times (100мл) $^{-1}$. ВЭЖХ анализ осуществляли на приборе Milichrom A-02 (Эконова, Россия), используя в качестве сорбента – ProntoSIL-120-5-C18 AQ (размер частиц 5 μm , колонка 2.0 \times 75 мм). Подвижная фаза: очищенная вода Millipore с 0.1% трифторуксусной кислоты, скорость потока 150 мкл/мин при температуре 35 $^\circ\text{C}$ с УФ-детектированием на пяти длинах волн (210, 220, 240, 260, 280 нм). Стандартное время процесса 25 мин с линейным градиентом метанола от 0 до 100%. Чистота соединений для биологических испытаний подтверждена ВЭЖХ анализом и составляла $\geq 98\%$. Ход реакций и чистоту полученных продуктов контролировали методом ТСХ на пластинах Merck Silica gel 60 F₂₅₄ с использованием хлороформа и систем: хлороформ–метанол, хлороформ–этилацетат в различных соотношениях. Разделение и выделение продуктов реакции проводили колоночной

хроматографией на силикагеле (Merck, 60-200 mesh, или 60-200 мкм, Masherey-Nagel GmbH & Co. KG) или на щелочном оксиде алюминия (Chemapol, LSL₂₅₄ 4-40 mesh). Все растворители, используемые в реакциях и хроматографическом разделении, предварительно перегоняли и сушили в соответствии с ранее описанными процедурами²⁵². В работе использовалась дезоксихолевая кислота фирмы abcr GmbH & Co. KG, 99% чистоты, Тпл. = 174–176°C. Реакции с использованием микроволнового излучения проводили в приборе AntonPaar Monowave 300, мощность 850Вт.

Метилловый эфир 3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холан-24-овой кислоты (86)

К раствору ДХК (20.0 г, 51.0 ммоль) в MeOH (100 мл) при 0°C порциями добавили раствор CH₂N₂ в Et₂O* при перемешивании до окрашивания реакционной смеси в ярко-желтый цвет (избыток диазометана). После полного разложения диазометана (реакционная смесь стала бесцветным прозрачным раствором) растворитель удалили на роторном испарителе. Соединение **86** (20.7 г, количественный выход) в виде белого твердого вещества использовали в следующей реакции без очистки. Аналитически чистый образец был получен перекристаллизацией из MeOH.



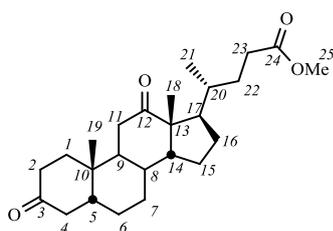
Тпл 58.6°C [разложение; лит.²⁵³ 58.0–60.0°C (MeOH)]. HRMS: m/z вычислено для C₂₅H₄₂O₄⁺ 406.3078; найдено 406.3084. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.92 (дд, 1H, $J_1 \sim J_2 \sim 3$, H-12), 3.60 (с, 3H, CH₃-25), 3.53 (дддд, 1H, $J_{3a,2a} = J_{3a,4a} = 11.1$, $J_{3a,2e} = J_{3a,4e} = 4.6$, H-3a(β)), 2.31 (ддд, 1H, $^2J = 15.8$, $J_{23,22} = 9.8$, $J_{23,22'} = 5.3$, H-23), 2.17 (ддд, 1H, $^2J = 15.8$, $J_{23',22} = 9.2$, $J_{23',22} = 6.8$, H-23'), 2.09 (ш.с, 2H, OH-3, OH-12), 1.90-1.44 (м: 13H, [1.80]–H-16, [1.78]–H-6, [1.76]–H-9, [1.74]–H-22, 1.74 (ддд, 1H, $^2J = J_{4a,5} = 13.0$, $J_{4a,3a} = 11.1$, H-4a(α)), 1.67 (ддд, 1H, $^2J = 15.5$, $J_{1e,2a} = J_{1e,2e} = 3.6$, H-1e(α)), 1.66 (ддд, 1H, $J_{17,20} = J_{17,16a} = J_{17,16e} = 9.6$, H-17), 1.60 (дм, 1H, $^2J = 12.6$, H-2e(β)), [1.53]–H-15, [1.51]–H-14, [1.46]–H-4, [1.45]–H-11, [1.45]–H-11), 1.44–1.18 (м: 8H, 1.35 (дддд, 1H, $^2J = J_{2a,3a} = J_{2a,1a} = 12.6$, $J_{2a,1e} = 3.6$, H-2a(α)), [1.35]–H-7, [1.35]–H-8, [1.33]–H-5, [1.32]–H-20, [1.28]–H-22, [1.20]–H-16, [1.20]–H-6), 1.08 (дддд, 1H, $J_{7a,6a} = 14.0$, $^2J = 13.7$, $J_{7a,8} = 12.8$, $J_{7a,6e} = 4.0$, H-7a(α)), [1.00]–H-15, 0.90 (ддд, 1H, $^2J = 15.5$, $J_{1a,2a} = 12.6$, $J_{1a,2e} = 3.4$, H-1a(β)), 0.90 (д, 3H, $J_{21,20} = 6.4$, CH₃-21), 0.84 (с, 3H, CH₃-19), 0.61 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 174.59 (с, C-24), 72.90 (д, C-12), 71.43 (д, C-3), 51.30 (к, C-25), 47.95 (д, C-14), 46.98 (д, C-17), 46.28 (с, C-13), 41.90 (д, C-5), 36.14 (т, C-4), 35.81 (д, C-8), 35.10 (т, C-1), 35.07 (д, C-20), 33.92 (с, C-10), 33.35

* К охлажденной смеси 300 мл диэтилового эфира и раствора KOH 35 г в 35 мл H₂O при аккуратном перемешивании прибавили порциями 15 г нитрозометилмочевины. Перемешивали до окрашивания эфирного слоя в ярко-желтый цвет, органическую фазу декантировали и осушили прибавлением твердого KOH.

(д, С-9), 30.96 (т, С-23), 30.71 (т, С-22), 30.12 (т, С-2), 28.40 (т, С-11), 27.34 (т, С-16), 26.97 (т, С-6), 25.95 (т, С-7), 23.52 (т, С-15), 22.92 (к, С-19), 17.03 (к, С-21), 12.50 (к, С-18).

Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (213)

Метилловый эфир ДХК **86** (2.0 г, 5.0 ммоль) окислили реагентом Джонса (6 мл) в ацетоне (130 мл) по методике, описанной для соединения **215**. После очистки колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–50% AcOEt в CH₂Cl₂), получили продукт **213** (1.9 г, выход 94%) в виде белого твердого вещества. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH.

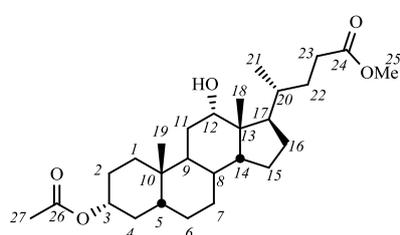


Тпл 126.8–129.2°C [лит.²⁵³ 133.7–135.9°C (*n*-гексан–CH₂Cl₂)]. HRMS: *m/z* вычислено для C₂₅H₃₈O₄⁺ 402.2765; найдено 402.2760. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 2.57 (дд, 1H, ²*J*=*J*_{11a,9a}=12.5, H-11a), 2.54 (дд, 1H, ²*J*=15.0, *J*_{4a,5a}=13.3, H-4a), 2.35 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23,22}=9.8, *J*_{23,22}=5.3, H-23), 2.30 (ддд, 1H, ²*J*=*J*_{2a,1a}=14.7, *J*_{2a,1e}=5.2, H-2a), 2.22 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23',22'}=9.2, *J*_{23',22'}=6.8, H-23'), 2.13 (дддд, 1H, ²*J*=14.7, *J*_{2e,1a}=4.3, *J*_{2e,1e}=3.2, *J*_{2e,4e}=2.3, H-2e), 2.06 (дд, 1H, ²*J*=12.5, *J*_{11e,9a}=4.2, H-11e), 2.30-1.96 (м: 2H, [2.01]–H-17; 1.99 (ддд, 1H, ²*J*=15.0, *J*_{4e,5a}=4.5, *J*_{4e,2e}=2.3, H-4e)), 1.96-1.75 (м: 7H, [1.91]–H-16; [1.89]–H-6'; [1.88]–H-9; [1.87]–H-5; 1.86 (ддд, 1H, ²*J*=14.5, *J*_{1e,2a}=5.2, *J*_{1e,2e}=3.2, H-1e); [1.86]–H-8; 1.80 (дддд, 1H, ²*J*=13.5, *J*_{22,23}=9.8, *J*_{22,23}=6.8, *J*_{22,20}=2.7, H-22)), 1.72 (м, 1H, H-15), 1.57 (дм, 1H, ²*J*=13.6, H-7e), 1.45-1.18 (м: 7H, 1.41 (ддд, 1H, *J*_{1a,2a}=14.7, ²*J*=14.5, *J*_{1a,2e}=4.3, H-1a); [1.39]–H-14; [1.35]–H-22'; [1.30]–H-15'; [1.32]–H-16'; [1.29]–H-6; [1.26]–H-20), 1.10 (м, 1H, H-7a), 1.07 (с, 3H, CH₃-19), 1.02 (с, 3H, CH₃-18), 0.82 (д, 3H, *J*_{21,20}=6.6, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 213.84 (с, С-12), 211.78 (с, С-3), 174.41 (с, С-24), 51.29 (к, С-25), 58.38 (д, С-14), 57.42 (с, С-13), 46.39 (д, С-17), 44.13 (д, С-9), 43.56 (д, С-5), 41.97 (т, С-4), 38.21 (т, С-11), 36.75 (т, С-2), 36.65 (т, С-1), 35.45 (с, С-10), 35.45 (д, С-20), 35.30 (д, С-8), 31.14 (т, С-23), 30.35 (т, С-22), 27.32 (т, С-16), 26.45 (т, С-6), 25.32 (т, С-7), 24.15 (т, С-15), 21.98 (к, С-19), 18.44 (к, С-21), 11.57 (к, С-18).

Метилловый эфир 3 α -ацетокси-12 α -гидрокси-5 β -холан-24-овой кислоты (214)

К раствору соединения **86** (9.7 г, 23.8 ммоль) в пиридине (100 мл) по каплям при интенсивном перемешивании добавили Ac₂O (6 мл, 0.06 ммоль); реакционную смесь перемешивали 4 часа при комнатной температуре (ход реакции контролировали с помощью ТСХ, CHCl₃ : AcOEt = 20 : 3) затем добавили насыщенный водный раствор NaCl (80 мл). Далее разбавили AcOEt (30 мл) и добавили 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH 4–5. Органический слой отделили, водный слой экстрагировали AcOEt. Объединенный органический слой промыли 5%-ным водным раствором HCl, насыщенными водными

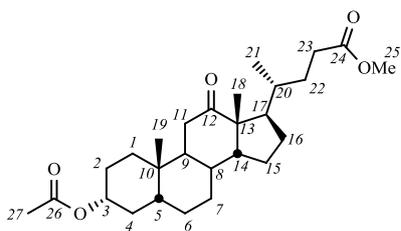
растворами NaHCO_3 и NaCl , сушили над безводным MgSO_4 и удалили растворитель на роторном испарителе. Полученный продукт очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–50% AcOEt в CH_2Cl_2), выделили соединение **214** (7.7 г, выход 72%) в виде белого твердого вещества. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH .



Тпл 111.1–113.0°C [лит.¹⁵ 104.2–107.7°C (AcOEt)]. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_5^+$ 448.3183; найдено 448.3176. ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 4.68 (dddd, 1H, $J_{3a,2a}=J_{3a,4a}=11.4$, $J_{3a,2e}=J_{3a,4e}=4.7$, H-3a(β)), 3.96 (шт.т., 1H, $J_1\sim J_2\sim 3$, H-12), 3.64 (с, 3H, CH_3 -25), 2.34 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.21 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 1.99 (с, 3H, CH_3 -27), 1.90–1.70 (м: 6H, [1.84]–H-16, [1.83]–H-4, [1.82]–H-6, [1.80]–H-9, [1.79]–H-22, 1.74 (ддд, 1H, $^2J=14.3$, $J_{1e,2a}=J_{1e,2e}=3.4$, H-1e(α))), 1.70–1.18 (м: 15H, [1.67]–H-17, [1.67]–H-2, [1.60]–H-15, [1.67]–H-17, [1.54]–H-14, [1.53]–H-4, [1.67]–H-17, [1.49]–H-11, [1.49]–H-11, [1.45]–H-5, [1.43]–H-2, [1.41]–H-8, [1.40]–H-7, [1.39]–H-20, [1.34]–H-22, [1.25]–H-16, [1.24]–H-6), 1.14–0.96 (м: 3H, [1.09]–H-7, [1.06]–H-15, 1.01 (ддд, 1H, $^2J=J_{1a,2a}=14.3$, $J_{1a,2e}=3.5$, H-1a(β)), 0.95 (д, 3H, $J_{21,20}=6.4$, CH_3 -21), 0.89 (с, 3H, CH_3 -19), 0.65 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 174.52 (с, C-24), 170.54 (с, C-26), 74.14 (д, C-3), 73.01 (д, C-12), 51.35 (к, C-25), 48.19 (д, C-14), 47.27 (д, C-17), 46.40 (с, C-13), 41.75 (д, C-5), 35.88 (д, C-8), 34.95 (д, C-20), 34.77 (т, C-1), 34.01 (с, C-10), 33.55 (д, C-9), 32.06 (т, C-4), 30.95 (т, C-23), 30.08 (т, C-22), 28.60 (т, C-11), 27.31 (т, C-16), 26.84 (т, C-6), 26.39 (т, C-2), 25.90 (т, C-7), 23.84 (т, C-15), 22.99 (к, C-19), 21.31 (к, C-27), 17.22 (к, C-21), 12.62 (к, C-18).

Метилловый эфир 3 α -ацетокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (215)

Реагент Джонса (4.5 мл), полученный из $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в водной H_2SO_4 , по каплям добавили к раствору соединения **214** (3.5 г, 7.8 ммоль) в ацетоне (100 мл) при интенсивном перемешивании в течение 30 мин при 0°C. Реакционную смесь перемешивали 1.5 часа при комнатной температуре (ход реакции контролировали с помощью ТСХ, CHCl_3 : AcOEt = 20 : 3), затем добавили EtOH (50 мл) для разложения остатков реагента Джонса. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении ($V \sim 50$ мл) и разбавили H_2O (300 мл) до выпадения осадка. Твердое вещество отфильтровали и высушили на воздухе, очистили колоночной



хроматографией (SiO_2 , градиент 0–50% AcOEt в CH_2Cl_2). Получили соединение **215** (3.1 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH .

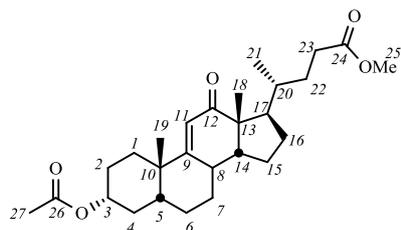
Тпл 143.7–148.4°C [лит.^{15,15} 142.2–144.4°C (n -гексан – AcOEt)]. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5^+$ 446.3027; найдено 446.3022. ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 4.61

(дддд, 1H, $J_{3a,2a}=J_{3a,4a}=11.4$, $J_{3a,2e}=J_{3a,4e}=4.6$, H-3), 3.58 (с, 3H, CH₃-25), 2.54 (дд, 1H, $J_{11a,9}=12.8$, $^2J=12.2$, H-11a(β)), 2.31 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22}=5.3$, H-23), 2.18 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 1.96 (дд, 1H, $^2J=12.2$, $J_{11e,9}=4.4$, H-11e(α)), 1.95 (ддд, 1H, $J_{17,20}=J_{17,16a}=J_{17,16e}=9.7$, H-17), 1.93 (с, 3H, CH₃-27), 1.90-1.68 (м: 5H, [1.86]–H-16, 1.81 (дддд, 1H, $^2J=J_{6a,7a}=14.0$, $J_{6a,7e}=J_{6a,5}=4.5$, H-6a(β)), 1.78 (ддд, 1H, $J_{9,11a}=12.8$, $J_{9,8}=11.5$, $J_{9,11e}=4.4$, H-9), [1.74]–H-22, [1.73]–H-8), 1.68-1.57 (м: 4H, [1.64]–H-15, [1.63]–H-4, [1.62]–H-2, [1.61]–H-1), 1.52-1.42 (м: 3H, [1.48]–H-4, [1.46]–H-5, [1.44]–H-7), 1.39-1.14 (м: 7H, [1.33]–H-2, [1.30]–H-22, [1.29]–H-14, [1.26]–H-15, [1.25]–H-16, [1.23]–H-6, [1.20]–H-20), 1.07-0.96 (м: 2H, [1.02]–H-7, [1.01]–H-1), 0.94 (с, 3H, CH₃-19), 0.94(с, 3H, CH₃-18), 0.77 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 214.35 (с, C-12), 174.34 (с, C-24), 170.32 (с, C-26), 73.45 (д, C-3), 58.39 (д, C-14), 57.25 (с, C-13), 51.19 (к, C-25), 46.21 (д, C-17), 43.78 (д, C-9), 41.10 (д, C-5), 37.83 (т, C-11), 35.40 (д, C-8), 35.36 (д, C-20), 35.10 (с, C-10), 34.69 (т, C-1), 31.88 (т, C-4), 31.03 (т, C-23), 30.26 (т, C-22), 27.27 (т, C-16), 26.69 (т, C-6), 26.10 (т, C-2), 25.76 (т, C-7), 24.08 (т, C-15), 22.50 (к, C-19), 21.13 (к, C-27), 18.33 (к, C-21), 11.43 (к, C-18).

Метилловый эфир 3α-ацетокси-12-оксо-5β-хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (216)

Общая методика окисления метилового эфира 3α-ацетокси-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (215) оксидом селена (IV).

1) К раствору соединения **215** (3.0 г, 6.8 ммоль) в ледяной AcOH (150 мл) добавили SeO₂ (4.5 г, 40.6 ммоль, 6 экв.). Кипятили реакционную смесь 24 часа, затем охладили до комнатной температуры и разбавили AcOEt; образовавшийся в ходе реакции селен удалили фильтрованием. Фильтрат промыли насыщенным водным раствором NaHCO₃ до достижения значения pH 7–8, и экстрагировали AcOEt. Затем к органическому слою прибавили H₂O₂ (3 мл, 30%), перемешивали до изменения цвета органической фазы с темно-коричневого до бледно-оранжевого. Органическую фазу промыли насыщенным водным раствором NaCl, сушили над безводным MgSO₄ и удалили растворитель на ротормном испарителе. Продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, CHCl₃), получили соединение **216** (2.3 г, выход 75%) в виде бледно-желтого твердого вещества. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из смеси *n*-гексан – Et₂O.



Тпл 148.8–149.4°C [лит.¹⁵ 141–142°C (*n*-гексан – AcOEt)]. HRMS: *m/z* вычислено для C₂₇H₄₀O₅⁺ 444.2870; найдено 444.2869. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 5.66 (д, 1H, $J_{11,8}=2.3$, H-11), 4.68, (дддд, 1H, $J_{3a,2a}=J_{3a,4a}=11.3$, $J_{3a,2e}=J_{3a,4e}=4.5$, H-3), 3.61 (с, 3H, CH₃-25), 2.45-2.15 (м: 3H, 2.35 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22}=5.3$, H-23), [2.33]–H-8, 2.23 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23')), 2.11-1.97 (м: 2H, [2.04]–H-1,

[2.04]–H-6), 1.95 (с, 3H, CH₃-27), 1.92-1.17 (м: 18H, [1.91]–H-16, [1.82]–H-22, [1.82]–H-17, [1.75]–H-2, [1.75]–H-15, [1.71]–H-7, [1.68]–H-14, 1.64 (д, 1H, $J_{5a,4a}$ =13.0, H-5), [1.53]–H-4, [1.52]–H-2, [1.41]–H-16, [1.40]–H-20, [1.36]–H-6, [1.35]–H-22, [1.34]–H-15, [1.32]–H-4, [1.29]–H-1, [1.20]–H-7), 1.15 (с, 3H, CH₃-19), 0.97 (д, 3H, $J_{21,20}$ =6.6, CH₃-21), 0.86 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 204.90 (с, C-12), 174.50 (с, C-24), 170.42 (с, C-26), 163.81 (с, C-9), 123.52 (д, C-11), 73.61 (д, C-3), 53.34 (д, C-14), 52.89 (с, C-13), 51.28 (к, C-25), 47.11 (д, C-17), 41.66 (д, C-5), 39.78 (с, C-10), 37.66 (д, C-8), 35.12 (д, C-20), 34.88 (т, C-1), 33.85 (т, C-4), 31.31 (т, C-23), 30.47 (т, C-22), 29.58 (к, C-19), 27.21 (т, C-16), 26.36 (т, C-7), 27.49 (т, C-2), 26.02 (т, C-6), 24.04 (т, C-15), 21.18 (к, C-27), 19.30 (к, C-21), 10.55 (к, C-18).

2) К раствору соединения **215** (1.00 г, 2.24 ммоль) в ледяной AcOH (50 мл) добавили SeO₂ (0.75 г, 6.75 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь кипятили 48 часов, далее обработали как описано выше в подпункте 1). Степень конверсии определяли по спектрам ¹H ЯМР.

*Общая методика окисления метилового эфира 3 α -ацетокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (**215**) оксидом селена (IV) с использованием микроволнового излучения.*

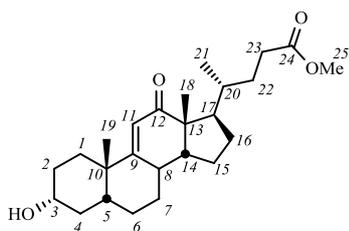
3) В виалку прибора (10 мл) поместили 2 мл ледяной AcOH и рассчитанные количества оксида селена (IV) (0.50–0.15 г, 0.44–1.35 ммоль, 2-6 экв.) и соединения **215** (0.10 г, 0.22 ммоль). Реакции проводили в микроволновом реакторе в установленных условиях (время: 0.5, 1, 2, 4 часа; температура: 120, 150, 180°C). После завершения реакции, реакционную смесь охладили до комнатной температуры, разбавили AcOEt и промыли насыщенным водным раствором NaHCO₃ до достижения значени pH 7–8, после чего экстрагировали AcOEt. Затем к органическому слою прибавили H₂O₂ (3 мл, 30%), перемешивали до изменения цвета органической фазы с темно-коричневого до бледно-оранжевого. Органическую фазу промыли насыщенным водным раствором NaCl, сушили над безводным MgSO₄, растворитель удалили на роторном испарителе. Соотношение исходного соединения **215** и продукта **216** в реакционной смеси определяли с помощью спектров ¹H ЯМР. Результаты реакции и соотношение реагентов приведены в таблице 1.

4) К раствору соединения **215** (3.1 г, 7.0 ммоль) в ледяной AcOH (15 мл) добавили SeO₂ (2.3 г, 20.7 ммоль, 3 экв.). Реакцию проводили в микроволновом реакторе в виалке (30 мл) при 180°C в течение 30 минут. Затем реакционную смесь обработали как описано выше в подпункте 1). Продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, CHCl₃), получили соединение **216** (2.3 г, выход 76%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Метилловый эфир 3 α -гидрокси-12-оксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (217**)**

Раствор KOH (4.0 г, 71 ммоль) в MeOH (30 мл) добавили к раствору соединения **216** (3.0 г, 6.8 ммоль) в MeOH (20 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали

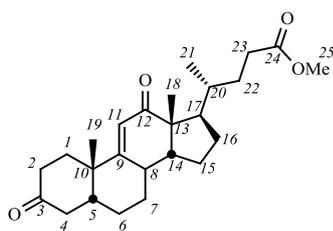
1.5 часа (ход реакции контролировали с помощью ТСХ CHCl_3 : AcOEt = 20 : 3). Растворитель удалили на роторном испарителе; твердый остаток растворили в AcOEt (30 мл) и добавили 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH \sim 3–4. После экстракции AcOEt объединенную органическую фазу сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель удалили на роторном испарителе, получили соединение **217** (2.6 г, выход 95%) в виде белого твердого вещества. Продукт использовали в следующей реакции без дальнейшей очистки. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH .



Тпл 118°C [разложение; лит.²⁵⁴ $115\text{--}116^\circ\text{C}$ (петролейный эфир)]. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_4^+$ 402.2765; найдено 402.2757. ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 5.67 (д, 1H, $J_{11,8}=2.3$, H-11), 3.63 (с, 3H, CH_3 -25), 3.61 (дддд, 1H, $J_{3a,2a}=J_{3a,4a}=11.0$, $J_{3a,2e}=J_{3a,4e}=4.3$, H-3), 2.40–2.30 (м: 2H, 2.37 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.33 (дддд, 1H, $J_{8,7a}=12.4$, $J_{8,14}=9.7$, $J_{8,7e}=5.9$, $J_{8,11}=2.3$, H-8)), 2.24 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.08–1.98 (м: 2H, 2.04 (дддд, 1H, $^2J=J_{6a,7a}=14.2$, $J_{6a,7e}=J_{6a,5}=4.4$, H-6a(β)), 2.03 (дм, 1H, $^2J=14.2$, H-1e(β)), 1.92 (м, H-16), 1.86–1.64 (м: 6H, 1.83 (ддд, 1H, $J_{17,20}=J_{17,16a}=J_{17,16e}=9.7$, H-17), [1.82]–H-22, [1.78]–H-2, [1.75]–H-15, [1.71]–H-7, 1.69 (ддд, 1H, $J_{14,15a}=11.7$, $J_{14,8}=9.7$, $J_{14,15e}=7.3$, H-14)), 1.59 (дм 1H, $J_{5,4a}=12.3$), 1.52 (дм, 1H, $^2J=12.3$, H-4e(β)), 1.48–1.19 (м: 9H, [1.43]–H-2, [1.41]–H-16, [1.40]–H-20, [1.37]–H-6, [1.34]–H-15, [1.33]–H-22, [1.26]–H-1, [1.25]–H-4, [1.24]–H-7), 1.15 (с, 3H, CH_3 -19), 0.98 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH_3 -21), 0.87 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 205.04 (с, C-12), 174.61 (с, C-24), 164.29 (с, C-9), 123.49 (д, C-11), 71.37 (д, C-3), 53.34 (д, C-14), 52.89 (с, C-13), 51.33 (к, C-25), 47.12 (д, C-17), 41.87 (д, C-5), 39.82 (с, C-10), 37.94 (т, C-4), 37.75 (д, C-8), 35.16 (д, C-20), 35.26 (т, C-1), 31.64 (т, C-2), 31.36 (т, C-23), 30.50 (т, C-22), 29.67 (к, C-19), 27.25 (т, C-16), 26.46 (т, C-7), 26.22 (т, C-6), 24.08 (т, C-15), 19.34 (к, C-21), 10.62 (к, C-18).

Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (**218**)

Соединение **217** (2.6 г, 6.4 ммоль) окислили реагентом Джонса (3.2 мл) в ацетоне (200 мл) по методике, описанной для соединения **215**, получили продукт **218** (2.5 г, выход 96%). Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH .



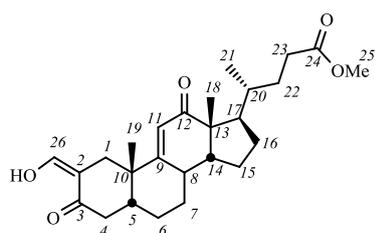
Тпл 126.9°C [разложение; лит.²²⁴ $129.5\text{--}130.5^\circ\text{C}$ (петролейный эфир – Et_2O)]. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_4^+$ 400.2608; найдено 400.2604. ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 5.78 (д, 1H, $J_{11,8}=2.3$, H-11), 3.61 (с, 3H, CH_3 -25), 2.48 (ддд, 1H, $^2J=J_{2a,1a}=14.5$, $J_{2a,1e}=5.8$, H-2a), 2.40 (дддд, 1H, $J_{8,7a}=12.7$, $J_{8,7}=9.7$, $J_{8e,7e}=4.8$, $J_{8,11}=2.3$, H-8), 2.34 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.27 (ддд, 1H, $^2J=14.5$, $J_{1e,2a}=5.8$, $J_{1e,2e}=2.2$, H-1e), 2.24 (дд, 1H,

$^2J=J_{4a,5}=15.7$, H-4a), 2.23 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.17 (дддд, 1H, $^2J=14.5$, $J_{2e,1a}=4.5$, $J_{2e,1e}=J_{2e,4e}=2.2$, H-2e), 2.07 (дддд, 1H, $^2J=J_{6a,7a}=14.1$, $J_{6a,7e}=J_{6a,5}=4.2$, H-6a), 2.1-1.88 (м: 3H, [1.97]-H-5; [1.95]-H-4; [1.92]-H-16), 1.88-1.67 (м: 5H, [1.83]-H-17; [1.81]-H-22; [1.79]-H-7, [1.77]-H-15; [1.72]-H-14), 1.61 (ддд, 1H, $^2J=J_{1a,2a}=14.5$, $J_{1a,2e}=4.5$, H-1a), 1.5-1.15 (м: 6H, [1.42]-H-16; [1.41]-H-20; [1.36]-H-6; [1.33]-H-15; [1.31]-H-22, [1.25]-H-7), 1.23 (с, 3H, CH₃-19), 0.96 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21), 0.90 (с, 3H, CH₃-18). ^{13}C ЯМР (CDCl₃): $\delta = 211.28$ (с, C-3), 204.50 (с, C-12), 174.38 (с, C-24), 162.46 (с, C-9), 123.20 (д, C-11), 53.35 (д, C-14), 53.08 (с, C-13), 51.23 (к, C-25), 47.13 (д, C-17), 44.20 (д, C-5), 43.49 (т, C-4), 39.87 (с, C-10), 37.77 (т, C-2), 37.47 (д, C-8), 36.81 (т, C-1), 35.08 (д, C-20), 31.27 (т, C-23), 30.43 (т, C-22), 28.99 (к, C-19), 27.16 (т, C-16), 25.93 (т, C-7), 25.77 (т, C-6), 24.00 (т, C-15), 19.26 (к, C-21), 10.46 (к, C-18).

Взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (218) с метилформиатом

К раствору кетона **218** (2.0 г, 5.0 ммоль) и HCOOMe (1.3 мл, 20 ммоль) в сухом бензоле (25 мл) при перемешивании прибавили порциями NaOMe (1.1 г, 20 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 3 часа при комнатной температуре, затем разбавили Et₂O (20 мл) и добавили 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH 4–5. Органический слой отделили, водную фазу экстрагировали AcOEt. Объединенную органическую фазу промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃ и NaCl, затем сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе, получили аморфное твердое вещество (2.0 г, 91%). Согласно данным ^1H ЯМР, реакционная смесь содержала продукты **219a:219b** в соотношении 10:1. Полученный сырой продукт использовали для следующей реакции без очистки. Индивидуальные изомеры **219a** (0.070 г, выход 66%); **219b** (0.005 г, выход 4.7%); смесь **219a,b** (10 мг, 9.4%) выделили колоночной хроматографией образца реакционной смеси (0.106 г) (SiO₂, градиент 5-30% AcOEt в *n*-гексане). Аналитически чистый образец **219b** получили перекристаллизацией из MeOH. Соединение **219a** представляет собой аморфное вещество.

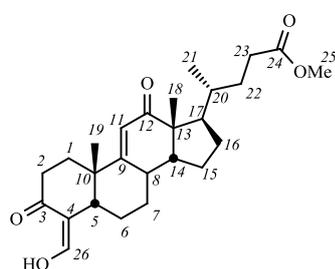
Метилловый эфир 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (219a).



HRMS: m/z вычислено для C₂₆H₃₆O₅⁺ 428.2557; найдено 428.2558. ^1H ЯМР (CDCl₃): $\delta = 14.23$ (уш.с, OH-26), 8.52 (с, 1H, H-26), 5.54 (д, 1H, $J_{11,8}=2.3$, H-11), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.62 (д, 1H, $^2J=15.9$, H-1), 2.45 (дддд, 1H, $J_{8,7a}=11.9$, $J_{8,14}=9.6$, $J_{8,7e}=6.5$, $J_{8,11}=2.3$, H-8), 2.36 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.30 (д, 1H, $^2J=15.9$, H-1'), 2.28-2.07 (м: 4H, 2.24 (дд, 1H, $^2J=19.3$, $J_{4a,5}=12.5$, H-4a(α)), 2.24 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.17 (дд, 1H, $^2J=19.3$, $J_{4e,5}=6.2$, H-4e(β)), 2.12 (дддд, 1H,

$^2J=J_{6a,7a}=13.9$, $J_{6a,7e}=J_{6a,5}=4.7$, H-6a(β)), 1.99 (м, 1H, H-5), 1.93 (м, 1H, H-16), 1.90-1.73 (м: 4H, [1.87]–H-7e(β), [1.82]–H-17, [1.81]–H-22, [1.77]–H-15), 1.65 (ддд, 1H, $J_{14,15a}=11.8$, $J_{14,8}=9.6$, $J_{14,15e}=7.3$, H-14), 1.46-1.18 (м: 8H, [1.41]–H-6, [1.41]–H-15, [1.41]–H-16, [1.40]–H-20, [1.33]–H-22, [1.28]–H-7a(α), 1.29 (с, 3H, CH₃-19)), 0.96 (д, 3H, $J_{21,20}=6.4$, CH₃-21), 0.89 (с, 3H, CH₃-18). ^{13}C ЯМР (CDCl₃): $\delta = 204.78$ (с, C-12), 184.84 (с, C-3), 184.72 (д, C-26), 174.60 (с, C-24), 162.74 (с, C-9), 123.37 (д, C-11), 106.52 (с, C-2), 53.64 (д, C-14), 53.02 (с, C-13), 51.35 (к, C-25), 47.04 (д, C-17), 39.19 (с, C-10), 38.07 (д, C-5), 37.28 (д, C-8), 35.13 (д, C-20), 34.56 (т, C-1), 33.46 (т, C-4), 31.34 (т, C-23), 30.48 (т, C-22), 28.23 (к, C-19), 27.31 (т, C-16), 26.63 (т, C-7), 23.99 (т, C-15), 23.82 (т, C-6), 19.29 (к, C-21), 10.82 (к, C-18).

Метилловый эфир 4-гидроксиметилден-3,12-диоксо-5 β -хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (219b).



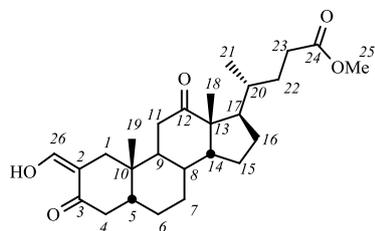
Тпл 145.5°C [разложение]. $\alpha_D^{26} +49$ (с 0.11, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₆H₃₆O₅⁺ 428.2557; найдено 428.2552. ^1H ЯМР (CDCl₃): $\delta = 15.16$ (д, 1H, $J_{\text{OH},26}=3.0$, OH), 8.83 (д, 1H, $J_{26,\text{OH}}=3.0$, H-26), 5.74 (д, 1H, $J_{11,8}=2.3$, H-11), 3.64 (с, 3H, CH₃-25), 2.65 (дд, 1H, $J_{5a,6a}=J_{5a,6e}=4.2$, H-5), 2.57 (ддд, $^2J=19.6$, $J_{2a,1a}=11.0$, $J_{2a,1e}=6.4$, H-2a), 2.43-2.20 (м: 4H, [2.37]–H-8; 2.37 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22}=5.3$, H-23), 2.31 (ддд, 1H, $^2J=19.6$, $J_{2e,1a}=6.3$, $J_{2e,1e}=3.4$, H-2e), 2.25 (дд, $^2J=15.8$, $J_{23',22}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23')), 2.1-1.98 (м: 2H, 2.05 (дддд, $^2J=J_{6a,7a}=14.1$, $J_{6a,7e}=J_{6a,5a}=4.2$, H-6a); [2.03]–H-1), 1.98-1.87 (м: 2H, [1.94]–H-6e; [1.87]–H-16), 1.87-1.59 (м: 6H, [1.81]–H-17; [1.81]–H-22; [1.75]–H-7e; [1.71]–H-15; [1.65]–H-14; [1.64]–H-1), 1.5-1.28 (м: 4H, [1.44]–H-20; [1.41]–H-15; [1.40]–H-16; [1.31]–H-22), 1.25 (с, 3H, CH₃-19), 1.10 (дддд, 1H, $^2J=13.3$, $J_{7a,8a}=J_{7a,6a}=11.9$, $J_{7e,6e}=4.5$, H-7a), 1.00 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21), 0.91 (с, 3H, CH₃-18). ^{13}C ЯМР (CDCl₃): $\delta = 204.56$ (с, C-12), 187.67 (д, C-26), 185.29 (с, C-3), 174.54 (с, C-24), 163.16 (с, C-9), 123.14 (д, C-11), 109.48 (с, C-4), 53.11 (с, C-13), 52.97 (д, C-14), 51.33 (к, C-25), 47.30 (д, C-17), 40.16 (д, C-5), 38.54 (с, C-10), 37.93 (д, C-8), 35.12 (д, C-20), 31.40 (т, C-23), 31.24 (т, C-1), 30.51 (т, C-22), 29.43 (к, C-19), 27.79 (т, C-2), 27.08 (т, C-16), 25.51 (т, C-7), 25.57 (т, C-6), 23.96 (т, C-15), 19.43 (к, C-21), 10.42 (к, C-18).

Взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (213) с метилформиатом в присутствии метилата натрия

Кетон **213** (1.1 г, 2.8 ммоль), HCOOMe (0.7 мл, 11 ммоль) и NaOMe (0.6 г, 11 ммоль) в сухом бензоле (20 мл) реагировали в условиях, описанных для получения соединений **219a,b**, с образованием смеси **220a,b** в виде аморфного вещества в соотношении 2:1 согласно данным ^1H ЯМР. Сырой продукт (1.55 г) очистили колоночной хроматографией на силикагеле, элюент *n*-гексан с градиентом AcOEt 5-35%, и использовали для следующей реакции в виде смеси изомеров (суммарный выход **220a,b** составил 0.98 г, 82%). Индивидуальные изомеры **220a**

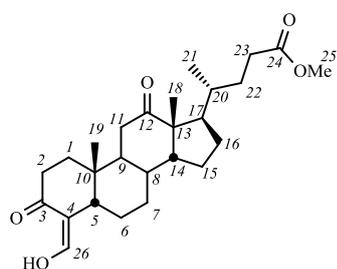
(0.091 г, выход 19%); **220b** (0.060 г, 12%); смесь **220a,b** (0.168 г, 35%) выделили колоночной хроматографией образца реакционной смеси (0.49 г, соотношение **220a:220b** = 2:1) (SiO₂, градиент 5-30% AcOEt в *n*-гексане) и перекристаллизовали из MeOH.

Метилловый эфир 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5β-холан-24-овой кислоты (**220a**).



Тпл 141.4–145.7°C. $\alpha_D^{32} +120$ (*c* 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₈O₅⁺ 430.2714; найдено 430.2712. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 14.21 (д, 1H, $J_{OH,26}=4.4$, OH), 8.29 (дд, 1H, $J_{26,OH}=4.4$, $J_{26,1}=0.7$, H-26), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.49 (дд, 1H, $J_{11a,9}=12.9$, $^2J=12.4$, H-11a), 2.45–2.28 (м: 2H, 2.40 (дд, 1H, $^2J=20.3$, $J_{4a,5}=10.5$, H-4a); 2.35 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22}=5.3$, H-23)), 2.28–2.15 (м: 2H, 2.23 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'); 2.19 (д, 1H, $^2J=15.3$, H-1)), 2.08–1.75 (м: 8H, 2.04 (дд, 1H, $^2J=15.3$, $J_{1',26}=0.7$, H-1'); [1.97]–H-17; 1.92 (дд, 1H, $^2J=12.4$, $J_{11e,9}=4.9$, H-11e); [1.89]–H-16; [1.88]–H-6; [1.83]–H-5; [1.83]–H-8; [1.79]–H-22), 1.70 (м, 1H, H-15), 1.57 (м, 1H, H-7e), 1.45–1.20 (м: 8H, 1.41 (дд, 1H, $^2J=20.3$, $J_{4e,5}=7.8$, H-4e); 1.40 (ддд, 1H, $J_{9,11a}=12.9$, $J_{9,8}=11.2$, $J_{9,11e}=4.9$, H-9); [1.37]–H-22'; [1.34]–H-6'; [1.32]–H-16'; [1.31]–H-14; [1.30]–H-15'; [1.26]–H-20), 1.12 (с, 3H, CH₃-19), [1.10]–H-7a, 1.00 (с, 3H, CH₃-18), 0.82 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, H-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 213.55 (с, C-12), 187.76 (с, C-3), 182.32 (д, C-26), 174.47 (с, C-24), 106.33 (с, C-2), 57.98 (д, C-14), 57.36 (с, C-13), 51.31 (к, C-25), 46.37 (д, C-17), 43.84 (д, C-9), 38.01 (т, C-11), 37.92 (д, C-5), 35.47 (д, C-20), 35.35 (с, C-10), 35.01 (д, C-8), 34.92 (т, C-1), 33.45 (т, C-4), 31.16 (т, C-23), 30.39 (т, C-22), 27.34 (т, C-16), 25.20 (т, C-6), 24.98 (т, C-7), 24.09 (т, C-15), 21.72 (к, C-19), 18.45 (к, C-21), 11.59 (к, C-18).

Метилловый эфир 4-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5β-холан-24-овой кислоты (**220b**).



Тпл 171.6–176.7°C. $\alpha_D^{28} +106$ (*c* 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₈O₅⁺ 430.2714; найдено 430.2712. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 15.45 (д, 1H, $J_{OH,26}=4.0$, OH), 8.68 (д, 1H, $J_{26,OH}=4.0$, H-26), 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 2.55 (дд, 1H, $J_{11a,9}=12.9$, $^2J=12.4$, H-11a), 2.49 (ддд, 1H, $J_{5,6a}\sim J_{5,6e}\sim 2.9$, $J_{5,2a}=1.5$, H-5), 2.41–2.28 (м: 2H, 2.34 (дддд, 1H, $^2J=19.9$, $J_{2a,1a}=12.7$, $J_{2a,1e}=6.1$, $J_{2a,5}=1.5$, H-2a); 2.33 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22}=5.3$, H-23)), 2.28–2.15 (м: 2H, 2.24 (ддд, 1H, $^2J=19.9$, $J_{2e,1a}=6.2$, $J_{2e,1e}=2.1$, H-2e); 2.22 (ддд, 2H, $^2J=15.8$, $J_{23',22}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23')), 2.06–1.93 (м: 2H, [1.97]–H-17; 1.96 (дд, 1H, $^2J=12.4$, $J_{11e,9}=4.6$, H-11e)), 1.93–1.84 (м: 3H, [1.90]–2H–H-6; [1.89]–H-16), 1.84–1.73 (м: 2H, [1.80]–H-8; [1.78]–H-22), 1.73–1.55 (м: 2H, [1.66]–H-15; 1.62 (ддд, 1H, $^2J=14.1$, $J_{1a,2a}=12.7$, $J_{1a,2e}=6.2$, H-1a)), 1.55–1.18 (м: 8H, 1.48 (ддд, 1H, $J_{9,11a}=12.9$, $J_{9,8}=11.2$, $J_{9,11e}=4.6$, H-9); [1.48]–H-7e; 1.41 (ддд, 1H, $^2J=14.1$, $J_{1e,2a}=6.1$, $J_{1e,2e}=2.1$, H-1e), [1.34]–H-22'; [1.29]–H-15'; [1.28]–H-16'; [1.27]–H-14; [1.25]–

H-20), 1.09 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (с, 3H, CH₃-18), 0.91 (м, 1H, H-7a), 0.81 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 213.63 (с, C-12), 188.24 (с, C-3), 185.41 (д, C-26), 174.42 (с, C-24), 109.09 (с, C-4), 58.04 (д, C-14), 57.33 (с, C-13), 51.28 (к, C-25), 46.33 (д, C-17), 44.33 (д, C-9), 40.74 (д, C-5), 38.19 (т, C-11), 35.44 (д, C-20), 35.25 (д, C-8), 34.86 (с, C-10), 32.22 (т, C-1), 31.13 (т, C-23), 30.36 (т, C-22), 27.90 (т, C-2), 27.29 (т, C-16), 25.48 (т, C-7), 24.08 (т, C-15), 23.70 (т, C-6), 21.90 (к, C-19), 18.43 (к, C-21), 11.54 (к, C-18).

Общая методика взаимодействия метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (213) с метилформиатом в присутствии различных оснований

К раствору метилового эфира 3,12-диоксохолан-24-овой кислоты **213** (0.2 г, 0.5 ммоль) и метилформиата, осушенного пропусканием через слой Al₂O₃ (прокал.), (3 мл) в сухом бензоле (3 мл) при интенсивном перемешивании прибавили порциями основание (2 ммоль): NaOMe, NaN (57-63%) в масле или Bu^tOK. Перемешивали при комнатной температуре 4 часа. Ход реакции контролировали ТСХ (CHCl₃ : AcOEt, 20 : 3). В реакционную смесь добавили 5%-ный раствор HCl до достижения значения pH 4–5, экстрагировали AcOEt. Объединенный органический слой промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃ и NaCl, сушили MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе. Соотношение продуктов **220a:220b** по данным ЯМР ¹H см. в таблице 3.

Взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (213) с метилформиатом в присутствии гидроксида натрия.

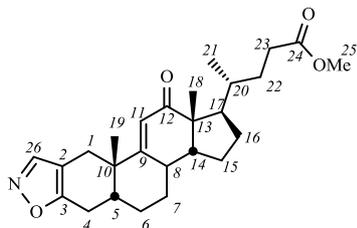
Раствор кетона **213** (2.0 г, 4.9 ммоль) и метилформиата (15 мл) в сухом бензоле (30 мл) в присутствии NaN (57–63% в масле, 0.84 г, 20 ммоль) перемешивали 3 дня при комнатной температуре. Обработали реакционную смесь как описано выше. Получили соединение **220a** (в спектрах ¹H ЯМР реакционной смеси не наблюдались характеристические сигналы соединения **220b**). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 5–30% AcOEt в *n*-гексане), получили **220a** (1.6 г, 74%). Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH.

Взаимодействие 2- и 4-гидроксиметиленовых производных (219a,b) с гидроксиламином

К раствору **219a,b** (0.6 г, 1.4 ммоль) в смеси MeOH (40 мл) и H₂O (1.3 мл) добавили NH₂OH·HCl (0.1 г, 1.5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 8 часов (ход реакции контролировали с помощью ТСХ, CHCl₃ : AcOEt = 20 : 3). Затем раствор концентрировали при пониженном давлении ($v \sim 10$ мл), разбавили AcOEt (40 мл) и промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃ и NaCl. Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, растворитель удалили на роторном испарителе. Согласно данным ¹H ЯМР,

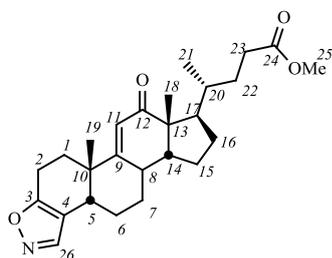
реакционная смесь содержала продукты **221a:221b** в соотношении 8:1. Сырой продукт (0.55 г, выход 94%) использовали для следующей реакции без очистки. Индивидуальные изомеры **221a** (0.075 г, выход 68%) и **221b** (0.010 г, выход 9%) выделили колоночной хроматографией образца реакционной смеси (0.110 г) (SiO₂, градиент 5-20% AcOEt в CH₂Cl₂). Аналитически чистые образцы получили перекристаллизацией из MeOH.

Метилловый эфир изоксазоло-[4,5-b]-12-оксо-5β-хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (221a).



Тпл 159.2°C [разложение]. $\alpha_D^{25} -18$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₆H₃₅NO₄⁺ 425.2561; найдено 425.2555. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.01 (с, 1H, H-26), 5.42 (с, 1H, H-11), 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 2.78 (д, 1H, ²J=16.5, H-1), 2.61 (ддд, 1H, ²J=17.4, J_{4,5}=5.9, J_{4,1}=2.2, H-4), 2.54-2.42 (м: 2H, [2.49]–H-8, [2.48]–H-4), 2.42-2.30 (м: 2H, 2.37 (ддд, 1H, ²J=16.5, J_{1',4}=2.2, J_{1,4'}=1.4, H-1'), 2.35 (ддд, 1H, ²J=15.8, J_{23,22}=9.8, J_{23,22'}=5.3, H-23)), 2.27-2.15 (м: 2H, 2.23 (ддд, 1H, ²J=15.8, J_{23',22'}=9.2, J_{23',22}=6.8, H-23'), [2.19]–H-6a(β)), 2.11 (м, 1H, H-5), 1.98-1.85 (м: 2H, [1.93]–H-16, [1.92]–H-7), 1.85-1.72 (м: 3H, [1.80]–H-22, [1.78]–H-15, [1.78]–H-17), 1.60 (ддд, 1H, J_{14,15a}=11.8, J_{14,8}=9.6, J_{14,15e}=7.4, H-14), 1.52 (дм, 1H, ²J=14.2, H-6e(α)), 1.47-1.23 (м: 8H, [1.38]–H-16, [1.38]–H-20, [1.37]–H-15, [1.35]–H-7, [1.31]–H-22, 1.33 (с, 3H, CH₃-19)), 0.95 (д, 3H, J_{21,20}=6.6, CH₃-21), 0.88 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 204.54 (с, C-12), 174.54 (с, C-24), 165.79 (с, C-3), 163.02 (с, C-9), 148.65 (д, C-26), 123.06 (д, C-11), 109.56 (с, C-2), 53.85 (д, C-14), 52.94 (с, C-13), 51.29 (к, C-25), 47.03 (д, C-17), 40.27 (с, C-10), 39.63 (д, C-5), 37.19 (д, C-8), 35.13 (д, C-20), 31.34 (т, C-23), 30.96 (т, C-1), 30.49 (т, C-22), 28.00 (к, C-19), 27.32 (т, C-16), 27.13 (т, C-7), 24.33 (т, C-6), 24.03 (т, C-15), 23.99 (т, C-4), 19.26 (к, C-21), 10.85 (к, C-18).

Метилловый эфир изоксазоло-[4,5-c]-12-оксо-5β-хол-9(11)-ен-24-овой кислоты (221b).



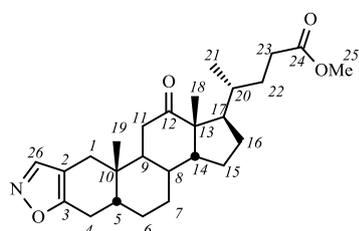
Тпл 177.1°C [разложение]. $\alpha_D^{24} +113$ (с 0.11, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₆H₃₅NO₄⁺ 425.2561; найдено 425.2560. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.97 (с, 1H, H-26), 5.78 (д, 1H, J_{11,8}=2.3, H-11), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.84 (дддд, 1H, ²J=17.7, J_{2a,1a}=12.0, J_{2a,1e}=5.8, J_{2a,5}=2.5, H-2a), 2.74 (дддд, 1H, J_{5,6a}=3.9, J_{5,6e}=3.2, J_{5,2a}=2.5, J_{5,2e}~1.0, H-5), 2.70 (дддд, 1H, ²J=17.7, J_{2e,1a}=6.4, J_{2e,1e}=1.2, J_{2e,5}~1.0, H-2e), 2.36-2.10 (м: 5H, 2.36 (ддд, 1H, ²J=15.8, J_{23,22}=9.8, J_{23,22'}=5.3, H-23), [2.30]–H-8, 2.29 (дддд, 1H, ²J=14.0, J_{1e,2a}=5.8, J_{1e,2e}=1.2, H-1e), 2.24 (ддд, 1H, ²J=15.8, J_{23',22'}=9.2, J_{23',22}=6.8, H-23'), 2.15 (дддд, 1H, ²J=J_{6a,7a}=14.1, J_{6a,7e}=J_{6a,5}=3.9, H-6a(β))), 1.98 (дддд, 1H, ²J=14.1, J_{6e,7a}=J_{6e,7e}=J_{6e,5}=3.2, H-6e(α)), 1.95-1.66 (м: 6H, [1.87]–H-16, [1.81]–H-22, [1.78]–H-17, 1.75 (ддд, 1H, ²J=14.0, J_{1a,2a}=12.0, J_{1a,2e}=6.4, H-1a), [1.70]–H-7, [1.70]–H-15), 1.54 (ддд, 1H, J_{14,15a}=11.9, J_{14,8}=9.9, J_{14,15e}=7.4, H-14), 1.48-1.29 (м: 7H, [1.42]–H-20, [1.40]–H-16, [1.35]–H-15, [1.32]–H-22, 1.31 (с, 3H, CH₃-19)), 0.97 (д, 3H, J_{21,20}=6.6, CH₃-21), 0.89

(м, 1H, H-7), 0.89 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 204.54 (с, C-12), 174.55 (с, C-24), 167.33 (с, C-3), 162.84 (с, C-9), 147.72 (д, C-26), 122.44 (д, C-11), 114.47 (с, C-4), 52.99 (с, C-13), 52.44 (д, C-14), 51.33 (к, C-25), 47.23 (д, C-17), 39.45 (с, C-10), 38.63 (д, C-5), 38.31 (д, C-8), 35.07 (д, C-20), 33.43 (т, C-1), 31.36 (т, C-23), 30.46 (т, C-22), 29.03 (к, C-19), 27.00 (т, C-16), 25.87 (т, C-7), 24.44 (т, C-6), 23.97 (т, C-15), 19.38 (к, C-21), 19.24 (т, C-2), 10.38 (к, C-18).

Взаимодействие 2- и 4-гидроксиметиленовых производных 220a,b с гидроксиламином

Смесь **220a,b** (0.86 г, 2.0 ммоль) и NH₂OH·HCl (0.16 г, 2.2 ммоль) в MeOH (30мл) и H₂O (1 мл) выдержали 3 часа при 40°C (ход реакции контролировали ТСХ). Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении (v~5 мл), разбавили CH₂Cl₂-Et₂O (40 мл, 1:3, об./об.) и промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃ и NaCl. Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, растворитель удалили на роторном испарителе, получили смесь продуктов **222a** и **222b** (0.81 г, выход 95%) в виде желтого твердого вещества. Согласно данным ¹H ЯМР реакционная смесь содержала **222a:222b** в соотношении ~1.5:1. Полученную смесь продуктов использовали для следующей реакции без очистки. Индивидуальные изомеры **222a** (0.124 г, выход 25%) и **222b** (0.102 г, выход 21%); смесь **222a,b** (0.132 г, 30%) выделили колоночной хроматографией образца реакционной смеси (0.49 г) (SiO₂, градиент 0–100% CH₂Cl₂ в бензоле), и перекристаллизовали из MeOH.

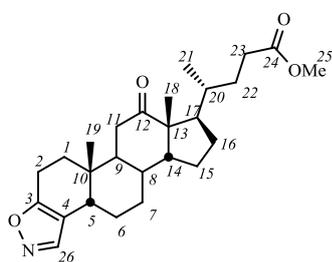
Метилвый эфир изоксазоло-[4,5-b]-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (222a).



Тпл 167.2°C [разложение]. α_D²⁸ +66 (с 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₇NO₄⁺ 427.2717; найдено 427.2718. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.98 (с, 1H, H-26), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.75 (ддд, 1H, ²*J*=18.2, *J*_{4a,5}=10.7, *J*_{4a,1a}=2.5, H-4a), 2.61 (ддд, 1H, ²*J*=18.2, *J*_{4e,5}=6.7, *J*_{4e,1a}=1.5, H-4e), 2.49 (д, 1H, ²*J*=16.3, H-1e), 2.48 (дд, 1H, ²*J*=12.2, *J*_{11a,9a}=13.7, H-11a), 2.34 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23,22}=9.8, *J*_{23,22}=5.3, H-23), 2.21 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23',22}=9.2, *J*_{23',22}=6.8, H-23'), 2.11 (ддд, 1H, ²*J*=16.3, *J*_{1a,4a}=2.5, *J*_{1a,4e}=1.5, H-1a), 2.06-1.83 (м: 6H, 2.01 (дддд, 1H, ²*J*=*J*_{6a,7a}=13.7, *J*_{6a,7e}=*J*_{6a,5}=4.5, H-6a); [1.99]–H-5; 1.96 (дд, 1H, ²*J*=12.2, *J*_{11e,9a}=4.4, H-11e); [1.94]–H-17; [1.90]–H-16; [1.89]–H-8), 1.78 (дддд, 1H, ²*J*=13.3, *J*_{22,23}=9.8, *J*_{22,23'}=6.8, *J*_{22,20}=3.0, H-22), 1.73-1.54 (м: 2H, [1.69]–H-15; [1.62]–H-7), 1.49 (м, 1H, H-6e), 1.40-1.10 (м: 7H, [1.34]–H-22'; [1.34]–H-9; [1.30]–H-16'; [1.30]–H-15'; [1.27]–H-14; [1.24]–H-20; [1.19]–H-7'), 1.18 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, *J*_{21,22}=6.6, H-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 213.37 (с, C-12), 174.48 (с, C-24), 166.09 (с, C-3), 149.13 (д, C-26), 109.40 (с, C-2), 57.94 (д, C-14), 57.34 (с, C-13), 51.32 (к, C-25), 46.33 (д, C-17), 43.66 (д, C-9), 39.36 (д, C-5), 38.53 (т, C-11), 36.62 (с, C-10), 35.48 (д, C-20), 35.04 (д, C-8), 31.17 (т, C-23), 30.37 (т, C-1), 30.37 (т, C-22), 27.35 (т, C-16),

25.51 (т, С-6), 25.16 (т, С-7), 24.04 (т, С-15), 23.36 (т, С-4), 22.21 (к, С-19), 18.44 (к, С-21), 11.65 (к, С-18).

Метилловый эфир изоксазоло-[4,5-с]-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (**222b**).



Тпл 213.1-215.6°C. $\alpha_{D}^{28} +119$ (с 0.12, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₇NO₄⁺ 427.2717; найдено 427.2714. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.99 (с, 1H, H-26), 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 2.72-2.50 (м: 4H, [2.68]–H-2, 2.60 (дд, 1H, $J_{11a,9}=13.3$, $^2J=12.3$, H-11a(β)), [2.56]–H-5, [2.54]–H-2), 2.34 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.21 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.04-1.66 (м: 8H, 2.01 (дддд, $^2J=J_{6a,7a}=14.0$, $J_{6a,7e}=J_{6a,5}=4.3$, H-6a(β)), 2.00 (дд, 1H, $^2J=12.3$, $J_{11e,9}=4.7$, H-11e(α)), [1.93]–H-17, [1.84]–H-1, 1.84 (дддд, $^2J=14.0$, $J_{6e,7a}=J_{6e,7e}=J_{6e,5}=3.2$, H-6e(α)), [1.85]–H-16, [1.78]–H-22, 1.74 (дддд, 1H, $J_{8,7a}=11.7$, $J_{8,9}=J_{8,14}=11.0$, $J_{8,7e}=3.4$, H-8)), 1.63 (м, 1H, H-15), 1.56-1.46 (м: 2H, [1.58]–H-1, 1.51 (дддд, 1H, $^2J=13.5$, $J_{7e,8}=3.4$, $J_{7e,6a}\sim J_{7e,6e}\sim 3$, H-7e(β))), 1.39-1.11 (м: 9H, 1.35 (ддд, 1H, $J_{9,11a}=13.3$, $J_{9,8}=11.0$, $J_{9,11e}=4.7$, H-9), [1.27]–H-15, [1.27]–H-16, [1.23]–H-20, [1.22]–H-22, [1.16]–H-14, 1.15 (с, 3H, CH₃-19)), 1.00 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,22}=6.6$, H-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 213.69 (с, С-12), 174.46 (с, С-24), 166.94 (с, С-3), 148.26 (д, С-26), 114.54 (с, С-4), 57.90 (д, С-14), 57.24 (с, С-13), 51.31 (к, С-25), 46.28 (д, С-17), 44.08 (д, С-9), 38.72 (д, С-5), 38.53 (т, С-11), 35.82 (с, С-10), 35.42 (д, С-20), 35.25 (д, С-8), 33.56 (т, С-1), 31.12 (т, С-23), 30.32 (т, С-22), 27.23 (т, С-16), 26.07 (т, С-7), 24.79 (т, С-6), 24.13 (т, С-15), 21.03 (к, С-19), 18.73 (т, С-2), 18.41 (к, С-21), 11.52 (к, С-18).

Раскрытие изоксазольного цикла соединения **221a**

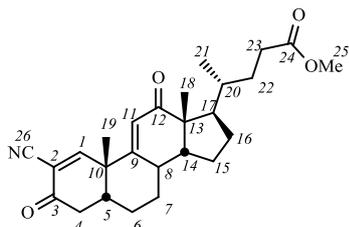
К раствору **221a,b** (0.109 г, 0.24 ммоль, соотношение **a:b** ~ 4:1) в метаноле (10 мл) добавили 30%- ный раствор NaOMe в MeOH (1.5 мл). Реакционную смесь перемешивали 8 часов при комнатной температуре; затем добавили 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH 4–5. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления метанола, разбавили AcOEt. Органический слой отделили, водную фазу экстрагировали AcOEt. Объединенную органическую фазу промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃ и NaCl и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на ротормном испарителе. Поученный продукт 0.125 г очищали колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 6–32% AcOEt в *n*-гексане), выделили соединение **221b** (0.022 г, 20%) и продукт **223** (0.070 г, 64%) в виде белого твердого вещества. HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₅NO₄⁺ 425.2561; найдено 425.2558.

Раскрытие изоксазольного цикла соединения **222a**

Смесь производных **222a,b** (0.096 г, 0.23 ммоль, соотношение **a:b** ~ 4:1) и 30%- ный раствор NaOMe в MeOH (1.5 мл) в метаноле (10 мл) реагировали 8 часов в условиях, описанных для получения соединения **223**, с образованием продукта **224**. Сырой продукт 0.108 г очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 12-32% AcOEt в *n*-гексане), получили **224** (0.070 г, выход 73%) в виде белого твердого вещества. HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₇NO₄⁺ 427.2717; найдено 427.2714.

Метилловый эфир 2-циано-3,12-диоксо-5β-хол-1(2),9(11)-диен-24-овой кислоты (**225**)

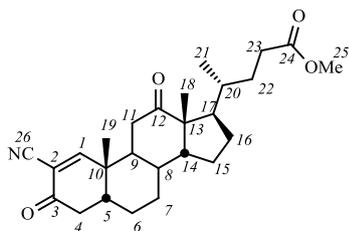
Смесь соединения **223** (0.11 г, 0.26 ммоль) и 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (DDQ) (0.05 г, 0.22 ммоль) в сухом бензоле (5 мл) кипятили 24 ч (ход реакции контролировали с помощью ТСХ). Образовавшийся осадок дигидрохинона удалили фильтрованием, фильтрат упарили досуха. Твердое вещество очищали колоночной хроматографией (SiO₂, бензол, затем CHCl₃), выделили сырой продукт **225**, далее перекристаллизацией из MeOH получили кристаллы **225** (0.06 г, 55%).



Тпл 207.8–209.1 °С. $\alpha_D^{23} +104$ (*c* 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₆H₃₃O₄⁺ 423.2404; найдено 423.2400. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.52 (с, 1H, H-1), 5.48 (д, 1H, *J*_{11,8}=2.2, H-11), 3.61 (с, 3H, CH₃-25), 2.55–2.16 (м: 6H, 2.43 (дд, 1H, ²*J*=17.3, *J*_{4a,5}=15.6, H-4a), [2.39]–H-8, 2.34 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23,22}=9.8, *J*_{23,22}=5.3, H-23), 2.24 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23',22}=9.2, *J*_{23',22}=6.8, H-23'), [2.27]–H-5, [2.26]–H-4e), 2.10 (дддд, 1H, ²*J*=*J*_{6a,7a}=14.5, *J*_{6a,7e}=*J*_{6a,5}=4.4, H-6a), 2.03–1.70 (м: 5H, [1.91]–H-7e; [1.90]–H-16; [1.86]–H-17; [1.83]–H-22; [1.80]–H-15), 1.65 (м, 1H, H-14), 1.52 (м, 1H, H-6), 1.50 (с, 3H, CH₃-19), 1.47–1.14 (м: 5H, [1.45]–H-16; [1.39]–H-15; [1.37]–H-20; [1.31]–H-22; [1.21]–H-7a), 0.93 (д, 3H, *J*_{21,20}=6.6, CH₃-21), 0.92 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 203.14 (с, C-12), 191.80 (с, C-3), 174.32 (с, C-24), 167.16 (д, C-1), 160.50 (с, C-9), 125.32 (д, C-11), 116.52 (с, C-2), 113.29 (с, CN-26), 53.01 (с, C-13), 52.61 (д, C-14), 51.24 (к, C-25), 46.87 (д, C-17), 43.90 (с, C-10), 40.50 (д, C-5), 39.27 (т, C-4), 37.09 (д, C-8), 35.10 (д, C-20), 31.18 (т, C-23), 30.38 (т, C-22), 27.29 (т, C-16), 26.93 (т, C-7), 26.17 (к, C-19), 25.11 (т, C-6), 23.95 (т, C-15), 19.06 (к, C-21), 10.53 (к, C-18).

Метилловый эфир 2-циано-3,12-диоксо-5β-хол-1(2)-ен-24-овой кислоты (**226**)

Смесь соединения **224** (0.07 г, 0.16 ммоль) в сухом бензоле (5 мл) окислили DDQ (0.045 г, 0.20 ммоль) в условиях, описанных для получения соединения **225**. Соединение **226** (40 мг, выход 57%) получили очисткой сырого продукта колоночной хроматографией (SiO₂, бензол, затем CHCl₃) и последующей перекристаллизацией из смеси *n*-гексан – Et₂O.

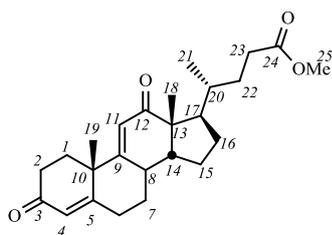


Тпл 152.8–165.1°C. $\alpha_D^{28} +97$ (с 0.11, CHCl_3). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_4^+$ 425.2561; найдено 425.2557. ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7.35 (с, 1H, H-1), 3.63 (с, 3H, CH_3 -25), 2.77 (дд, 1H, $J_{11a,9a}=12.9$, $^2J=12.4$, H-11a(β)), 2.71 (дд, 1H, $^2J=17.4$, $J_{4a,5}=14.8$, H-4a(α)), 2.36 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.29-2.11 (м: 3H, 2.26 (дд, 1H, $^2J=17.4$, $J_{4e,5}=4.2$, H-4e(β)), 2.22 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.17 (дддд, 1H, $J_{5,4a}=14.8$, $J_{5,4e}=J_{5,6a}=4.2$, $J_{5,6e}=1.9$, H-5)), 2.06-1.53 (м: 9H, 2.00 (дд, 1H, $^2J=12.4$, $J_{11e,9a}=4.9$, H-11e(α)), [1.99]–H-17, [1.93]–H-16, [1.92]–H-6a(β), [1.82]–H-8, [1.79]–H-22, 1.78 (ддд, 1H, $J_{9a,11a}=12.9$, $J_{9a,8}=11.2$, $J_{9a,11e}=4.9$, H-9), [1.75]–H-15, [1.65]–H-7e(β)), 1.47 (м, 1H, H-6e(α)), 1.41-1.05 (м: 9H, [1.35]–H-22, [1.35]–H-15, [1.33]–H-14, 1.33 (с, 3H, CH_3 -19), [1.32]–H-16, [1.27]–H-20, [1.09]–H-7a(α)), 1.04 (с, 3H, CH_3 -18), 0.82 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH_3 -21). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 211.76 (с, C-12), 191.99 (с, C-3), 174.37 (с, C-24), 169.47 (д, C-1), 116.21 (с, C-2), 113.66 (с, CN-26), 57.30 (д, C-14), 57.27 (с, C-13), 51.32 (к, C-25), 47.95 (д, C-9), 46.49 (д, C-17), 40.50 (с, C-10), 39.53 (д, C-5), 38.84 (т, C-11), 38.01 (т, C-4), 34.82 (д, C-8), 35.42 (д, C-20), 31.12 (т, C-23), 30.29 (т, C-22), 27.05 (т, C-16), 25.99 (т, C-6), 25.21 (т, C-7), 24.20 (т, C-15), 19.77 (к, C-19), 18.41 (к, C-21), 11.58 (к, C-18).

Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-4(5),9(11)-диен-24-овой кислоты (227)

К раствору соединения **218** (1.7 г, 4.2 ммоль) в AcOH (25 мл) при перемешивании добавили по каплям раствор Br_2 (0.24 мл, 4.7 ммоль) в AcOH (4 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 1 час, затем разбавили H_2O и экстрагировали AcOEt . Органическую фазу промыли насыщенными водными растворами NaHCO_3 , NaCl и сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель удалили на роторном испарителе, получили 2.0 г аморфного коричневого вещества. Продукт использовали для следующей реакции без очистки. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{Br}^+$ 478.1713; найдено 478.1715.

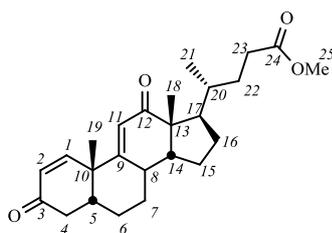
К раствору бромпроизводного (2.0 г, 4.2 ммоль), полученного на предыдущей стадии, в ДМФА (40 мл) добавили Li_2CO_3 (1 г, 13 ммоль) и LiBr (0.5 г, 5.7 ммоль). Полученную смесь кипятили 2.5 часа и затем концентрировали на роторном испарителе ($v \sim 10$ мл). Концентрированный раствор разбавили AcOEt , промыли насыщенным водным раствором NaCl и сушили над безводным MgSO_4 . Растворитель удалили на роторном испарителе, получили аморфное коричневое вещество. Согласно данным ^1H ЯМР, реакционная смесь содержала соединения **227** и **228** в соотношении 4 : 1. Соединение **227** (1.0 г, выход 60%) выделили с помощью колоночной хроматографии (SiO_2 , градиент 0-30% AcOEt в CH_2Cl_2) в виде белого твердого вещества. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH .



Тпл 118.5–119.5°C. $\alpha_D^{23} +116$ (*c* 0.12, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₅H₃₄O₄⁺ 398.2452; найдено 398.2449. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 5.76 (д, 1H, *J*_{4,2a}=1.9, H-4), 5.73 (д, 1H, *J*_{11,8}=2.1, H-11), 3.62 (с, 3H, CH₃-25); 2.66-4.43 (м: 3H, 2.60 (дддд, 1H, ²*J*=14.8, *J*_{6a,7a}=14.2, *J*_{6a,7e}=4.8, *J*_{6a,4}=1.9, H-6a); 2.53 (дддд, 1H, *J*_{8,7a}=12.7, *J*_{8,14}=9.7, *J*_{7e,8}=4.8, *J*_{8,11}=2.3, H-8); [2.48]–H-2), 2.38 (ддд, 1H, ²*J*=14.8, *J*_{6e,7a}=3.6, *J*_{6e,7e}=2.9, H-6e), 2.36 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23,22}=9.8, *J*_{23,22'}=5.3, H-23), 2.24 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23',22'}=9.2, *J*_{23',22}=6.8, H-23'), 2.15-1.99 (м: 2H, [2.11]–H-1; 2.06 (дддд, 1H, ²*J*=12.7, *J*_{7e,6a}=*J*_{7e,8}=4.8, *J*_{7e,6e}=2.9, H-7e)), 1.96 (м, 1H, H-16), 1.88-1.73 (м: 3H, [1.84]–H-17; [1.83]–H-15; [1.83]–H-22), 1.68 (ддд, 1H, *J*_{14,15a}=11.5, *J*_{14,8}=9.7, *J*_{14,15e}=7.5, H-14), 1.53-1.25 (м: 4H, [1.46]–H-16; [1.46]–H-16; [1.42]–H-20; 1.31 (ддд, ²*J*=13.4, *J*_{22',23'}=9.2, *J*_{22',23}=5.3, H-22')), 1.43 (с, 3H, CH₃-19), 1.16 (дддд, 1H, *J*_{6a,7a}=14.2, ²*J*=*J*_{7a,8}=12.7, *J*_{7a,6e}=3.6, H-7a), 0.97 (д, 3H, *J*_{21,20}=6.6, CH₃-21), 0.95 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 204.43 (с, C-12), 197.92 (с, C-3), 174.43 (с, C-24), 166.48 (д, C-5), 165.37 (с, C-9), 124.98 (д, C-4), 122.01 (д, C-11), 52.55 (д, C-14), 52.76 (с, C-13), 51.29 (к, C-25), 47.00 (д, C-17), 41.34 (с, C-10), 38.62 (д, C-8), 35.18 (д, C-20), 33.80 (т, C-7), 33.80 (т, C-2), 33.19 (т, C-1), 32.10 (т, C-6), 31.27 (т, C-23), 30.47 (т, C-22), 27.38 (т, C-16), 26.25 (к, C-19), 24.00 (т, C-15), 19.22 (к, C-21), 10.52 (к, C-18).

Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-1(2),9(11)-диен-24-овой кислоты (228)

К раствору **218** (0.11 г, 0.28 ммоль) в AcOEt (3 мл) при комнатной температуре добавили PhSeCl (0.07 г, 0.30 ммоль), перемешивали пока цвет раствора не изменился с красного на желтый. Затем реакционную смесь разбавили AcOEt (10 мл), промыли насыщенным водным раствором NaHCO₃. К органической фазе добавили смесь ТГФ–H₂O₂ (1 мл, 10:1, об./об.), полученную смесь перемешивали 2 часа при комнатной температуре. Затем реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении (*v*~10 мл), разбавили AcOEt, промыли насыщенным раствором NaCl и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе. После очистки колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–30% AcOEt в CH₂Cl₂) выделили соединение **228** (0.08 г, выход 75%). Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из MeOH.



Тпл 139.1–142.5°C. $\alpha_D^{23} +154$ (*c* 0.11, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₅H₃₄O₄⁺ 398.2452; найдено 398.2447. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 6.77 (д, 1H, *J*_{1,2}=10.1, H-1), 5.99 (дд, 1H, *J*_{2,1}=10.1, *J*_{2,4e}=1.0, H-2), 5.60 (д, 1H, *J*_{11,8}=2.3, H-11), 3.63 (с, CH₃-25), 2.42-2.32 (м: 3H, [2.38]–H-8; 2.37 (дд, ²*J*=16.1, *J*_{4a,5}=14.6, H-4a); 2.36 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23,22}=9.8, *J*_{23,22'}=5.3, H-23)), 2.26 (дддд, 1H, *J*_{5,4a}=14.6, *J*_{5,6a}=4.4, *J*_{5,4e}=3.0, *J*_{5,6e}=2.2, H-5), 2.24 (ддд, 1H, ²*J*=15.8, *J*_{23',22'}=9.2, *J*_{23',22}=6.8, H-23'), 2.11 (дддд, ²*J*=*J*_{6a,7a}=14.1, *J*_{6a,7e}=*J*_{6a,5}=4.4, H-6a), 2.09 (ддд,

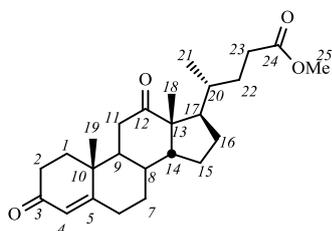
^1H , $^2J=16.1$, $J_{4e,5}=3.0$, $J_{4e,2}=1.0$, H-4e), 1.95 (м, 1H, H-16), 1.92-1.78 (м: 4H, [1.88]–H-7e; [1.84]–H-17; [1.82]–H-15; [1.81]–H-22), 1.66 (ддд, 1H, $J_{14,15a}=11.6$, $J_{14,8}=9.5$, $J_{14,15e}=7.5$, H-14), 1.51-1.44 (м: 2H, 1.48 (дддд, $^2J=14.1$, $J_{6e,7a}=4.4$, $J_{6e,7e}=J_{6e,5}=2.2$, H-6e); [1.45]–H-16), 1.44-1.28 (м: 3H, [1.40]–H-15; [1.38]–H-20; [1.33]–H-22), 1.42 (с, 3H, CH₃-19), 1.24 (м, 1H, H-7a), 0.96 (д, 1H, $J_{21,20}=6.6$, H-21), 0.93 (с, 3H, CH₃-18). ^{13}C ЯМР (CDCl₃): δ = 204.09 (с, C-12), 199.62 (с, C-3), 163.12 (с, C-9), 156.21 (д, C-1), 128.24 (д, C-2), 124.79 (д, C-11), 174.50 (с, C-24), 53.06 (с, C-13), 52.78 (д, C-14), 51.33 (к, C-25), 46.93 (д, C-17), 42.76 (с, C-10), 41.51 (д, C-5), 40.10 (т, C-4), 37.31 (д, C-8), 35.20 (д, C-20), 31.28 (т, C-23), 30.47 (т, C-22), 27.46 (т, C-16), 27.41 (т, C-7), 26.90 (к, C-19), 25.55 (т, C-6), 24.03 (т, C-15), 19.19 (к, C-21), 10.74 (к, C-18).

Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-4(5)-ен-24-овой кислоты (229) и метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-1(2)-ен-24-овой кислоты (230)

К раствору соединения **213** (1.0 г, 2.5 ммоль) в AcOH (20 мл) при перемешивании добавили по каплям раствор Br₂ (0.14 мл, 2.7 ммоль) в AcOH (4 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 1 час, затем разбавили H₂O и экстрагировали AcOEt. Органическую фазу промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃, NaCl и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе, получили 1.0 г аморфного коричневого вещества. Продукт использовали для следующей реакции без очистки. HRMS: m/z вычислено для C₂₅H₃₇O₄Br⁺ 480.1870; найдено 480.1875.

К раствору бромпроизводного, полученного на предыдущей стадии, в ДМФА (30 мл) добавили Li₂CO₃ (0.63 г, 8.5 ммоль) и LiBr (0.31 г, 3.6 ммоль). Полученную смесь кипятили 2.5 часа и затем концентрировали на роторном испарителе ($v \sim 10$ мл). Концентрированный раствор разбавили AcOEt, промыли насыщенным водным раствором NaCl и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе, получили аморфное коричневое вещество. Согласно данным ^1H ЯМР, реакционная смесь содержала соединения **229** и **230** в соотношении 4 : 1. Соединение **229** (0.54 г, выход 63%) и соединение **230** (0.14 г, выход 16%) выделили с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, градиент 10-25% AcOEt в *n*-гексане) в виде белых твердых веществ. Аналитически чистые образцы получили перекристаллизацией из MeOH.

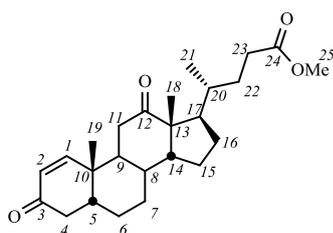
Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-4(5)-ен-24-овой кислоты (229).



Тпл 141.1-145.3°C [лит.²⁵⁴ 142-144°C (MeOH)]. $\alpha_D^{24} +72$ (с 0.12, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₅H₃₆O₄⁺ 400.2608; найдено 400.2603. ^1H ЯМР (CDCl₃): δ = 5.64 (дд, 1H, $J_{4,6a}=2.0$, $J_{4,2e}=0.9$, H-4), 3.54 (с, 3H, CH₃-25), 2.60 (дддд, 1H, $^2J=14.9$, $J_{6a,7a}=13.8$, $J_{6a,7e}=5.4$,

$J_{6a,4}=2.0$, H-6a(β)), 2.54 (дд, 1H, $J_{11a,9}=13.2$, $^2J=12.5$, H-11a(β)), 2.38-2.19 (м: 4H, 2.30 (ддд, 1H, $^2J=17.0$, $J_{2a,1a}=14.5$, $J_{2a,1e}=5.0$, H-2a(α)), 2.28 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.24 (дддд, 1H, $^2J=17.0$, $J_{2e,1a}=5.0$, $J_{2e,1e}=3.0$, $J_{2e,4}=0.9$, H-2e(β)), 2.22 (ддд, 1H, $^2J=14.9$, $J_{6e,7a}=4.2$, $J_{6e,7e}=2.3$, H-6e(α)), 2.14 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.06 (дд, 1H, $^2J=12.5$, $J_{11e,9}=4.9$, H-11e(α)), 1.95-1.75 (м: 5H, [1.87]–H-17, [1.86]–H-8, [1.85]–H-16, [1.80]–H-1e(α), [1.80]–H-7e(β)), 1.75-1.55 (м: 3H, 1.71 (дддд, 1H, $^2J=13.4$, $J_{22,23}=9.8$, $J_{22,23'}=6.8$, $J_{22,20}=2.9$, H-22), [1.65]–H-15, 1.60 (дддд, 1H, $J_{1a,2a}=14.5$, $^2J=13.6$, $J_{1a,2e}=5.0$, $J_{1a,19}=0.6$, H-1a(β))), 1.34-1.12 (м: 6H, [1.26]–H-9, [1.26]–H-16, [1.25]–H-22, [1.23]–H-15, [1.22]–H-14, [1.19]–H-20, 1.17 (д, 3H, $J_{19,1a}=0.6$, CH₃-19)), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.94 (дддд, 1H, $J_{7a,6a}=13.8$, $^2J=13.1$, $J_{7a,8}=11.8$, $J_{7a,6e}=4.2$, H-7a(α)), 0.74 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): $\delta = 213.00$ (с, C-12), 198.44 (с, C-3), 174.16 (с, C-24), 168.50 (с, C-5), 124.28 (д, C-4), 57.00 (д, C-14), 56.56 (с, C-13), 55.81 (д, C-9), 51.12 (к, C-25), 46.02 (д, C-17), 38.59 (с, C-10), 37.55 (т, C-11), 35.19 (д, C-20), 35.02 (т, C-1), 34.92 (д, C-8), 33.36 (т, C-2), 32.19 (т, C-6), 30.88 (т, C-23), 30.60 (т, C-7), 30.10 (т, C-22), 27.01 (т, C-16), 23.99 (т, C-15), 18.23 (к, C-21), 16.53 (к, C-19), 11.33 (к, C-18).

Метилловый эфир 3,12-диоксо-5 β -хол-1(2)-ен-24-овой кислоты (230).



Тпл 128.2°C [разложение]. $\alpha_D^{25} +204$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₅H₃₆O₄⁺ 400.2608; найдено 400.2602. ¹H ЯМР (CDCl₃): $\delta = 6.62$ (д, 1H, $J_{1,2}=10.2$, H-1), 5.89 (д, 1H, $J_{2,1}=10.2$, H-2), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.72 (дд, 1H, $J_{11a,9}=12.8$, $^2J=12.2$, H-11a(β)), 2.63 (м, 1H, H-4), 2.36 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23,22}=9.8$, $J_{23,22'}=5.3$, H-23), 2.22 (ддд, 1H, $^2J=15.8$, $J_{23',22'}=9.2$, $J_{23',22}=6.8$, H-23'), 2.15-1.84 (м: 6H, [2.11]–H-5, [2.10]–H-4, 2.05 (дд, 1H, $^2J=12.2$, $J_{11e,9}=4.2$, H-11e(α)), [1.99]–H-17, [1.92]–H-16, [1.90]–H-6a(β)), 1.84-1.65 (м: 4H, [1.80]–H-22, [1.78]–H-8, [1.76]–H-9, [1.73]–H-15), 1.60 (дддд, 1H, $^2J=13.4$, $J=J=J<3$, H-7e(β)), 1.42 (дм, 1H, $^2J=14.4$, H-6e(α)), 1.39-1.04 (м: 9H, [1.34]–H-22, [1.33]–H-14, [1.32]–H-15, [1.32]–H-16, [1.26]–H-20, 1.24 (с, 3H, CH₃-19)), 1.03 (с, 3H, CH₃-18), 0.82 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): $\delta = 213.12$ (с, C-12), 199.73 (с, C-3), 174.45 (с, C-24), 158.61 (д, C-1), 127.66 (д, C-2), 57.62 (д, C-14), 57.31 (с, C-13), 51.33 (к, C-25), 48.65 (д, C-9), 46.41 (д, C-17), 40.39 (д, C-5), 38.88 (т, C-11), 38.81 (с, C-10), 38.73 (д, C-4), 35.46 (д, C-20), 34.93 (д, C-8), 31.14 (т, C-23), 30.33 (т, C-22), 27.18 (т, C-16), 26.36 (т, C-6), 25.56 (т, C-7), 24.22 (т, C-15), 20.29 (к, C-19), 18.43 (к, C-21), 11.59 (к, C-18).

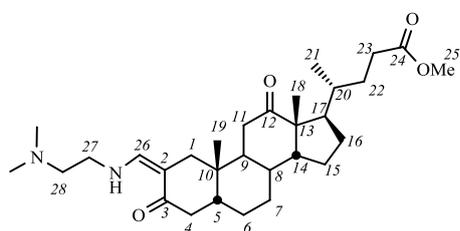
Общая методика взаимодействия метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (213) с PhSeCl в различных растворителях.

К раствору соединения **213** (0.1 г, 0.25 ммоль) в AcOEt (**a**), CH₂Cl₂ (**b**) или ТГФ (**c**) прибавили по каплям раствор PhSeCl (0.06 г, 0.30 ммоль) AcOEt, CH₂Cl₂ или ТГФ (5 мл) соответственно, перемешивали при комнатной температуре пока цвет раствора не изменился с красного на желтый (примерно 24 часа). Обработывали реакционную смесь аналогично процедуре описанной для получения соединения **228**. Согласно данным ¹H ЯМР, конверсия соединения **213** составила: **a** – 50%, соотношение 1(2)-ен : 4(5)-ен : 1,4-диен = 1 : 0.14 : 0.05; **b** – 30%, 1(2)-ен : 4(5)-ен : 1,4-диен = 1 : 0.3 : 0.03; **c** – 45%, 1(2)-ен : 4(5)-ен : 1,4-диен = 1 : 0.1 : 0.2.

Общая методика взаимодействия метилового эфира 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (220a) с аминами.

К раствору соединения **220a** (0.3 г, 0.7 ммоль) в 4 мл ТГФ прибавили рассчитанное количество соответствующего амина (1.5 экв., 1 ммоль). Реакционную смесь кипятили в атмосфере аргона 2–6 часов. Ход реакции контролировали ТСХ (элюент CHCl₃ : MeOH = 20 : 3). Затем удалили ТГФ на роторном испарителе, разбавили AcOEt, промыли насыщенным водным раствором NaCl. Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе. Получили сырой продукт в виде аморфной массы желтого цвета. Аналитически чистый образец продукта получали колоночной хроматографией на силикагеле, элюент CH₂Cl₂ с градиентом метанола (0-15%). Продукты **231-236** представляют собой аморфные соединения желтого цвета.

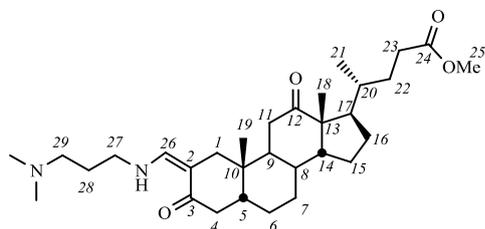
Метилловый эфир 2-[2'-(*N,N*-диметиламино)-этиламинметиле]-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (231).



Выход продукта после хроматографии 65%. HRMS: *m/z* вычислено для C₃₀H₄₈O₄N₂⁺ 500.3609; найдено 500.3603. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 9.86 (ддд, 1H, *J*=12.5, *J*=5.9, *J*= 5.9, NH), 6.2 (д, 1H, *J*=12.5, H-26), 3.55 (с, 3H, CH₃-25), 3.16 (м, 2H, CH₂-27), 2.35 (дд, 1H, *J*=6.6, H-11), 2.15 (с, 6H, N(CH₃)₂), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.92 (с, 3H, CH₃-19), 0.73 (д, 3H, CH₃-21, *J*_{21,20}=6.5). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 214.22 (с, C-12), 196.81 (с, C-3), 174.27 (с, C-24), 151.45 (д, C-26), 98.32 (с, C-2), 59.35 (т, C-28), 57.79 (д, C-14), 57.09 (с, C-13), 51.13 (к, C-25), 46.54 (т, C-27), 46.07 (д, C-17), 45.25 (к, N(CH₃)₂), 43.81 (д, C-5), 39.94 (т, C-1), 38.97 (д, C-9), 38.42 (т, C-11), 37.71 (т, C-4), 35.45 (с, C-10), 35.26 (д, C-20),

34.75 (д, C-8), 30.94 (т, C-23), 30.18 (т, C-22), 27.19 (т, C-15), 25.57 (т, C-6), 24.85 (т, C-7), 23.92 (т, C-16), 21.38 (к, C-18), 18.24 (к, C-21), 11.37 (к, C-19).

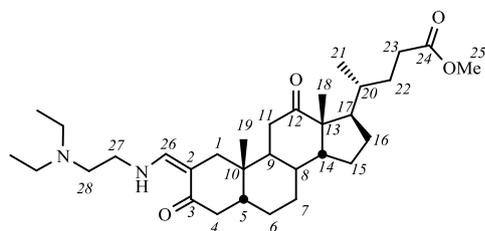
Метилловый эфир 2-[3'-(*N,N*-диметиламино)-пропиламинометилден]-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (232).



Выход продукта после хроматографии 69%. HRMS: m/z вычислено для $C_{31}H_{50}O_4N_2^+$ 514.3765; найдено 514.3761. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 9.85 (ддд, 1H, $J=12.4$, $J=6.3$, $J=6.3$, NH), 6.44 (д, 1H, $J=12.4$, H-26), 3.56 (с, 3H, CH_3 -25), 3.15 (м, 2H, CH_2 -27), 2.39 (дд, 1H, $J=12.6$, H-11), 2.17 (с, 6H, $N(CH_3)_2$),

0.99 (с, 3H, CH_3 -18), 0.92 (с, 3H, CH_3 -19), 0.73 (д, 3H, $J_{21,20}=6.3$, CH_3 -21). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ = 214.27 (с, C-12), 196.85 (с, C-3), 174.34 (с, C-24), 151.83 (д, C-26), 98.13 (с, C-2), 57.94 (д, C-14), 57.14 (т, C-29), 56.07 (с, C-13), 51.18 (к, C-25), 46.63 (т, C-27), 46.11 (д, C-17), 44.97 (к, $N(CH_3)_2$), 43.94 (д, C-5), 39.95 (т, C-1), 38.99 (д, C-9), 38.48 (т, C-11), 37.76 (т, C-4), 35.58 (с, C-10), 35.29 (д, C-20), 34.76 (д, C-8), 30.97 (т, C-23), 30.21 (т, C-22), 28.38 (т, C-15), 27.22 (т, C-28), 25.60 (т, C-6), 24.91 (т, C-7), 23.96 (т, C-16), 21.39 (к, C-18), 18.27 (к, C-21), 11.40 (к, C-19).

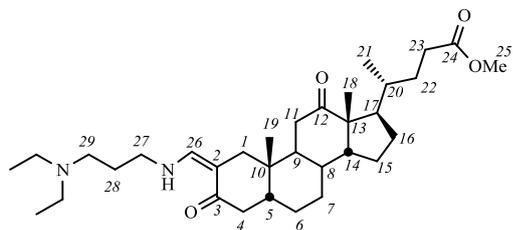
Метилловый эфир 2-[2'-(*N,N*-диэтиламино)-этиламинометилден]-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (233).



Выход продукта после хроматографии 57%. HRMS: m/z вычислено для $C_{32}H_{52}O_4N_2^+$ 528.3922; найдено 528.3924. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 9.85 (ддд, 1H, $J=12.2$, $J=6.1$, $J=6.1$, NH), 6.44 (д, 1H, $J=12.6$, H-26), 3.56 (с, 3H, CH_3 -25), 3.14 (м, 2H, CH_2 -27), 2.47 (м, 4H, $N(CH_2CH_3)_2$), 2.39 (дд, 1H, $J=12.6$, H-

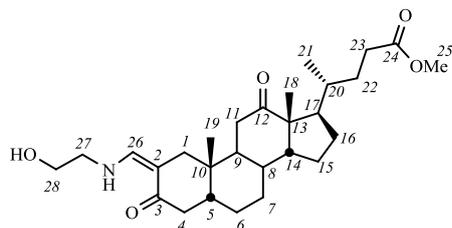
11), 0.99 (с, 3H, CH_3 -18), 0.93 (с, 3H, CH_3 -19), 0.93 (с, 6H, $N(CH_2CH_3)_2$), 0.74 (д, 3H, $J_{21,20}=6.4$, CH_3 -21). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ = 214.32 (с, C-12), 196.70 (с, C-3), 174.36 (с, C-24), 151.72 (д, C-26), 98.18 (с, C-2), 57.83 (д, C-14), 57.12 (с, C-13), 53.21 (т, C-28), 51.18 (к, C-25), 47.03 (т, C-27), 46.95 (т, $N(CH_2CH_3)_2$), 46.10 (д, C-17), 43.874 (д, C-5), 39.97 (т, C-1), 39.00 (д, C-9), 38.43 (т, C-11), 37.74 (т, C-4), 35.47 (с, C-10), 35.29 (д, C-20), 34.78 (д, C-8), 30.98 (т, C-23), 30.21 (т, C-22), 27.21 (т, C-15), 25.59 (т, C-6), 24.88 (т, C-7), 23.94 (т, C-16), 21.44 (к, C-21), 18.27 (к, C-18), 11.58 (к, $N(CH_2CH_3)_2$), 11.41 (к, C-19).

Метилловый эфир 2-[3'-(*N,N*-диэтиламино)-пропиламинометилден]-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (234).



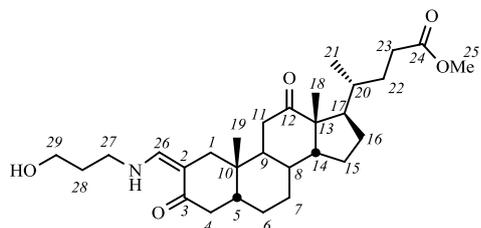
Выход продукта после хроматографии 59%. HRMS: m/z вычислено для $C_{33}H_{54}O_4N_2^+$ 542.4078; найдено 542.4076. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 9.86 (ддд, 1H, $J=12.3$, $J=6.2$, $J=6.2$, NH), 6.42 (д, 1H, $J=12.5$, H-26), 3.55 (с, 3H, CH_3 -25), 3.12 (м, 2H, CH_2 -27), 0.97 (с, 3H, CH_3 -18), 0.93-0.87 (м, 9H: CH_3 -19, $N(CH_2CH_3)_2$), 0.72 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH_3 -21). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ = 214.17 (с, C-12), 196.56 (с, C-3), 174.28 (с, C-24), 151.88 (д, C-26), 97.89 (с, C-2), 57.82 (д, C-14), 57.07 (с, C-13), 51.13 (к, C-25), 49.29 (т, C-29), 46.88 (т, C-27), 46.38 (т, $N(CH_2CH_3)_2$), 46.05 (д, C-17), 43.83 (д, C-5), 39.89 (т, C-1), 38.96 (д, C-9), 38.41 (т, C-11), 37.70 (т, C-4), 35.43 (с, C-10), 35.25 (д, C-20), 34.73 (д, C-8), 30.92 (т, C-23), 30.17 (т, C-22), 28.21 (т, C-28), 27.18 (т, C-15), 25.55 (т, C-6), 24.86 (т, C-7), 23.91 (т, C-16), 21.39 (к, C-21), 18.27 (к, C-18), 11.36 (к, C-19), 11.32 (к, $N(CH_2CH_3)_2$).

Метилловый эфир 2-[(2-гидроксиэтиламино)метилден]-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (235).



Выход продукта после хроматографии 69%. HRMS: m/z вычислено для $C_{28}H_{43}O_5N^+$ 473.3136; найдено 473.3135. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 9.72 (ддд, 1H, $J=12.5$, $J=6.4$, $J=6.4$, NH), 6.60 (д, 1H, $J=12.7$, H-26), 3.62 (м, 2H, CH_2 -28), 3.59 (с, 3H, CH_3 -25), 3.22 (м, 2H, CH_2 -27), 2.42 (дд, 1H, $J=12.3$, H-11), 1.00 (с, 3H, CH_3 -18), 0.95 (с, 3H, CH_3 -19), 0.72 (д, 3H, CH_3 -21, $J_{21,20}=6.5$). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ = 215.83 (с, C-12), 197.48 (с, C-3), 174.34 (с, C-24), 152.86 (д, C-26), 98.43 (с, C-2), 62.30 (т, C-28), 58.69 (д, C-14), 57.38 (с, C-13), 51.19 (к, C-25), 50.49 (т, C-27), 46.03 (д, C-17), 44.62 (д, C-5), 40.23 (т, C-1), 39.00 (д, C-9), 38.59 (т, C-11), 37.37 (т, C-4), 35.66 (с, C-10), 35.25 (д, C-20), 34.60 (д, C-8), 30.97 (т, C-23), 30.16 (т, C-22), 27.19 (т, C-15), 25.69 (т, C-6), 25.01 (т, C-7), 24.02 (т, C-16), 21.10 (к, C-18), 18.24 (к, C-21), 11.36 (к, C-19).

Метилловый эфир 2-[(3-гидроксипропиламино)метилден]-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (236).



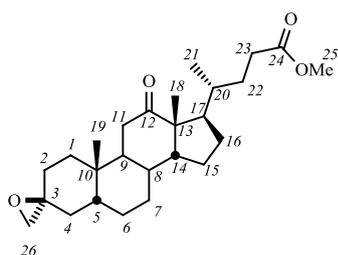
Выход продукта после хроматографии 67%. HRMS: m/z вычислено для $C_{29}H_{45}O_5N^+$ 487.3292; найдено 487.3280. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 9.62 (ддд, 1H, $J=12.4$, $J=6.3$, $J=6.3$, NH), 6.45 (д, 1H, $J=12.5$, H-26), 3.51 (с, 3H, CH_3 -25), 3.50 (м, 1H, H-29), 3.40 (м, 1H, H-29), 3.20 (м, 2H, CH_2 -27), 2.35 (дд, 1H,

$J=12.5$, H-11), 0.94 (с, 3H, CH₃-18), 0.88 (с, 3H, CH₃-19), 0.66 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.50 (с, C-12), 196.63 (с, C-3), 174.15 (с, C-24), 152.68 (д, C-26), 97.80 (с, C-2), 58.26 (д, C-14), 57.60 (т, C-29), 57.14 (с, C-13), 51.04 (к, C-25), 45.89 (д, C-17), 45.12 (т, C-27), 44.25 (д, C-5), 40.00 (т, C-1), 38.78 (д, C-9), 38.29 (т, C-11), 37.37 (т, C-4), 35.44 (с, C-10), 35.12 (д, C-20), 34.50 (д, C-8), 32.36 (т, C-23), 30.81 (т, C-22), 30.02 (т, C-15), 27.06 (т, C-28), 25.52 (т, C-6), 24.81 (т, C-7), 23.84 (т, C-16), 21.09 (к, C-18), 18.10 (к, C-21), 11.25 (к, C-19).

Взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (213) с метилидом диметилсульфоксония

Соединение **213** (2.0 г, 5.0 ммоль) и ДМСО (5 мл) перемешивали при комнатной температуре до образования гомогенной суспензии. NaN (57-63% в масле, 0.32 г, 7.5 ммоль) перемешивали в *n*-гексане (12 мл) 20 мин; после декантации растворителя добавили ДМСО (7.5 мл) и иодид триметилсульфоксония (1.7 г, 7.5 ммоль). Полученную смесь перемешивали 45 мин при комнатной температуре (для образования метилица диметилсульфоксония). Затем к метилиду добавили суспензию соединения **213** в ДМСО. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при комнатной температуре, затем разбавили дистиллированной водой. Образовавшийся осадок отфильтровали, промыли дистиллированной водой и сушили на воздухе. Получили сырой продукт **237** (1.9 г, 94%) в виде белого твердого вещества. Аналитически чистый образец **237** (0.29 г, 58%) получили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0.2–4% AcOEt в CHCl₃) сырого продукта (0.5 г) и последующей перекристаллизацией из MeOH.

Метилловый эфир 3 β -эпокси-12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (237).



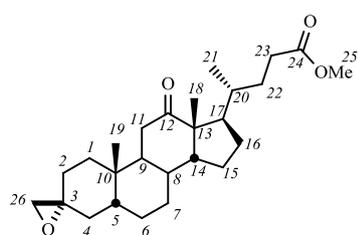
Тпл 140.7°C. $\alpha_D^{28} +128$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₆H₄₀O₄⁺ 416.2921; найдено 416.2922. Элем. ан.: вычислено С, 74.96%; Н, 9.68%; О, 15.36%; найдено С, 75.84%; Н, 9.76%; О, 15.23%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 2.59 (д, 1H, ² $J=4.7$, H-26), 2.57 (д, 1H, ² $J=4.7$, H-26'), 2.50 (дд, 1H, ² $J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.35 (м, 1H, H-23), 2.26-2.18 (м: 2H, 2.25 (дд, 1H, ² $J=J_{4a,5}=13.8$, H-4a(α)), [2.22]–H-23'), 2.02 (дд, 1H, ² $J=12.6$, $J_{11e,9}=4.7$, H-11e(α)), 1.99 (дд, 1H, $J_1=J_2=9.0$, H-17), 1.94-1.87 (м: 3H, [1.90]–H-2a(α), [1.90]–H-6, [1.90]–H-16), 1.87-1.65 (м: 5H, [1.83]–H-8, [1.79]–H-22, [1.78]–H-5, [1.77]–H-9, [1.70]–H-15), 1.59 (ддд, 1H, ² $J=14.4$, $J_{1e,2a}=3.8$, $J_{1e,2e}=2.7$, H-1e(α)), 1.50 (м, 1H, H-7e(β)), 1.40 (ддд, 1H, ² $J=J_{1a,2a}=14.4$, $J_{1a,2e}=4.0$, H-1a(β)), 1.39-1.19 (м: 6H, [1.35]–H-14, [1.34]–H-22', [1.32]–H-15', [1.31]–H-16', [1.26]–H-20, [1.23]–H-6'), 1.06 (м, 1H, H-7a(α)), 1.05 (с, 3H, CH₃-18), 1.00 (с, 3H, CH₃-19), 0.94 (дддд, 1H, ² $J=14.1$, $J_{2e,1a}=4.0$, $J_{2e,1e}=2.7$, $J_{2e,4e}=2.5$, H-2e(β)), 0.80 (д, 3H, $J_{20,21}=6.7$, CH₃-21), 0.79 (ддд, 1H, ² $J=14.4$, $J_{4e,5}=4.5$, $J_{4e,2e}=2.5$, H-4e(β)). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 213.67 (с, C-

12), 173.79 (с, С-24), 58.25 (д, С-14), 58.05 (с, С-3), 57.01 (с, С-13), **52.85 (т, С-26)**, 50.80 (к, С-25), 46.06 (д, С-17), 43.25 (д, С-9), 39.79 (д, С-5), 37.88 (т, С-11), 35.11 (д, С-20), 35.04 (д, С-8), 34.92 (с, С-10), 33.65 (т, С-1), 32.95 (т, С-4), 30.74 (т, С-23), 30.07 (т, С-22), 27.40 (т, С-2), 27.03 (т, С-16), 25.97 (т, С-6), 25.42 (т, С-7), 23.83 (т, С-15), 22.36 (к, С-18), 18.10 (к, С-21), 11.18 (к, С-19).

Взаимодействие метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (**213**) с метилидом диметилсульфония

Соединение **213** (0.35 г, 0.87 ммоль) и ДМСО (2 мл) перемешивали при комнатной температуре до образования гомогенной суспензии. NaH (57-63% в масле, 0.06 г, 1.3 ммоль) перемешивали в *n*-гексане (5 мл) 20 мин; после декантации растворителя, добавили ДМСО (2 мл). Полученную смесь охладили до 10°C и добавили иодид триметилсульфония (0.27 г, 1.3 ммоль) и суспензию **213** в ДМСО. Реакционную смесь перемешивали 3 часа при 10–12°C, затем разбавили Et₂O (15 мл) и H₂O (15 мл) и добавили насыщенный водный раствор NH₄Cl до достижения значения pH ~ 7. Органическую фазу отделили, водную – экстрагировали AcOEt. Объединенную органическую фазу промыли насыщенным водным раствором NaCl и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе, получили аморфное твердое вещество. Согласно данным ¹H и ¹³C ЯМР, сырой продукт содержал смесь соединений **237** : **238** в соотношении 1:5, также сложноэфирная группа этих соединений частично гидролизовалась в ходе реакции. Поэтому сырой продукт обработали раствором диазометана в Et₂O для получения метилового эфира вместо карбоксильной группы. Полученное желтоватое аморфное твердое вещество (0.29 г, 80%) очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0.2-4% AcOEt в CH₂Cl₂), выделили фракцию со смесью **237** и **238** (соотношение 1:5) (0.08 г, 22%). Характеристические сигналы соединения **238** определили из данных ¹H и ¹³C ЯМР очищенной смеси **237** : **238** (отношение 1: 5).

Метилловый эфир 3 α -эпокси-12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (**238**).

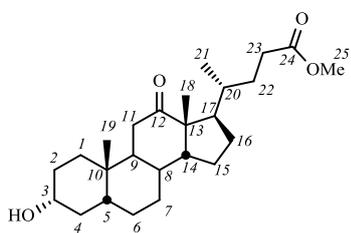


¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.52 (уш. с, 2H, H-26), 2.47 (дд, 1H, ²J=J_{11a,9}=12.5, H-11a(β)), 2.35 (м, 1H, H-23), 2.27-2.19 (м: 2H, [2.23]–H-4a(α), [2.22]–H-23'), 2.04 (дд, 1H, ²J=12.5, J_{11e,9}=4.3, H-11e(α)), 2.01 (м, 1H, H-17), 1.96-1.66 (м: 8H, [1.92]–H-16, [1.90]–H-2a(α), [1.89]–H-6, [1.84]–H-9, [1.81]–H-20, [1.80]–H-22, [1.75]–H-1, [1.70]–H-15), 1.62 (м, 1H, H-5), 1.51 (м, 1H, H-7e(β)), 1.42-1.15 (м, 7H: [1.38]–H-14, [1.36]–H-22', [1.31]–H-16', [1.30]–H-15', [1.28]–H-6', [1.26]–H-8, 1.20 (ддд, 1H, ²J=J_{1a,2a}=14.4, J_{1a,2e}=3.8, H-1a(β)), 1.09 (м, 1H, H-7a(α)), 1.04 (с, 3H, CH₃-18), 1.00 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (м, 1H, H-2e(β)), 0.83

(д, 3H, $J_{20,21}=6.6$, CH₃-21), 0.83 (м, 1H, H-4e(β)). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 214.13 (с, C-12), 174.45 (с, C-24), 59.58 (с, C-3), 58.41 (д, C-14), 57.39 (с, C-13), **55.08 (т, C-26)**, 51.26 (к, C-25), 46.42 (д, C-17), 43.70 (д, C-9), 42.51 (д, C-5), 38.07 (т, C-11), 36.03 (т, C-1), 35.54 (д, C-20), 35.52 (д, C-8), 35.47 (с, C-10), 34.02 (т, C-4), 31.20 (т, C-23), 30.43 (т, C-22), 28.40 (т, C-2), 27.37 (т, C-16), 26.78 (т, C-6), 25.81 (т, C-7), 24.20 (т, C-15), 22.64 (к, C-18), 18.48 (к, C-21), 11.59 (к, C-19).

Метилловый эфир 3α-гидрокси-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (239)

К раствору метилового эфира 3α-ацетокси-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (**215**) (0.6 г, 1.3 ммоль) в MeOH (16 мл) прибавили раствор KOH (0.8 г, 15 ммоль) в MeOH (10 мл). Реакционную смесь перемешивали 1 ч при комнатной температуре (ход реакции контролировали с помощью ТСХ; CHCl₃ : AcOEt, 20: 3), затем добавили 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH 3-4. Растворитель удалили на роторном испарителе. Полученный твердый остаток растворили в AcOEt. Органическую фазу промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃, NaCl и сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе, получили желтое аморфное вещество. Сырой продукт (0.6 г) очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–20% AcOEt в CH₂Cl₂) получили соединение **239** (0.35 г, выход 64%) в виде бесцветного аморфного вещества.



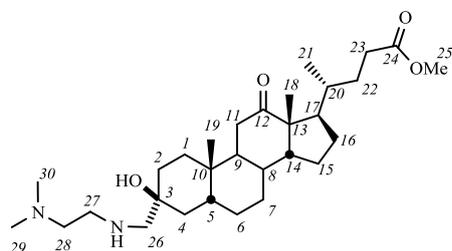
Тпл 106.7-110°C [лит.²⁵⁵ 112.0-113.6°C (водн. ацетон)]. α_D^{27.7} +104 (с 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₂₅H₄₀O₄⁺ 404.2921; найдено 404.2924. Элем. ан.: вычислено C, 74.22%; H, 9.97%; O, 15.82%; найдено C, 73.05%; H, 9.30%; O 16.17%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.61 (с, 3H, CH₃-25), 3.56 (м, 1H, H-3), 2.42 (дд, 1H, ²J=J_{11a,9}=12.4, H-11a(β)), 2.34 (м, 1H, H-23), 2.21 (м, 1H, H-23'), 2.03-1.53 (м: 11H, [2.00]–H-11e(α), [1.96]–H-17, [1.89]–H-16, [1.84]–H-6, [1.78]–H-22, [1.76]–H-8, [1.80]–H-9, [1.67]–H-15, [1.59]–H-4, [1.64]–H-2, [1.60]–H-1), 1.52-1.39 (м: 3H, [1.48]–H-4', [1.44]–H-5, [1.47]–H-7), 1.38-1.18 (м: 7H, [1.33]–H-22', [1.30]–H-14, [1.28]–H-16', [1.27]–H-2', [1.27]–H-6', [1.27]–H-15', [1.23]–H-20), 1.07 (м, 1H, H-7'), 1.00 (м, 1H, H-1'), 0.96 (с, 3H, CH₃-19), 0.96 (с, 3H, CH₃-18), 0.79 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 214.73 (с, C-12), 174.54 (с, C-24), 71.16 (д, C-3), 58.46 (д, C-14), 57.32 (с, C-13), 51.33 (к, C-25), 46.27 (д, C-17), 43.92 (д, C-9), 41.37 (д, C-5), 37.94 (т, C-11), 36.09 (т, C-4), 35.52 (д, C-8), 35.45 (д, C-20), 35.17 (с, C-10 или C-1), 35.08 (т, C-10 или C-1), 31.14 (т, C-23), 30.33 (т, C-22), 30.17 (т, C-2), 27.36 (т, C-16), 26.94 (т, C-6), 25.91 (т, C-7), 24.17 (т, C-15), 22.63 (к, C-19), 18.42 (к, C-21), 11.52 (к, C-18).

Общая методика раскрытия эпоксидного цикла метилового эфира 3 β -эпокси-12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты (237) аминами

Рассчитанные количества эпоксида **237** (1 экв.), амина (1.5 экв.) и 3-5 капель NEt_3 в MeOH (10-25 мл) кипятили 2 часа. Ход реакции контролировали ТСХ ($\text{MeOH} : \text{CHCl}_3 = 1.5 : 20$ или $3 : 20$ (для **240**, **241**, **243**, **244**, **246**, **247**), $\text{MeOH} : \text{CH}_2\text{Cl}_2 = 2 : 20$ (для **242**, **245**), $\text{AcOEt} : \text{CHCl}_3 = 3 : 20$ (для **248**). Затем реакционную смесь упаривали досуха и повторно растворяли в Et_2O (для соединений **243**, **244**), в AcOEt (для соединений **240–242**, **245**, **248**) в смеси CHCl_3 и Et_2O (для соединений **246**, **247**). Органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl , затем водой, сушили над безводным MgSO_4 и растворитель удаляли на ротаторном испарителе.

Метилвый эфир 3 β -гидрокси-3 α -((2-(диметиламино)этиламино)метил)-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (240)

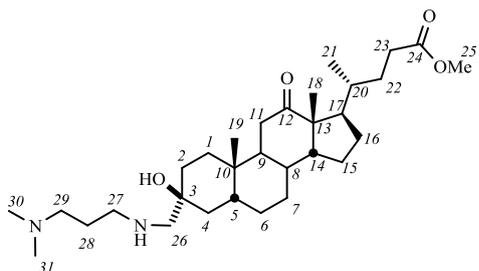
По общей методике из эпоксида **237** (2.0 г, 4.8 ммоль) и N,N -диметилэтилендиамина (0.8 мл, 7.2 ммоль) получили продукт **240** в виде желтого масла (2.4 г, 99%). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–25% MeOH в CH_2Cl_2 ; затем Al_2O_3 , градиент 30–50% AcOEt в n -гексане), получили соединение **240** (1.4 г, 58%) в виде бесцветного аморфного вещества.



Тпл 81.2–82.7°C. $\alpha_D^{23.5} +94$ (c 0.10, CHCl_3). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 504.3922; найдено 503.3837; m/z вычислено для $[\text{M}-\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_4^+$) 503.3843. ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 3.63$ (с, 3H, CH_3 -25), 2.69 (дд, 2H, $J=J=6.0$, CH_2 -26), 2.48 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.44 (с, 2H, CH_2 -28), 2.37 (м, 2H, CH_2 -27), 2.34 (м, 1H, H-23), 2.19 (м, 1H, H-23'), 2.19 (с, 6H, CH_3 -29, CH_3 -30), 2.01-1.94 (м: 2H, [1.98]–H-17, [1.98]–H-11e(α)), 1.93-1.71 (м: 5H, [1.88]–H-16, [1.87]–H-6, [1.80]–H-5, [1.78]–H-22, [1.77]–H-8), 1.71-1.61 (м: 2H, [1.67]–H-15, [1.67]–H-9), 1.53-1.41 (м: 3H, [1.49]–H-4, [1.48]–H-1, [1.45]–H-7), 1.40-1.10 (м: 10H, [1.34]–H-22', [1.36]–H-1', [1.31]–H-14, [1.28]–H-15', [1.28]–H-16', [1.23]–H-20, [1.19]–H-6', [1.14]–H-4', H-2, H-2'), 1.00 (с, 3H, CH_3 -19), 0.99 (м, 1H, H-7'), 0.97 (с, 3H, CH_3 -18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH_3 -21). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 215.31$ (с, C-12), 174.54 (с, C-24), 70.05 (с, C-3), 60.53 (т, C-28), 58.81 (т, C-27), 58.78 (д, C-14), 57.41 (с, C-13), 51.33 (к, C-25), 47.77 (т, C-26), 46.28 (д, C-17), 45.28 (к, C-29, C-30), 43.52 (д, C-9), 38.31 (т, C-11), 37.39 (д, C-5), 36.17 (т, C-4), 35.63 (с, C-10), 35.46 (д, C-20), 35.35 (д, C-8), 31.35 (т, C-1), 31.14 (т, C-23), 30.36, 30.31, 27.38 (т, C-16), 26.46 (т, C-6), 25.87 (т, C-7), 24.17 (т, C-15), 22.80 (к, C-19), 18.44 (к, C-21), 11.53 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((3-(диметиламино)пропиламино)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (241)

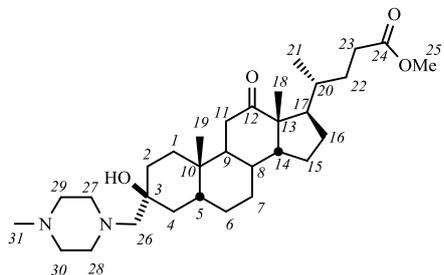
По общей методике из эпоксида **237** (2.0 г, 4.8 ммоль) и *N,N*-диметил-1,3-пропандиамина (0.9 мл, 7.2 ммоль) получили продукт **241** в виде желтого масла (2.4 г, 96%). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–15% MeOH в CH₂Cl₂; затем Al₂O₃, градиент 0–7% MeOH в CHCl₃), получили соединение **241** (0.65 г, 26%) в виде бесцветного аморфного вещества.



Тпл 85.0°C [разложение]. $\alpha_D^{24.5} +86$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₁H₅₄N₂O₄⁺ 518.4078; найдено 518.4068. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 2.70 (дд, 2H, $J=J=6.7$, CH₂-26), 2.50-2.42 (м: 3H, [2.47]–H-11 α (β), [2.46]–H-29, [2.46]–H-29'), 2.38-2.28 (м: 3H, [2.34]–H-23, [2.32]–H-27, [2.32]–H-27'), 2.21 (м, 1H, H-23'), 2.19 (с, 6H, CH₃-30, CH₃-31), 2.02-1.94 (м: 2H, [1.98]–H-17, [1.98]–H-11 e (α)), 1.93-1.83 (м: 2H, [1.89]–H-16, [1.88]–H-6), 1.83-1.72 (м: 3H, [1.81]–H-5, [1.79]–H-22, [1.77]–H-8), 1.71-1.59 (м: 4H, [1.66]–H-15, [1.66]–H-9, [1.63]–CH₂-28), 1.54-1.42 (м: 3H, [1.50]–H-4, [1.49]–H-1, [1.46]–H-7), 1.40-1.10 (м: 10H, [1.34]–H-22', [1.37]–H-1', [1.32]–H-14, [1.30]–H-15', [1.30]–H-2, [1.29]–H-16', [1.24]–H-20, [1.20]–H-6', [1.20]–H-2', [1.14]–H-4'), 1.01 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (м, 1H, H-7'), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.22 (с, C-12), 174.53 (с, C-24), 69.93 (с, C-3), 60.30 (т, C-29), 58.78 (д, C-14), 58.80 (т, C-27), 57.44 (с, C-13), 51.33 (к, C-25), **49.05** (т, C-26), 46.33 (д, C-17), 45.32 (к, C-30, C-31), 43.54 (д, C-9), 38.32 (т, C-11), 37.37 (д, C-5), 36.18 (т, C-4), 35.65 (с, C-10), 35.48 (д, C-20), 35.38 (д, C-8), 31.32 (т, C-1), 31.16 (т, C-23), 30.38 (т, C-22), 30.28 (т, C-2), 27.39 (т, C-16), 27.16 (т, C-28), 26.49 (т, C-6), 25.90 (т, C-7), 24.19 (т, C-15), 22.82 (к, C-19), 18.45 (к, C-21), 11.55 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((4'-метилпиперазин-1-ил)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (242)

По общей методике из эпоксида **237** (1.0 г, 2.4 ммоль) и 1-метилпиперазина (0.4 мл, 3.6 ммоль) получили продукт **242** (1.1 г, 89%) в виде белого аморфного вещества. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–5% MeOH в CH₂Cl₂), получили



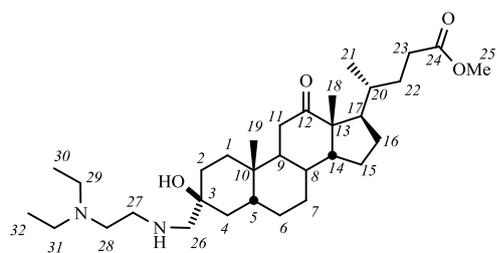
соединение **242** (0.96 г, выход 77%) в виде белого твердого вещества.

Тпл 99.1–99.7°C. $\alpha_D^{29.9} +130$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₁H₅₂N₂O₄⁺ 516.3922; найдено 515.3847; m/z вычислено для [M–H]⁺ (C₃₁H₅₁O₄N₂⁺) 515.3843. ¹H ЯМР

(CDCl₃): δ = 3.59 (с, 3H, CH₃-25), 3.18 (ш.с., OH), 2.59 (ш.с., 4H, CH₂-27, CH₂-28), 2.43 (дд, 1H, $J=12.7$, H-11a(β)), 2.38 (ш.с., 4H, CH₂-29, CH₂-30), 2.32 (м, 1H, H-23), 2.22 (с, 3H, CH₃-31), 2.20 (м, 2H, CH₂-26), 2.19 (м, 1H, H-23'), 1.99-1.92 (м: 2H, [1.96]–H-17, [1.95]–H-11e(α)), 1.91-1.80 (м: 2H, [1.86]–H-16, [1.84]–H-6), 1.80-1.70 (м: 3H, [1.77]–H-5, [1.77]–H-22, [1.74]–H-8), 1.67-1.58 (м: 2H, [1.65]–H-15, [1.62]–H-9), 1.51-1.39 (м: 3H, [1.47]–H-4, [1.45]–H-1, [1.43]–H-7), 1.36-1.12 (м: 9H, [1.33]–H-1', [1.31]–H-22', [1.30]–H-14, [1.27]–H-2, [1.25]–H-15', [1.25]–H-16', [1.21]–H-20, [1.18]–H-2', [1.16]–H-6'), 1.06 (м, 1H, H-4'), 0.98 (с, 3H, CH₃-19), 0.96 (м, 1H, H-7'), 0.95 (с, 3H, CH₃-18), 0.77 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.06 (с, C-12), 174.44 (с, C-24), 70.34 (с, C-3), **68.53** (т, C-26), 58.68 (д, C-14), 57.35 (с, C-13), 57.38 (т, C-27, C-28), 55.19 (т, C-29, C-30), 51.26 (к, C-25), 46.25 (д, C-17), 45.74 (к, C-31), 43.41 (д, C-9), 38.25 (т, C-11), 37.49 (д, C-5), 36.88 (т, C-4), 35.41 (д, C-20), 35.38 (с, C-10), 35.30 (д, C-8), 31.46 (т, C-1), 31.22 (т, C-2), 31.08 (т, C-23), 30.31 (т, C-22), 27.32 (т, C-16), 26.43 (т, C-6), 25.80 (т, C-7), 24.12 (т, C-15), 22.77 (к, C-19), 18.40 (к, C-21), 11.48 (к, C-18).

Метилловый эфир 3 β -гидрокси-3 α -((2-(диэтиламино)этиламино)метил)-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (243)

По общей методике из эпоксида **237** (0.60 г, 1.4 ммоль) и *N,N*-диметилэтилендиамина (0.3 мл, 2.16 ммоль) получили продукт **243** в виде желтого масла (0.67 г, 87%). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–30% MeOH в CH₂Cl₂), получили соединение **243** (0.32 г, 42%) в виде бесцветного аморфного вещества.

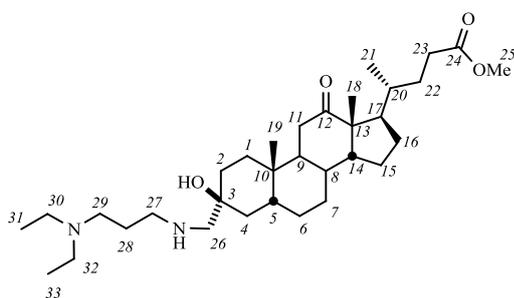


Тпл 70.7-78.8°C. $\alpha_D^{29.9} +99^\circ$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₂H₅₆N₂O₄⁺ 532.4235; найдено 514.4130; m/z вычислено для [M–H₂O]⁺ (C₃₂H₅₄N₂O₃⁺) 514.4129. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.58 (с, 3H, CH₃-25), 3.10 (ш. с., OH), 2.64 (дд, 2H, $J=J=6.0$, CH₂-26), 2.48 (м, 6H, CH₂-27, CH₂-29, CH₂-31), 2.42 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.41 (м, 2H, CH₂-28), 2.31 (м, 1H, H-23), 2.19 (м, 1H, H-23'), 1.98-1.90 (м: 2H, [1.95]–H-17, [1.95]–H-11e(α)), 1.90-1.80 (м: 2H, [1.86]–H-16, [1.84]–H-6), 1.80-1.70 (м: 3H, [1.77]–H-5, [1.76]–H-22, [1.74]–H-8), 1.68-1.58 (м: 2H, [1.64]–H-15, [1.63]–H-9), 1.50-1.38 (м: 3H, [1.47]–H-4, [1.45]–H-1, [1.42]–H-7), 1.37-1.07 (м: 10H, [1.34]–H-1', [1.28]–H-14, [1.25]–H-15', [1.25]–H-16', [1.20]–H-20, [1.16]–H-6', [1.10]–H-4', H-22', H-2, H-2'), 1.02-0.89 (м: 13H, 0.98 (с, 3H, CH₃-19), 0.96 (м, 1H, H-7'), 0.95 (дд, 6H, $J=J=7.1$, CH₃-30, CH₃-32), 0.94 (с, 3H, CH₃-18)), 0.77 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.12 (с, C-12), 174.41 (с, C-24), 69.93 (с, C-3), 60.42 (т, C-28), 58.67 (д, C-14), 57.33 (с, C-13), 52.24 (т, C-27), 51.23 (к, C-25), **47.90** (т, C-26), 45.80 (к, C-29, C-31), 46.22 (д, C-17), 43.44 (д, C-9), 38.23 (т, C-11), 37.32 (д, C-5), 36.16 (т, C-4), 35.55 (с, C-10), 35.38 (д, C-20), 35.29 (д, C-8), 31.30 (т, C-1),

31.06 (т, С-23), 30.29 (т, С-22 или С-2), 30.28 (т, С-22 или С-2), 27.30 (т, С-16), 26.40 (т, С-6), 25.80 (т, С-7), 24.10 (т, С-15), 22.74 (к, С-19), 18.37 (к, С-21), 11.45 (к, С-30, С-32), 11.53 (к, С-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((3-(диэтиламино)пропиламино)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (244)

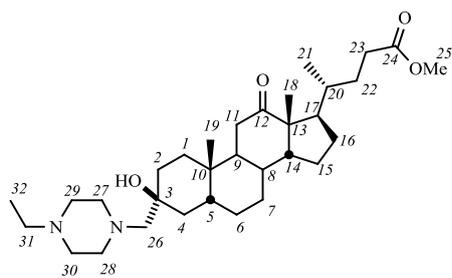
По общей методике из эпоксида **237** (0.60 г, 1.44 ммоль) и *N,N*-диметил-1,3-пропандиамина (0.34 мл, 2.16 ммоль) получили продукт **244** в виде желтого масла (0.60 г, 76%). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–50% MeOH в CH₂Cl₂), получили соединение **244** (0.35 г, выход 45%) в виде бесцветного аморфного вещества.



Тпл 55.1°C [разложение]. $\alpha_D^{29.9} +99$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₃H₅₈N₂O₄⁺ 546.4391; найдено 528.4289; m/z вычислено для [M–H₂O]⁺ (C₃₃H₅₆N₂O₃⁺) 528.4286. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.58 (с, 3H, CH₃-25), 2.62 (дд, 2H, $J=J=6.6$, CH₂-26), 2.47-2.35 (м: 9H, [2.44]–CH₂-27, [2.42]–H-11a(β), [2.41]–CH₂-30, [2.41]–CH₂-32, [2.39]–CH₂-29), 2.31 (м, 1H, H-23), 2.17 (м, 1H, H-23'), 1.98-1.90 (м: 2H, [1.94]–H-17, [1.94]–H-11e(α)), 1.89-1.80 (м: 2H, [1.85]–H-16, [1.84]–H-6), 1.80-1.69 (м: 3H, [1.78]–H-5, [1.75]–H-22, [1.73]–H-8), 1.66-1.54 (м: 4H, [1.63]–H-15, [1.62]–H-9, [1.57]–CH₂-28), 1.50-1.39 (м: 3H, [1.46]–H-4, [1.45]–H-1, [1.42]–H-7), 1.36-1.06 (м: 10H, [1.23]–H-22', [1.33]–H-1', [1.30]–H-2, [1.28]–H-14, [1.25]–H-15', [1.25]–H-16', [1.20]–H-20, [1.15]–H-6', [1.14]–H-2', [1.10]–H-4'), 1.00-0.90 (м: 13H, 0.97 (с, 3H, CH₃-19), 0.95 (м, 1H, H-7'), 0.94 (дд, 6H, $J=J=7.1$, CH₃-30, CH₃-32), 0.94 (с, 3H, CH₃-18)), 0.77 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.08 (с, С-12), 174.39 (с, С-24), 69.73 (с, С-3), 60.31 (т, С-29), 58.66 (д, С-14), 57.32 (с, С-13), 51.22 (к, С-25), 51.15 (к, С-30, С-32), **49.38** (т, С-26), 46.53 (т, С-27), 46.22 (д, С-17), 43.43 (д, С-9), 38.22 (т, С-11), 37.30 (д, С-5), 36.16 (т, С-4), 35.54 (с, С-10), 35.37 (д, С-20), 35.28 (д, С-8), 31.26 (т, С-1), 31.04 (т, С-23), 30.28 (т, С-22), 30.27 (т, С-2), 27.29 (т, С-16), 26.63 (т, С-28), 26.41 (т, С-6), 25.79 (т, С-7), 24.09 (т, С-15), 22.73 (к, С-19), 18.36 (к, С-21), 11.45 (к, С-30, С-32), 11.37 (к, С-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((4'-этилпиперазин-1-ил)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (245)

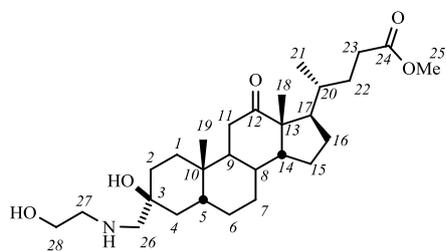
По общей методике из эпоксида **237** (1.0 г, 2.4 ммоль) и 1-этилпиперазина (0.46 мл, 3.6 ммоль) получили продукт **245** (1.3 г, количественный выход) в виде белого твердого вещества. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–5% MeOH в CH₂Cl₂), получили соединение **245** (0.99 г, выход 78%) в виде белого твердого вещества.



Тпл 104.3–113.7°C. $\alpha_D^{29.9} +130$ (с 0.10, CHCl_3). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_4^+$ 530.4078; найдено 529.3995; m/z вычислено для $[\text{M}-\text{H}]^+$ ($\text{C}_{32}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_4^+$) 529.4000. ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 3.62$ (с, 3H, CH_3 -25), 3.16 (ш.с., OH), 2.64 (ш.с., 4H, CH_2 -27, CH_2 -28), 2.53-2.30 (м: 8H, 2.45 (дд, 1H, $J=12.7$, H-11 α (β)), [2.38]– CH_2 -29, [2.38]– CH_2 -30), 2.38 (дд, 2H, $J=J=7.2$, CH_2 -32), 2.34 (м, 1H, H-23), 2.20 (м, 2H, CH_2 -26), 2.21 (м, 1H, H-23'), 2.02-1.94 (м: 2H, [1.98]–H-17, [1.97]–H-11 e (α)), 1.93-1.82 (м: 2H, [1.88]–H-16, [1.87]–H-6), 1.82-1.72 (м: 3H, [1.79]–H-5, [1.79]–H-22, [1.76]–H-8), 1.70-1.60 (м: 2H, [1.67]–H-15, [1.64]–H-9), 1.53-1.41 (м: 3H, [1.50]–H-4, [1.47]–H-1, [1.45]–H-7), 1.39-1.14 (м: 9H, [1.36]–H-1', [1.33]–H-22', [1.32]–H-14, [1.29]–H-2, [1.29]–H-15', [1.28]–H-16', [1.23]–H-20, [1.20]–H-2', [1.18]–H-6'), 1.08 (м, 1H, H-4'), 1.05 (дд, 3H, $J=J=7.2$, CH_3 -32), 1.00 (с, 3H, CH_3 -19), 0.98 (м, 1H, H-7'), 0.97 (с, 3H, CH_3 -18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.7$, CH_3 -21). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 215.15$ (с, C-12), 174.52 (с, C-24), 70.37 (с, C-3), **68.64** (т, C-26), 58.74 (д, C-14), 57.41 (с, C-13), 55.42 (т, C-27, C-28), 52.92 (т, C-31), 52.11 (т, C-29, C-30), 51.32 (к, C-25), 46.30 (д, C-17), 43.48 (д, C-9), 38.31 (т, C-11), 37.55 (д, C-5), 36.96 (т, C-4), 35.47 (д, C-20), 35.43 (с, C-10), 35.35 (д, C-8), 31.52 (т, C-1), 31.31 (т, C-2), 31.14 (т, C-23), 30.37 (т, C-22), 27.38 (т, C-16), 26.48 (т, C-6), 25.85 (т, C-7), 24.17 (т, C-15), 22.82 (к, C-19), 18.44 (к, C-21), 11.70 (к, C-32), 11.54 (к, C-18).

Метилловый эфир 3 β -гидрокси-3 α -((2-гидроксиэтиламино)метил)-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (246)

По общей методике из эпоксида **237** (1.2 г, 2.9 ммоль) и 2-аминоэтанола (0.26 мл, 4.3 ммоль) получили продукт **246** (1.3 г, 97%) в виде белого аморфного вещества. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–20% MeOH в CHCl_3), получили соединение **246** (0.83 г, 60%) в виде белого твердого вещества.

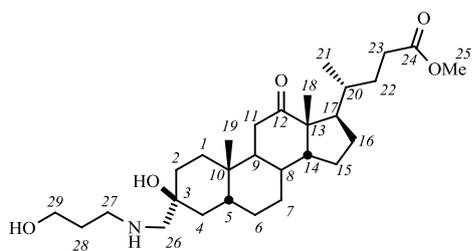


Тпл 154.3–158.4°C. $\alpha_D^{23.7} +90$ (с 0.10, CHCl_3). HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{NO}_5^+$ 477.3449; найдено 477.3456. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 4.43$ (ш.с., OH-28), 3.88 (ш.с., OH-3), 3.57 (с, 3H, CH_3 -25), 3.43 (м, 2H, CH_2 -28), 3.32 (с, NH), 2.55 (дд, 2H, $J=5.7$, CH_2 -27), 2.48 (дд, 1H, $J=12.7$, H-11 α (β)), 2.37 (с, 2H, CH_2 -26), 2.33 (м, 1H, H-23), 2.21 (м, 1H, H-23'), 1.90-1.57 (м: 9H, [1.98]–H-17, [1.98]–H-11 e (α)), 1.93–1.83 (м: 2H, [1.89]–H-16, [1.88]–H-6), 1.83-1.72 (м: 3H, [1.81]–H-5, [1.79]–H-22, [1.77]–H-8), 1.71-1.59 (м: 4H, [1.66]–H-15, [1.66]–H-9, [1.63]– CH_2 -28), 1.54-1.42 (м: 3H, [1.50]–H-4, [1.49]–H-1, [1.46]–H-7), 1.40-1.10 (м: 10H, [1.34]–H-22', [1.37]–H-1', [1.32]–H-14, [1.30]–H-15', [1.30]–H-2, [1.29]–H-16', [1.24]–H-20, [1.20]–H-6', [1.20]–H-2', [1.14]–H-4'), 1.01 (с, 3H, CH_3 -19), 1.00 (м, 1H,

H-7'), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (DMSO-d₆): δ = 213.78 (с, C-12), 173.64 (с, C-24), 70.32 (с, C-3), **61.51 (т, C-26)**, 60.38 (т, C-28), 57.91 (д, C-14), 56.81 (с, C-13), 52.61 (т, C-27), 51.17 (к, C-25), 46.14 (д, C-17), 42.66 (д, C-9), 37.99 (т, C-11), 36.92 (д, C-5), 35.70 (т, C-4), 35.38 (с, C-10), 34.97 (д, C-20), 34.90 (д, C-8), 31.09 (т, C-2), 30.65 (т, C-23), 30.27 (т, C-22), 29.77 (т, C-1), 27.00 (т, C-16), 26.42 (т, C-6), 25.56 (т, C-7), 23.78 (т, C-15), 22.90 (к, C-19), 18.56 (к, C-21), 11.27 (к, C-18).

Метилловый эфир 3 β -гидрокси-3 α -((3'-гидроксипропиламино)метил)-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (247)

По общей методике из эпоксида **237** (1.2 г, 2.9 ммоль) и 3-амино-1-пропанола (0.34 мл, 4.3 ммоль) получили продукт **247** (1.3 г, 97%) в виде белого аморфного вещества. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (Al₂O₃, 0–100% CH₂Cl₂ в бензоле; затем 0–5% MeOH в CHCl₃), получили соединение **247** (0.72 г, 51%) в виде белого твердого вещества.



Тпл 119.5°C [разложение]. $\alpha_D^{23.8} +84$ (с 0.10, CHCl₃).

HRMS: m/z вычислено для C₂₉H₄₉NO₅⁺ 491.3605; найдено 491.3607.

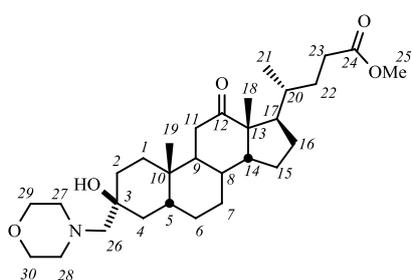
¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.75 (дд, 2H, $J=5.5$, CH₂-29), 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 3.53 (ш. с., OH), 2.86 (м, 2H, CH₂-27), 2.54 (д, 1H, $J=14.0$, H-26), 2.51 (д, 1H, $J=14.0$, H-26'),

2.46 (дд, 1H, $J=12.7$, H-11a(β)), 2.35 (м, 1H, H-23), 2.21 (м, 1H, H-23'), 2.02-1.94 (м: 2H, [1.97]–H-17, [1.97]–H-11e(α)), 1.93-1.83 (м: 2H, [1.89]–H-16, [1.87]–H-6), 1.82-1.60 (м: 7H, [1.78]–H-22, [1.77]–H-8, [1.76]–H-5, [1.72]–CH₂-28, [1.67]–H-15, [1.65]–H-9), 1.56 (дд, 1H, $J=13.6$, H-4), 1.51-1.15 (м: 12H, [1.46]–H-7, [1.43]–H-1, [1.36]–H-1', [1.36]–H-2, [1.32]–H-22', [1.31]–H-14, [1.28]–H-16', [1.27]–H-15', [1.26]–H-2', [1.24]–H-20, [1.22]–H-4', [1.20]–H-6'), 1.01 (с, 3H, CH₃-19), 0.99 (м, 1H, H-7'), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.07 (с, C-12), 174.52 (с, C-24), 70.58 (с, C-3), 60.82 (т, C-29), **60.75 (т, C-26)**, 58.67 (д, C-14), 57.42 (с, C-13), 51.32 (к, C-25), 49.47 (т, C-27), 46.31 (д, C-17), 43.44 (д, C-9), 38.26 (т, C-11), 37.30 (д, C-5), 35.90 (т, C-4), 35.65 (с, C-10), 35.46 (д, C-20), 35.35 (д, C-8), 31.16 (т, C-1), 31.16 (т, C-23), 30.52 (т, C-28), 30.37 (т, C-22), 30.19 (т, C-2), 27.36 (т, C-16), 26.38 (т, C-6), 25.85 (т, C-7), 24.16 (т, C-15), 22.85 (к, C-19), 18.44 (к, C-21), 11.53 (к, C-18).

Метилловый эфир 3 β -гидрокси-3 α -морфолинометил-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (248)

По общей методике из эпоксида **237** (1.0 г, 2.4 ммоль) и морфолина (0.31 мл, 3.6 ммоль) получили продукт **248** (1.2 г, 98%) в виде белого аморфного вещества. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, CH₂Cl₂), получили соединение **248** (1.1 г, 89%) в виде

белого твердого вещества. Аналитически чистый образец получили перекристаллизацией из смеси AcOEt – *n*-гексан.



Тпл 141.8–144.8°C. $\alpha_D^{29.9} +110$ (*c* 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₃₀H₄₉NO₅⁺ 503.3605; найдено 503.3596. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.65 (м, 4H, CH₂-29, CH₂-30), 3.61 (с, 3H, CH₃-25), 2.58 (ш.с., 4H, CH₂-27, CH₂-28), 2.45 (дд, 1H, *J*=12.7, H-11a(β)), 2.33 (м, 1H, H-23), 2.24 (с, 2H, CH₂-26), 2.20 (м, 1H, H-23'), 2.00–1.93 (м: 2H, [1.97]–H-17, [1.96]–H-11e(α)), 1.92–1.82 (м: 2H, [1.87]–H-16, [1.86]–H-6), 1.82–1.72 (м: 3H, [1.79]–H-5, [1.77]–H-22, [1.76]–H-8), 1.70–1.60 (м: 2H, [1.65]–H-15, [1.64]–H-9), 1.53–1.41 (м: 3H, [1.50]–H-4, [1.47]–H-1, [1.44]–H-7), 1.38–1.14 (м: 9H, [1.36]–H-1', [1.32]–H-22', [1.31]–H-14, [1.31]–H-2, [1.28]–H-15', [1.27]–H-16', [1.22]–H-20, [1.20]–H-2', [1.17]–H-6'), 1.10 (м, 1H, H-4'), 1.00 (с, 3H, CH₃-19), 0.97 (м, 1H, H-7'), 0.97 (с, 3H, CH₃-18), 0.79 (д, 3H, *J*_{21,20}=6.6, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.08 (с, C-12), 174.44 (с, C-24), 70.51 (с, C-3), **69.52** (т, C-26), 66.89 (т, C-29), 66.89 (т, C-30), 58.75 (д, C-14), 57.39 (с, C-13), 55.94 (т, C-27), 55.94 (т, C-28), 51.27 (к, C-25), 46.30 (д, C-17), 43.47 (д, C-9), 38.27 (т, C-11), 37.43 (д, C-5), 36.83 (т, C-4), 35.43 (д, C-20), 35.40 (с, C-10), 35.33 (д, C-8), 31.37 (т, C-1), 31.20 (т, C-2), 31.10 (т, C-23), 30.34 (т, C-22), 27.34 (т, C-16), 26.42 (т, C-6), 25.84 (т, C-7), 24.14 (т, C-15), 22.77 (к, C-19), 18.41 (к, C-21), 11.50 (к, C-18).

Общая методика раскрытия эпоксидного цикла метилового эфира 3β-эпокси-12-диоксо-5β-холан-24-овой кислоты (**237**) S-нуклеофилами

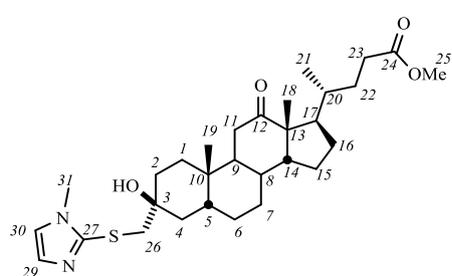
Расчитанные количества RSH (7.2 ммоль, 1.5 экв.) и NaOMe (0.4 г, 7.2 ммоль, 1.5 экв.) в MeOH (10 мл) перемешивали 20 минут, затем добавили эпоксид **237** (2.0 г, 4.8 ммоль, 1 экв.) и MeOH (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 1 день (до полного растворения эпоксида **237**). Ход реакции контролировали ТСХ, CHCl₃ : AcOEt = 20 : 3 для всех кроме **251**, для **251** MeOH : CH₂Cl₂ = 3 : 20.

Для соединений **251**, **254** и **255**: к реакционным смесям добавляли 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH 5–6, затем разбавляли водой. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали дистиллированной водой и сушили на воздухе.

Для соединений **249**, **250**, **252** и **253**: реакционные смеси концентрировали при пониженном давлении, разбавляли водой, и экстрагировали CH₂Cl₂ и Et₂O. Органическую фазу промывали насыщенным водным раствором NH₄Cl, сушили над безводным MgSO₄ и удаляли растворитель на роторном испарителе.

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((1'-метил-1H-имидазол-2'-илтио)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (249)

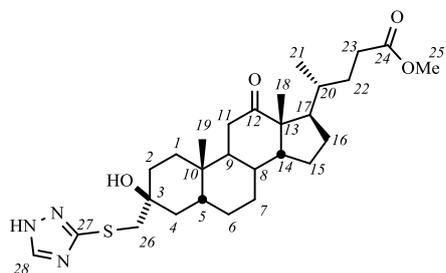
Сырой продукт (2.0 г) очищали колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–15% AcOEt в CH₂Cl₂), получали соединение **249** (1.4 г, выход 54%) в виде белого твердого вещества. Аналитически чистый образец получали перекристаллизацией из EtOH (1.2 г, выход 46%).



Тпл 167.1–167.3°C. $\alpha_D^{28} +118$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₀H₄₆N₂O₄S⁺ 530.3173; найдено 530.3167. Элем. ан.: вычислено С, 67.89%; Н, 8.74%; N, 5.28%; S, 6.04%; найдено С, 68.16%; Н, 8.47%; N, 5.39%, S 6.01%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 6.86 (д, 1H, $J=1.4$, H-28), 6.80 (д, 1H, $J=1.4$, H-29), 6.33 (ш. с, 1H, OH), 3.62 (с, 3H, CH₃-25), 3.54 (с, 3H, CH₃-30), 3.06 (д, 1H, $^2J=14.7$, H-26), 3.04 (д, 1H, $^2J=14.7$, H-26'), 2.47 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.35 (м, 1H, H-23), 2.21 (м, 1H, H-23'), 2.03–1.94 (м: 2H, [2.00]–H-11e(α), [1.99]–H-17), 1.92–1.83 (м: 3H, [1.89]–H-5, [1.89]–H-16, [1.88]–H-6), 1.82–1.73 (м: 2H, [1.79]–H-22, [1.78]–H-8), 1.72–1.63 (м: 2H, [1.68]–H-9, [1.67]–H-15), 1.63–1.49 (м: 3H, [1.60]–H-2, [1.58]–H-1, [1.55]–H-4), 1.49–1.38 (м: 3H, [1.46]–H-7, [1.44]–H-4', [1.40]–H-1'), 1.38–1.18 (м: 7H, [1.34]–H-22', [1.30]–H-14, [1.29]–H-15', [1.28]–H-16', [1.23]–H-20, [1.23]–H-2', [1.23]–H-6'), 1.02 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (м, 1H, H-7'), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.22 (с, C-12), 174.51 (с, C-24), 143.51 (с, C-27), 127.77 (д, C-28), 121.81 (д, C-29), 70.64 (с, C-3), 58.80 (д, C-14), 57.41 (с, C-13), 51.31 (к, C-25), **46.43 (т, C-26)**, 46.29 (д, C-17), 43.57 (д, C-9), 38.33 (т, C-11), 38.00 (т, C-4), 37.50 (д, C-5), 35.48 (с, C-10), 35.46 (д, C-20), 35.40 (д, C-8), 33.27 (к, C-30), 32.16 (т, C-2), 31.45 (т, C-1), 31.14 (т, C-23), 30.36 (т, C-22), 27.38 (т, C-16), 26.48 (т, C-6), 26.00 (т, C-7), 24.18 (т, C-15), 22.73 (к, C-19), 18.43 (к, C-21), 11.53 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((1H-1',2',4'-триазол-3'-илтио)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (250)

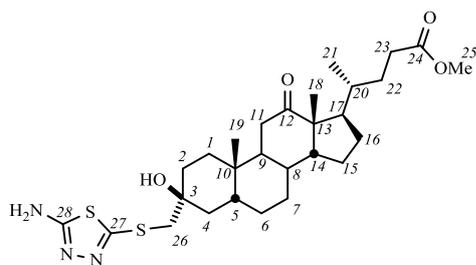
По общей методике из эпоксида **237** (1.7 г, 4.1 ммоль), 1H-1,2,4-триазол-3-тиола (0.6 г, 6.1 ммоль) и NaOMe (0.33 г, 6.1 ммоль) в MeOH (17 мл) получили продукт **250** (2.0 г, 94%). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–10% MeOH в CH₂Cl₂) и получили соединение **250** (1.2 г, выход 59%) в виде белого твердого вещества.



Тпл 72.4°C [разложение]. $\alpha_D^{27.5} +96$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₂₈H₄₃N₃O₄S⁺ 517.2969; найдено 517.2977. Элем. ан.: вычислено С, 64.96%; Н, 8.37%; N, 8.12%; S, 6.19%; найдено С, 64.39%; Н, 8.04%; N, 6.63%, S 6.28%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.99 (с, 1H, H-28), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 3.19 (д,

1H, $J=14.4$, H-26), 3.14 (д, 1H, $J=14.4$, H-26'), 2.48 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.7$, H-11a(β)), 2.36 (м, 1H, H-23), 2.22 (м, 1H, H-23'), 2.03-1.94 (м: 2H, [2.00]–H-17, [1.99]–H-11e(α)), 1.94-1.73 (м: 5H, [1.90]–H-16, [1.88]–H-6, [1.83]–H-5, [1.81]–H-22, [1.79]–H-8), 1.73-1.58 (м: 3H, [1.68]–H-15, [1.66]–H-9, [1.62]–H-4), 1.58-1.38 (м: 5H, [1.48]–H-7, [1.42]–H-4', H-2, H-1, H-1'), 1.38-1.19 (м: 7H, [1.35]–H-22', [1.32]–H-14, [1.30]–H-15', [1.29]–H-16', [1.24]–H-20, [1.22]–H-6', H-2'), 1.02 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (м, 1H, H-7'), 0.99 (с, 3H, CH₃-18), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.81 (с, C-12), 174.64 (с, C-24), 156.89 (с, C-27), 147.30 (д, C-28), 71.58 (с, C-3), 58.78 (д, C-14), 57.52 (с, C-13), 51.39 (к, C-25), 46.33 (д, C-17), **46.03 (т, C-26)**, 43.59 (д, C-9), 38.32 (т, C-11), 35.58 (д, C-5), 37.28 (т, C-4), 35.48 (с, C-10), 35.46 (д, C-20), 35.37 (д, C-8), 31.42 (т, C-2), 31.42 (т, C-1), 31.18 (т, C-23), 30.35 (т, C-22), 27.37 (т, C-16), 26.39 (т, C-6), 25.88 (т, C-7), 24.18 (т, C-15), 22.78 (к, C-19), 18.46 (к, C-21), 11.56 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((5'-амино-1',3',4'-тиадиазол-2'-илтио)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (251)



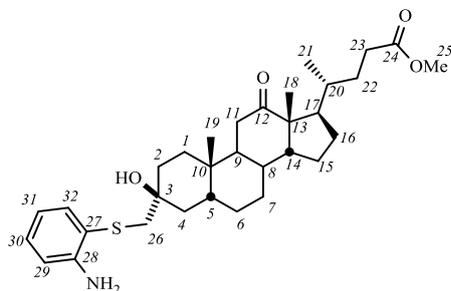
Сырой продукт (2.4 г) очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0.4–3.5% MeOH в CH₂Cl₂) получили соединение **251** (1.4 г, выход 52%) в виде белого твердого вещества.

Тпл 217.6-218.4°C. $\alpha_D^{30.4} +100$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z

вычислено для C₂₈H₄₃N₃O₄S₂⁺ 549.2690; найдено 549.2685. Элем. ан.: вычислено C, 61.17%; H, 7.88%; N, 7.64%; S, 11.66%; найдено C, 60.87%; H, 7.68%; N, 7.61%, S 11.71%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 5.90 (ш. с, 2H, NH₂), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 3.25 (д, 1H, $J=14.2$, H-26), 3.19 (д, 1H, $J=14.2$, H-26'), 2.46 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.36 (м, 1H, H-23), 2.22 (м, 1H, H-23'), 2.03-1.94 (м: 2H, [1.98]–H-11e(α), [1.98]–H-17), 1.94-1.73 (м: 5H, [1.89]–H-16, [1.89]–H-6, [1.82]–H-5, [1.80]–H-22, [1.76]–H-8), 1.73-1.58 (м: 3H, [1.69]–H-15, [1.67]–H-9, [1.63]–H-4), 1.54-1.43 (м: 3H, [1.47]–H-7, H-2, H-1), 1.43-1.17 (м: 9H, [1.38]–H-4', [1.35]–H-22', [1.34]–H-14, [1.30]–H-15', [1.29]–H-16', [1.24]–H-20, [1.22]–H-6', H-1', H-2'), 1.02 (с, 3H, CH₃-19), 1.00 (м, 1H, H-7'), 0.99 (с, 3H, CH₃-18), 0.81 (д, 3H, $J_{21,20}=6.5$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.38 (с, C-12), 174.57 (с, C-24), 168.88 (с, C-28), 155.58 (с, C-27), 71.36 (с, C-3), 58.72 (д, C-14), 57.46 (с, C-13), 51.36 (к, C-25), **47.80 (т, C-26)**, 46.32 (д, C-17), 43.50 (д, C-9), 38.28 (т, C-11), 37.52 (д, C-5), 37.21 (т, C-4), 35.47 (д, C-20), 35.44 (с, C-10), 35.37 (д, C-8), 32.39 (т, C-2 или C-1), 31.34 (т, C-2 или C-1), 31.18 (т, C-23), 30.37 (т, C-22), 27.38 (т, C-16), 26.37 (т, C-6), 25.91 (т, C-7), 24.18 (т, C-15), 22.74 (к, C-19), 18.47 (к, C-21), 11.54 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((2'-аминофенилтио)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (252)

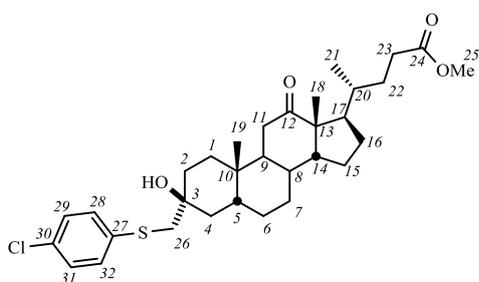
Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–15% AcOEt в CH₂Cl₂) получили соединение **252** (1.7 г, выход 65%) в виде коричневого аморфного вещества.



$\alpha_D^{28} +100$ (*c* 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₃₂H₄₇NO₄S⁺ 541.3220; найдено 541.3221. Элем. ан.: вычислено C, 70.94%; H, 8.74%; N, 2.59%; S, 5.92%; найдено C, 70.82%; H, 8.41%; N, 2.67%, S 5.73%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.38 (дд, 1H, *J*=7.6, *J*=1.3, H-32), 7.07 (м, 1H, H-30), 6.70-6.65 (м: 2H, [6.68]–H-29, [6.67]–H-31), 3.63 (с, 3H, CH₃-25), 2.83 (с, 2H, CH₂-26), 2.45 (дд, 1H, ²*J*=*J*_{11a,9}=12.6, H-11a(β)), 2.36 (м, 1H, H-23), 2.22 (м, 1H, H-23'), 2.03-1.94 (м: 2H, [1.99]–H-17, [1.98]–H-11e(α)), 1.94-1.72 (м: 5H, [1.90]–H-16, [1.87]–H-6, [1.82]–H-22, [1.78]–H-5, [1.77]–H-8), 1.71-1.56 (м: 3H, [1.68]–H-15, [1.65]–H-4, [1.65]–H-9), 1.50-1.15 (м: 12H, [1.46]–H-7, [1.36]–H-22', [1.30]–H-14, [1.29]–H-15', [1.29]–H-16', [1.26]–H-4', [1.24]–H-20, [1.19]–H-6', H-1, H-2, H-1', H-2'), 1.01 (с, 3H, CH₃-19), 0.98 (с, 3H, CH₃-18), 0.96 (м, 1H, H-7'), 0.81 (д, 3H, *J*_{21,20}=6.6, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.09 (с, C-12), 174.54 (с, C-24), 147.58 (д, C-28), 135.60 (д, C-32), 129.66 (д, C-30), 119.09 (д, C-31), 119.09 (с, C-27), 115.18 (д, C-29), 71.67 (с, C-3), 58.65 (д, C-14), 57.40 (с, C-13), 51.35 (к, C-25), **50.27 (т, C-26)**, 46.29 (д, C-17), 43.37 (д, C-9), 38.23 (т, C-11), 37.53 (д, C-5), 36.92 (т, C-4), 35.46 (д, C-20), 35.43 (с, C-10), 35.33 (д, C-8), 31.40 (т, C-1), 31.14 (т, C-23), 30.94 (т, C-2), 30.35 (т, C-22), 27.37 (т, C-16), 26.37 (т, C-6), 25.84 (т, C-7), 24.17 (т, C-15), 22.76 (к, C-19), 18.44 (к, C-21), 11.53 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((4'-хлорфенилтио)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (253)

Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, CH₂Cl₂; затем CHCl₃), получили соединение **253** (2.2 г, выход 78%) в виде белого твердого вещества.

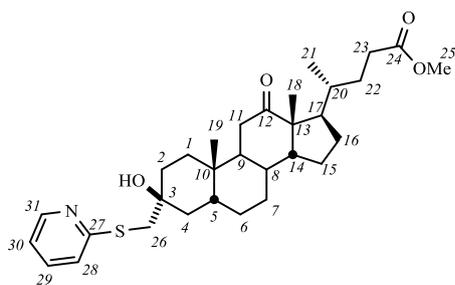


Тпл 141.2°C [разложение]. $\alpha_D^{28.3} +100$ (*c* 0.10, CHCl₃). HRMS: *m/z* вычислено для C₃₂H₄₅ClO₄S₂⁺ 560.2722; найдено 560.2721. Элем. ан.: вычислено C, 68.49%; H, 8.08%; Cl, 6.32%; S, 5.71%; найдено C, 68.67%; H, 7.87%; Cl, 6.12%, S 5.53%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.23 (м, 2H, H-28, H-32), 7.14 (м, 2H, H-29, H-31), 3.58 (с, 3H, CH₃-25), 2.95 (д, ²*J*=13.3, H-26), 2.93 (д, ²*J*=13.3, H-26'), 2.40 (дд, 1H, ²*J*=*J*_{11a,9}=12.6, H-11a(β)), 2.31 (м, 1H, H-23), 2.21-2.13 (м: 2H, [2.17]–H-23', [2.16]–OH), 1.97-1.90 (м: 2H, [1.94]–H-17, [1.93]–H-11e(α)), 1.88-1.78 (м: 2H, [1.84]–H-16, [1.83]–H-6), 1.78-1.68 (м: 3H, [1.74]–H-5, [1.74]–H-22, [1.72]–H-8), 1.68-

1.56 (м: 3H, [1.62]–H-15, [1.59]–H-9, [1.61]–H-4), 1.45-1.11 (м: 12H, [1.42]–H-7, [1.29]–H-22', [1.25]–H-14, [1.24]–H-15', [1.24]–H-16', [1.21]–H-4', [1.20]–H-20, [1.14]–H-6', H-1, H-2, H-1', H-2'), 0.96 (с, 3H, CH₃-19), 0.93 (с, 3H, CH₃-18), 0.91 (м, 1H, H-7'), 0.77 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 214.71 (с, C-12), 174.30 (с, C-24), 135.53 (с, C-27), 131.75 (с, C-30), 130.44 (д, C-28), 130.44 (д, C-32), 128.75 (д, C-29), 128.75 (д, C-31), 71.45 (с, C-3), 58.44 (д, C-14), 57.23 (с, C-13), 51.17 (к, C-25), **48.86** (т, C-26), 46.19 (д, C-17), 43.22 (д, C-9), 38.06 (т, C-11), 37.39 (д, C-5), 36.95 (т, C-4), 35.29 (д, C-20), 35.25 (с, C-10), 35.18 (д, C-8), 31.23 (т, C-1), 31.06 (т, C-2 или C-23), 30.98 (т, C-2 или C-23), 30.22 (т, C-22), 27.21 (т, C-16), 26.22 (т, C-6), 25.70 (т, C-7), 24.00 (т, C-15), 22.62 (к, C-19), 18.32 (к, C-21), 11.37 (к, C-18).

Метилловый эфир 3 β -гидрокси-3 α -((пиридин-2'-илтио)метил)-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты (254)

Сырой продукт (2.4 г, 93%) очистили перекристаллизацией из EtOH, получили соединение **254** (1.8 г, выход 71%) в виде желтоватых кристаллов.



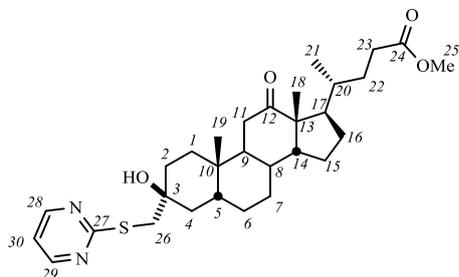
Тпл 136.3-137.4°C. $\alpha_D^{27.8} +120$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₁H₄₅NO₄S⁺ 527.3064; найдено 527.3065.

Элем. ан.: вычислено С, 70.55%; Н, 8.59%; N, 2.65%; S, 6.08%; найдено С, 70.70%; Н, 8.46%; N, 2.47%; S 5.71%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.26 (м, 1H, $J=5.0$, $J=1.8$, $J=0.9$, H-31), 7.43 (м, 1H, $J=8.0$, $J=7.4$, $J=1.8$, H-29), 7.23 (м, 1H, $J=8.0$, $J=0.9$,

$J=0.9$, H-28), 6.95 (м, 1H, $J=7.3$, $J=5.0$, $J=0.9$, H-30), 3.59 (с, 3H, CH₃-25), 3.18 (д, $^2J=14.7$, H-26), 3.12 (д, $^2J=14.7$, H-26'), 2.44 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.33 (м, 1H, H-23), 2.19 (м, 1H, H-23'), 2.01-1.92 (м: 2H, [1.97]–H-11e(α), [1.96]–H-17), 1.91-1.80 (м: 3H, [1.88]–H-16, [1.86]–H-6, [1.41]–H-5), 1.80-1.71 (м: 2H, [1.77]–H-22, [1.75]–H-8), 1.71-1.60 (м: 2H, [1.67]–H-9, [1.66]–H-15), 1.58-1.48 (м: 3H, [1.54]–H-4, [1.52]–H-2, H-1), 1.47-1.36 (м: 3H, [1.44]–H-7, [1.41]–H-2', [1.39]–H-4'), 1.35-1.16 (м: 7H, [1.32]–H-22', [1.29]–H-14, [1.27]–H-15', [1.27]–H-16', [1.25]–H-1', [1.22]–H-6', [1.21]–H-20), 1.00 (с, 3H, CH₃-19), 0.98 (м, 1H, H-7'), 0.96 (с, 3H, CH₃-18), 0.79 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 215.05 (с, C-12), 174.42 (с, C-24), 159.26 (с, C-27), 148.36 (д, C-31), 136.29 (д, C-29), 122.63 (д, C-28), 119.71 (д, C-30), 70.65 (с, C-3), 58.66 (д, C-14), 57.32 (с, C-13), 51.25 (к, C-25), 46.21 (д, C-17), **44.67** (т, C-26), 43.44 (д, C-9), 38.26 (т, C-11), 37.96 (т, C-4), 37.58 (д, C-5), 35.42 (с, C-10), 35.39 (д, C-20 или C-8), 35.32 (д, C-20 или C-8), 32.20 (т, C-1), 31.51 (т, C-2), 31.06 (т, C-23), 30.29 (т, C-22), 27.32 (т, C-16), 26.45 (т, C-6), 25.90 (т, C-7), 24.11 (т, C-15), 22.71 (к, C-19), 18.37 (к, C-21), 11.47 (к, C-18).

Метилловый эфир 3β-гидрокси-3α-((пиримидин-2'-илтио)метил)-12-оксо-5β-холан-24-овой кислоты (255)

Сырой продукт (2.2 г, 87%) очистили перекристаллизацией из EtOH и получили соединение **255** (1.6 г, выход 65%) в виде белых кристаллов.



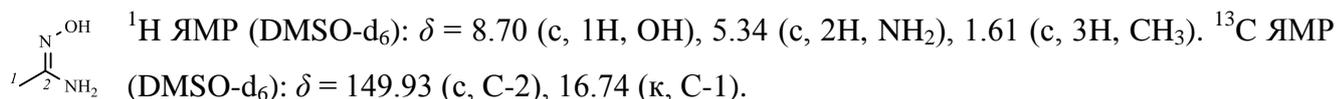
Тпл 149.8-151.0°C. $\alpha_D^{27.9} +108$ (с 0.10, CHCl₃). HRMS: m/z вычислено для C₃₀H₄₄N₂O₄S⁺ 528.3016; найдено 528.3020. Элем. ан.: вычислено С, 68.15%; Н, 8.39%; N, 5.30%; S, 6.06%; найдено С, 68.55%; Н, 8.06%; N, 5.25%, S 5.90%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.43 (д, 2H, $J_{28,30}=J_{29,30}=4.9$, H-28, H-29), 6.94 (дд, 1H, $J_{28,30}=J_{29,30}=4.9$, H-30), 3.60 (с, 3H, CH₃-25), 3.28 (д, $^2J=14.7$, H-26), 3.19 (д, $^2J=14.7$, H-26'), 2.45 (дд, 1H, $^2J=J_{11a,9}=12.6$, H-11a(β)), 2.33 (м, 1H, H-23), 2.20 (м, 1H, H-23'), 2.03-1.93 (м: 2H, [1.97]–H-17, [1.98]–H-11e(α)), 1.93-1.72 (м: 5H, [1.90]–H-6, [1.87]–H-16, [1.81]–H-5, [1.77]–H-22, [1.77]–H-8), 1.72-1.16 (м: 15H, [1.67]–H-9, [1.65]–H-15, [1.64]–H-4, [1.55]–H-1, [1.46]–H-7, [1.43]–H-2, [1.43]–H-2', [1.41]–H-4', [1.35]–H-22', [1.34]–H-1', [1.33]–H-14, [1.29]–H-15', [1.27]–H-16', [1.24]–H-20, [1.21]–H-6'), 1.00 (с, 3H, CH₃-19), 0.97 (с, 3H, CH₃-18), 0.97 (м, 1H, H-7'), 0.80 (д, 3H, $J_{21,20}=6.6$, CH₃-21). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 214.85 (с, C-12), 174.40 (с, C-24), 172.79 (с, C-27), 156.93 (д, C-28), 156.93 (д, C-29), 116.57 (д, C-30), 71.50 (с, C-3), 58.61 (д, C-14), 57.36 (с, C-13), 51.23 (к, C-25), 46.30 (д, C-17), **44.32** (т, C-26), 43.43 (д, C-9), 38.26 (т, C-11), 37.59 (т, C-4), 37.57 (д, C-5), 35.43 (с, C-10), 35.42 (д, C-20), 35.37 (д, C-8), 31.93 (т, C-1), 31.43 (т, C-2), 31.10 (т, C-23), 30.35 (т, C-22), 27.33 (т, C-16), 26.43 (т, C-6), 25.90 (т, C-7), 24.12 (т, C-15), 22.74 (к, C-19), 18.40 (к, C-21), 11.49 (к, C-18).

Общая методика получения имидамидов **257a,b**

К холодному раствору NH₂OH·HCl в MeOH прибавили холодный раствор KOH в MeOH, перемешивали сутки. Образовавшийся осадок KCl отфильтровали и промыли MeOH. Охладили полученный раствор NH₂OH в MeOH и прибавили к нему охлажденный ацетонитрил или бензонитрил. Перемешивали реакционную смесь двое суток (ход реакции контролировали ТСХ, CHCl₃ : MeOH, 20:3). Удалили растворитель на ротормом испарителе²⁴⁸.

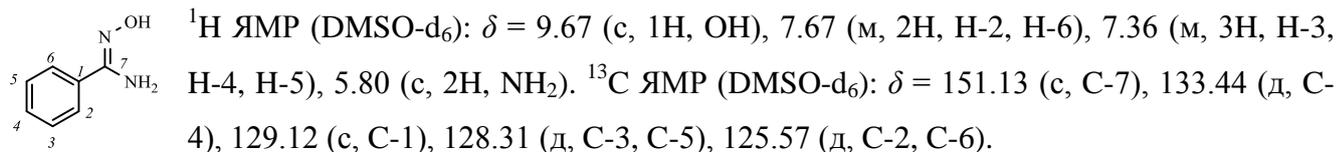
N'-Гидроксиацетимидамид (**257a**)

По общей методике из NH₂OH·HCl (20.3 г, 293 ммоль), KOH (18.3 г, 327 ммоль) и MeCN (10.0 г, 244 ммоль) в MeOH (180 мл) получили продукт **257a**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–15% MeOH в CHCl₃) и перекристаллизацией из MeOH, получили соединение **257a** (8.70 г, выход 48%) в виде белых игольчатых кристаллов.



N'-Гидроксибензимидамид (257b)

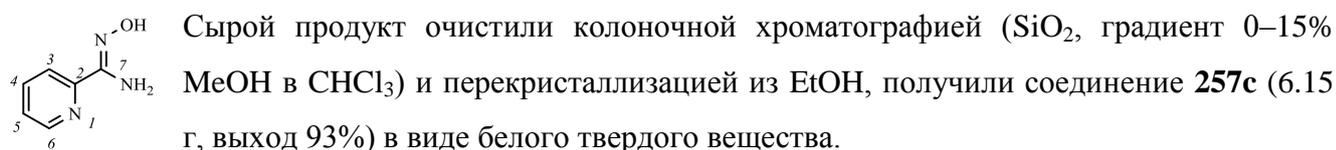
По общей методике из NH₂OH·HCl (8.1 г, 116 ммоль), KOH (7.3 г, 130 ммоль) и PhCN (10 г, 97 ммоль) в MeOH (75 мл) получили продукт **257b** (13.5 г). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–10% MeOH в CHCl₃), получили соединение **257b** (12 г, выход 91%) в виде желтоватого твердого вещества.



Общая методика получения имидамидов 257с-е

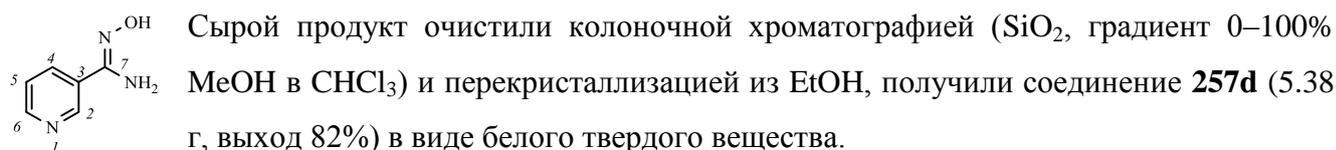
К охлажденному раствору NH₂OH·HCl (20.0 г, 288 ммоль) в воде (50 мл) прибавили NaHCO₃ (24.2 г, 288 ммоль) и перемешивали 30 минут при комнатной температуре. Затем к раствору прибавили охлажденный EtOH (150 мл) и соответствующий цианопиридин (5.0 г, 48 ммоль), реакцию перемешивали при комнатной температуре двое суток, (ход реакции контролировали ТСХ, CHCl₃ : MeOH, 20:3). Удалили растворитель на ротонном испарителе.²⁴⁹

N'-Гидроксипиколинимидамид (257с)

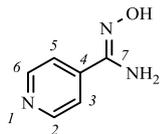


¹H ЯМР (DMSO-d₆): δ = 9.96 (с, 1H, OH), 8.55 (дм, 1H, J=4.8, H-6), 7.85 (д, 1H, J=8.0, H-3), 7.79 (ддд, 1H, J=J=7.8, J=1.4, H-5), 7.39 (м, 1H, H-4), 5.86 (с, 2H, NH₂). ¹³C ЯМР (DMSO-d₆): δ = 150.08 (с, C-7), 149.68 (с, C-2), 148.43 (д, C-6), 136.83 (д, C-4), 124.3 (д, C-5), 119.58 (д, C-3).

N'-Гидроксиникотинимидамид (257d)



¹H ЯМР (DMSO-d₆): δ = 9.90 (с, 1H, OH), 8.84 (д, 1H, J=1.7, H-2), 8.55 (дд, 1H, J=4.7, J=1.2, H-6), 8.00 (ддд, 1H, J=7.9, J=J=1.7, H-4), 7.40 (дд, 1H, J=7.9, J=4.8, H-5), 6.00 (с, 2H, NH₂). ¹³C ЯМР (DMSO-d₆): δ = 149.96 (д, C-6), 149.21 (с, C-7), 146.73 (д, C-2), 133.15 (д, C-4), 129.2 (с, C-3), 123.54 (д, C-5).

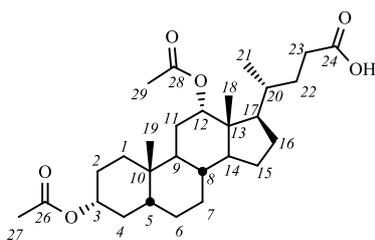
***N'*- Гидроксиизоникотинимидамид (257e)**

Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–50% MeOH в CHCl_3) и перекристаллизацией из смеси CHCl_3 – MeOH , затем из EtOH , получили соединение **257e** (4.65 г, выход 70%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ = 10.10 (с, 1H, OH), 8.56 (м, 2H, H-2, H-6), 7.63 (м, 2H, H-3, H-5), 6.00 (с, 2H, NH_2). ^{13}C ЯМР (DMSO-d_6): δ = 149.85 (д, C-2, C-6), 149.14 (с, C-7), 140.71 (с, C-4), 119.82 (д, C-3, C-5).

3 α ,12 α -Диацетокси-5 β -холан-24-овая кислота (248)

ДХК (25.0 г, 63.8 ммоль) кипятили в AcOH (200 мл) несколько дней (до полной этерификации 3-ОН-группы и 90% этерификации 12-ОН-группы; ход реакции контролировали ^1H ЯМР). Добавили в реакционную смесь бензол (80 мл) и отогнали азеотроп с водой с использованием насадки Дина-Старка. Затем добавили в реакционную смесь Ac_2O (4 мл) и перемешивали при комнатной температуре до полной конверсии ДХК. Реакционную смесь разбавили водой (70 мл) и выдержали 8 часов при 50°C (для разложения смешанного ангидрида уксусной и дезоксихолевой кислот), охладили до комнатной температуры и вылили в воду, далее экстрагировали смесью CH_2Cl_2 – Et_2O и MeOBu^t . Органическую фазу промыли насыщенными водными растворами NaHCO_3 и NaCl , сушили над безводным MgSO_4 . Удалили растворитель на роторном испарителе, получили сырой продукт в виде желтой аморфной массы (33.3 г). Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , CHCl_3), получили соединение **258** (28.7 г, выход 95%) в виде белого твердого вещества.



Тпл 71.1°C [разложение; лит.²⁵⁶ 92 – 93°C] ^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 10.92 (ш.с., 1H, OH), 5.03 (с, 1H, H-12), 4.65 (м, 1H, H-3), 2.33 (м, 1H, H-23), 2.20 (м, 1H, H-23'), 2.05 (с, 3H, CH_3 -29), 1.99 (с, 3H, CH_3 -27), 0.86 (с, 3H, CH_3 -19), 0.77 (д, 3H, $J=6.2$, CH_3 -21), 0.68 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 179.96 (с, C-24), 170.52 (с, C-26), 170.39 (с, C-28), 75.74 (д, C-12), 74.07 (д, C-3), 49.25 (д, C-14), 47.38 (д, C-17), 44.83 (с, C-13), 41.63 (д, C-5), 35.48 (д, C-8), 34.52 (т, C-1), 34.46 (д, C-20), 34.21 (д, C-9), 33.84 (с, C-10), 32.06 (т, C-4), 30.79 (т, C-23), 30.41 (т, C-22), 27.15 (т, C-16), 26.70 (т, C-6), 26.44 (т, C-2), 25.68 (т, C-7), 25.46 (т, C-11), 23.24 (т, C-15), 22.89 (к, C-19), 21.29 (к, C-27), 21.20 (к, C-29), 17.31 (к, C-21), 12.23 (к, C-18).

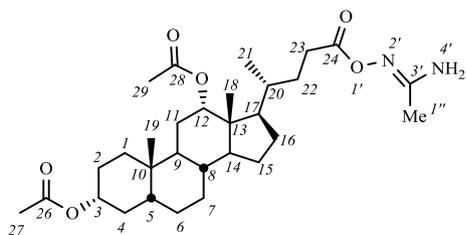
Общая методика получения *N'*-(3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-24-оил)имидамидов (259a-e)

Раствор диацетата ДХК **258** (2.5 г, 5.25 ммоль) и *N,N'*-карбонилдиимидазола (1.0 г, 6.30 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (20 мл) перемешивали 3 часа при комнатной температуре; затем

прибавили соответствующий имидамид (7.88 ммоль) и перемешивали ночь при комнатной температуре. Ход реакции контролировали ТСХ, AcOEt : CHCl₃ = 10 : 20 или 5 : 20. Удалили растворитель на роторном испарителе.

N'-(3α,12α-диацетокси-5β-холан-24-оил)ацетимидамид (259a)

Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–5% AcOEt в CHCl₃), получили соединение **259a** (2.5 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества.

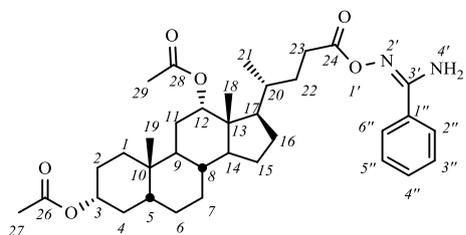


HRMS: m/z вычислено для C₃₀H₄₈O₆N₂⁺ 532.3507; найдено 514.3393; вычислено для [M–H₂O]⁺ (C₃₀H₄₆O₅N₂⁺) 514.3401.

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 5.03 (м, 1H, H-12), 4.78 (ш.с., 2H, NH₂), 4.65 (м, 1H, H-3), 2.38 (м, 1H, H-23), 2.23 (м, 1H, H-23'), 2.05 (с, 3H, CH₃-29), 1.99 (с, 3H, CH₃-27), 1.92 (с, 3H, CH₃-1''), 1.88-1.72 (м: 4H, [1.83]–H-16, [1.81]–H-22, [1.78]–H-6, [1.76]–H-4), 1.69-1.46 (м: 8H, [1.66]–H-1, [1.62]–H-9, [1.59]–H-2, [1.59]–H-11, [1.58]–H-17, [1.56]–H-14, [1.56]–H-15, [1.50]–H-4'), 1.45-1.12 (м: 9H, [1.42]–H-5, [1.41]–H-11', [1.39]–H-7, [1.38]–H-8, [1.35]–H-20, [1.30]–H-22', [1.26]–H-16', [1.21]–H-6', [1.17]–H-2'), 1.12-0.92 (м: 3H, [1.07]–H-7', [1.03]–H-15', [0.96]–H-1'), 0.85 (с, 3H, CH₃-19), 0.77 (д, 3H, *J*=6.4, CH₃-21), 0.67 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171.20 (с, C-24), 170.42 (с, C-26), 170.34 (с, C-28), 154.81 (с, C-3'), 75.73 (д, C-12), 74.02 (д, C-3), 49.22 (д, C-14), 47.50 (д, C-17), 44.83 (с, C-13), 41.62 (д, C-5), 35.46 (д, C-8), 34.58 (д, C-20), 34.52 (т, C-1), 34.19 (д, C-9), 33.84 (с, C-10), 32.05 (т, C-4), 30.80 (т, C-22), 29.94 (т, C-23), 27.15 (т, C-16), 26.68 (т, C-6), 26.43 (т, C-2), 25.66 (т, C-7), 25.45 (т, C-11), 23.23 (т, C-15), 22.88 (к, C-19), 21.30 (к, C-27), 21.23 (к, C-29), 17.34 (к, C-21), 16.86 (к, C-1''), 12.26 (к, C-18).

N'-(3α,12α-диацетокси-5β-холан-24-оил)бензимидамид (259b)

Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–5% AcOEt в CHCl₃), получили соединение **259b** (2.55 г, выход 82%) в виде белого твердого вещества.



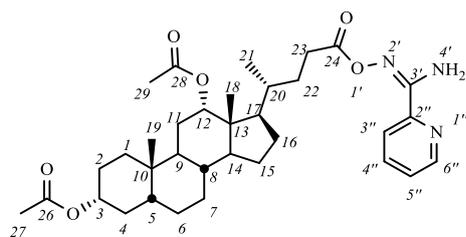
HRMS: m/z вычислено для C₃₅H₅₀O₆N₂⁺ 594.3663; найдено 576.3559; вычислено для [M–H₂O]⁺ (C₃₅H₄₈O₅N₂⁺) 576.3558.

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7.67 (м, 2H, H-2'', H-6''), 7.45 (м, 1H, H-4''), 7.38 (м, 2H, H-3'', H-5''), 5.08 (ш.с., 1H, NH₂), 5.06 (м, 1H, H-12), 4.67 (м, 1H, H-3), 2.50 (м, 1H, H-23), 2.36 (м, 1H, H-23'), 2.08 (с, 3H, CH₃-29), 2.00 (с, 3H, CH₃-27), 1.92-1.73 (м: 4H, [1.89]–H-22, [1.88]–H-16, [1.81]–H-6, [1.79]–H-4), 1.73-1.55 (м: 7H, [1.68]–H-1, [1.65]–H-9, [1.62]–H-2, [1.62]–H-11, [1.62]–H-17, [1.59]–H-14, [1.59]–H-15), 1.50 (м, 1H, H-4'), 1.47-1.14 (м: 9H, [1.44]–H-5, [1.43]–H-11', [1.42]–H-7, [1.41]–H-8, [1.40]–H-20, [1.37]–H-22', [1.30]–H-16', [1.23]–H-6', [1.20]–H-2'), 1.14-

1.02 (м, 2H, [1.10]–H-7', [1.08]–H-15'), 0.99 (м, 1H, H-1'), 0.88 (с, 3H, CH₃-19), 0.82 (д, 3H, *J*=6.3, CH₃-21), 0.70 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171.60 (с, C-24), 170.45 (с, C-26), 170.38 (с, C-28), 155.95 (с, C-3'), 131.03 (с, C-1''), 130.87 (д, C-4''), 128.57 (д, C-3'', C-5''), 126.55 (д, C-2'', C-6''), 75.79 (д, C-12), 74.07 (д, C-3), 49.29 (д, C-14), 47.56 (д, C-17), 44.91 (с, C-13), 41.68 (д, C-5), 35.52 (д, C-8), 34.63 (д, C-20), 34.57 (т, C-1), 34.26 (д, C-9), 33.90 (с, C-10), 32.11 (т, C-4), 30.79 (т, C-22), 29.99 (т, C-23), 27.22 (т, C-16), 26.74 (т, C-6), 26.49 (т, C-2), 25.72 (т, C-7), 25.51 (т, C-11), 23.30 (т, C-15), 22.94 (к, C-19), 21.34 (к, C-27), 21.27 (к, C-29), 17.44 (к, C-21), 12.32 (к, C-18).

N'-(3α,12α-диацетокси-5β-холан-24-оил)пиколинимидамид (259с)

По общей методике из диацетата ДХК **258** (2.4 г, 4.9 ммоль), *N,N'*-карбонилдиимидазола (0.96 г, 5.9 ммоль) и *N'*-гидроксипиколинимидамида (**257с**) (0.88 г, 6.5 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (20 мл) получили продукт **259с**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, CHCl₃), получили соединение **259с** (3.1 г, выход 97%) в виде белого твердого вещества массы.

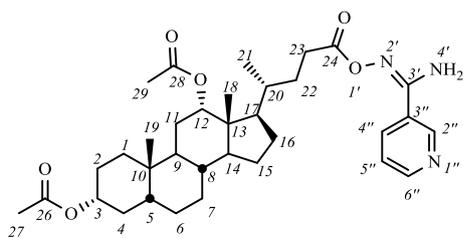


Тпл 73.1°C [разложение]. Элем. ан.: вычислено С, 68.54%; Н, 8.29%; N, 7.05%; O, 16.11; найдено С, 68.70%; Н, 7.85%; N, 7.04%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.54 (дм, 1H, *J*=4.8, H-6''), 8.13 (ддд, 1H, *J*=8.0, *J*=*J*=1.0, H-3''), 7.72 (ддд, 1H, *J*=*J*=7.8, *J*=1.7, H-4''), 7.35 (м, 1H, H-5''), 5.03 (м, 1H, H-12), 4.67 (м,

1H, H-3), 2.52 (м, 1H, H-23), 2.38 (м, 1H, H-23'), 2.08 (с, 3H, CH₃-29), 2.00 (с, 3H, CH₃-27), 0.87 (с, 3H, CH₃-19), 0.82 (д, 3H, *J*=6.2, CH₃-21), 0.70 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171.40 (с, C-24), 170.44 (с, C-26), 170.37 (с, C-28), 153.31 (с, C-3'), 148.25 (д, C-6''), 147.51 (с, C-2''), 136.61 (д, C-4''), 125.35 (д, C-5''), 121.15 (д, C-3''), 75.77 (д, C-12), 74.05 (д, C-3), 49.27 (д, C-14), 47.58 (д, C-17), 44.88 (с, C-13), 41.66 (д, C-5), 35.50 (д, C-8), 34.63 (д, C-20), 34.55 (т, C-1), 34.23 (д, C-9), 33.88 (с, C-10), 32.09 (т, C-4), 30.81 (т, C-22), 29.98 (т, C-23), 27.21 (т, C-16), 26.72 (т, C-6), 26.47 (т, C-2), 25.70 (т, C-7), 25.49 (т, C-11), 23.28 (т, C-15), 22.93 (к, C-19), 21.34 (к, C-27), 21.28 (к, C-29), 17.41 (к, C-21), 12.31 (к, C-18).

N'-(3α,12α-диацетокси-5β-холан-24-оил)никотинимидамид (259d)

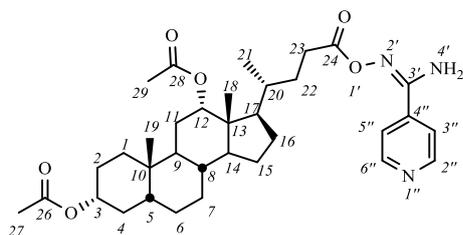
По общей методике из диацетата ДХК **258** (2.4 г, 4.9 ммоль), *N,N'*-карбонилдиимидазола (0.96 г, 5.9 ммоль) и *N'*-гидроксиникотинимидамида (**257d**) (1.0 г, 7.4 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (20 мл) получили продукт **259d**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–4.5% MeOH в CHCl₃), получили соединение **259d** (1.6 г, выход 55%) в виде бесцветной аморфной массы.



HRMS: m/z вычислено для $C_{34}H_{59}O_6N_2^+$ 595.3616; найдено 595.3600. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 8.84 (д, 1H, $J=1.7$, H-2''), 8.60 (дд, 1H, $J=4.8$, $J=1.5$, H-6''), 7.96 (ддд, 1H, $J=8.0$, $J=J=1.8$, H-4''), 7.26 (м, 1H, H-5''), 5.02 (м, 1H, H-12), 4.63 (м, 1H, H-3), 2.45 (м, 1H, H-23), 2.32 (м, 1H, H-23'), 2.03 (с, 3H, CH_3 -29), 1.96 (с, 3H, CH_3 -27), 0.84 (с, 3H, CH_3 -19), 0.78 (д, 3H, $J=6.3$, CH_3 -21), 0.67 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ = 171.32 (с, C-24), 170.31 (с, C-26), 170.20 (с, C-28), 153.87 (с, C-3'), 151.56 (д, C-6''), 147.49 (д, C-2''), 134.32 (д, C-4''), 127.27 (с, C-3''), 123.16 (д, C-5''), 75.70 (д, C-12), 73.98 (д, C-3), 49.23 (д, C-14), 47.52 (д, C-17), 44.88 (с, C-13), 41.63 (д, C-5), 35.48 (д, C-8), 34.55 (д, C-20), 34.53 (т, C-1), 34.21 (д, C-9), 33.83 (с, C-10), 32.07 (т, C-4), 30.69 (т, C-22), 29.85 (т, C-23), 27.13 (т, C-16), 26.68 (т, C-6), 26.42 (т, C-2), 25.66 (т, C-7), 25.44 (т, C-11), 23.22 (т, C-15), 22.83 (к, C-19), 21.20 (к, C-27), 21.13 (к, C-29), 17.39 (к, C-21), 12.25 (к, C-18).

***N'*-(3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-24-оил)изоникотинимидаид (259e)**

Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–5% MeOH в $CHCl_3$), получилили соединение **259e** (1.8 г, выход 58%) в виде белого твердого вещества.



Тпл 105.8–111.2°C. Элем. ан.: вычислено С, 68.54%; Н, 8.29%; N, 7.05%; O, 16.11; найдено С, 68.73%; Н, 7.78%; N, 7.26%. 1H ЯМР ($CDCl_3$): δ = 8.65 (д, 2H, $J=5.6$, H-2'', H-6''), 7.56 (д, 2H, $J=5.6$, H-3'', H-5''), 5.06 (м, 1H, H-12), 4.67 (м, 1H, H-3), 2.50 (м, 1H, H-23), 2.36 (м, 1H, H-23'), 2.07 (с, 3H,

CH_3 -29), 1.99 (с, 3H, CH_3 -27), 0.88 (с, 3H, CH_3 -19), 0.81 (д, 3H, $J=6.2$, CH_3 -21), 0.70 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ = 171.18 (с, C-24), 170.41 (с, C-26), 170.32 (с, C-28), 153.66 (с, C-3'), 150.30 (д, C-2'', C-6''), 138.70 (с, C-4''), 120.58 (д, C-3'', C-5''), 75.78 (д, C-12), 74.07 (д, C-3), 49.31 (д, C-14), 47.61 (д, C-17), 44.96 (с, C-13), 41.71 (д, C-5), 35.56 (д, C-8), 34.64 (д, C-20), 34.60 (т, C-1), 34.29 (д, C-9), 33.92 (с, C-10), 32.15 (т, C-4), 30.75 (т, C-22), 29.91 (т, C-23), 27.21 (т, C-16), 26.75 (т, C-6), 26.51 (т, C-2), 25.74 (т, C-7), 25.53 (т, C-11), 23.31 (т, C-15), 22.92 (к, C-19), 21.31 (к, C-27), 21.25 (к, C-29), 17.47 (к, C-21), 12.34 (к, C-18).

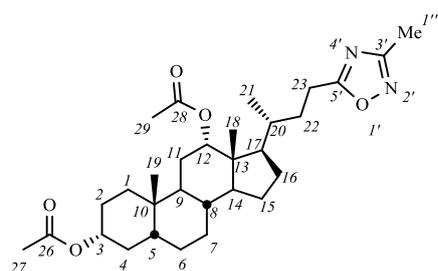
Общая методика циклизации *N'*-(3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-24-оил)имидаидов (259a-e)

Смесь имидаида диацетата ДХК **259** (1 экв.) и 1 М раствора фторида тетрабутиламмония в ТГФ (0.25–0.5 экв.) в сухом ТГФ (25 мл) кипятили несколько часов. Ход реакции контролировали ТСХ, AcOEt : $CHCl_3$ = 10 : 20 (для **a**, **b**), MeOH : $CHCl_3$ = 1.5 : 20 (для **c**, **d**, **e**). Реакционную смесь упарили на роторном испарителе, растворили в смеси CH_2Cl_2 –Et₂O,

промыли насыщенным водным раствором NaCl, сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на ротаторном испарителе.

24-нор-3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-23-(3'-метил-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (260a)

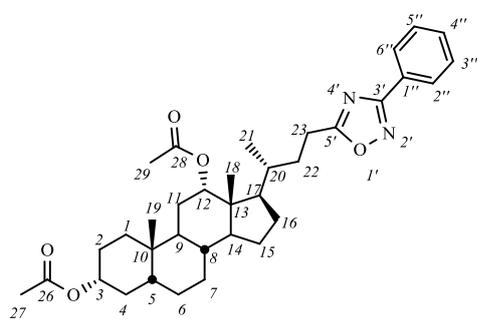
По общей методике при кипячении в течение 20 часов имидамида диацетата ДХК **259a** (2.4 г, 4.4 ммоль, 1 экв.) и фторида тетрабутиламмония (2.8 мл, 2.8 ммоль, 0.64 экв.) в сухом ТГФ (25 мл) получили продукт **260a**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–10% AcOEt в CH₂Cl₂), получили соединение **260a** (2.5 г, количественный выход) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.



HRMS: m/z вычислено для C₃₀H₄₆O₅N₂⁺ 514.3401; найдено 514.3408. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 5.03 (м, 1H, H-12), 4.65 (м, 1H, H-3), 2.83 (м, 1H, H-23), 2.68 (м, 1H, H-23'), 2.32 (с, 3H, CH₃-1''), 2.05 (с, 3H, CH₃-29), 1.98 (с, 3H, CH₃-27), 0.85 (с, 3H, CH₃-19), 0.82 (д, 3H, J =6.3, CH₃-21), 0.68 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 179.82 (с, C-5'), 170.37 (с, C-26), 170.26 (с, C-28), 166.81 (с, C-3'), 75.62 (д, C-12), 73.97 (д, C-3), 49.22 (д, C-14), 47.23 (д, C-17), 44.84 (с, C-13), 41.60 (д, C-5), 35.46 (д, C-8), 34.60 (д, C-20), 34.51 (т, C-1), 34.18 (д, C-9), 33.83 (с, C-10), 32.38 (т, C-22), 32.04 (т, C-4), 27.20 (т, C-16), 26.67 (т, C-6), 26.43 (т, C-2), 25.65 (т, C-7), 25.45 (т, C-11), 23.22 (т, C-15), 23.22 (т, C-23), 22.88 (к, C-19), 21.29 (к, C-27), 21.20 (к, C-29), 17.27 (к, C-21), 12.21 (к, C-18), 11.39 (к, C-1'').

24-нор-3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-23-(3'-фенил-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (260b)

По общей методике при кипячении в течение 3 часов имидамида диацетата ДХК **259b** (2.4 г, 4.1 ммоль, 1 экв.) и фторида тетрабутиламмония (1.0 мл, 1.0 ммоль, 0.25 экв.) в сухом



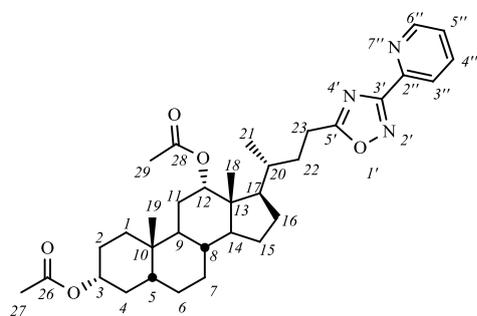
ТГФ (25 мл) получили продукт **260b**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–3% AcOEt в CH₂Cl₂), получили соединение **260b** (2.1 г, выход 92%) в виде белого твердого вещества.

HRMS: m/z вычислено для C₃₅H₄₈O₅N₂⁺ 576.3558; найдено 576.3552. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.04 (м, 2H, H-2'', H-6''), 7.45 (м, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 5.08 (м, 1H, H-12), 4.68 (м, 1H, H-3), 2.95 (м, 1H, H-23), 2.81 (м, 1H, H-23'), 2.09 (с, 3H, CH₃-29), 2.00 (с, 3H, CH₃-27), 0.89 (д, 3H, J =6.2, CH₃-21), 0.88 (с, 3H, CH₃-19), 0.71 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 180.15 (с, C-5'), 170.38 (с, C-26), 170.26 (с, C-28), 168.14 (с, C-3'), 130.93 (д, C-4''), 128.69 (д, C-3'', C-5''), 127.27 (д, C-2'', C-6''), 126.86 (с, C-1''), 75.74 (д, C-12), 74.05 (д, C-3), 49.34 (д, C-14), 47.41 (д, C-17),

44.98 (с, С-13), 41.72 (д, С-5), 35.58 (д, С-8), 34.70 (д, С-20), 34.62 (т, С-1), 34.30 (д, С-9), 33.93 (с, С-10), 32.54 (т, С-22), 32.17 (т, С-4), 27.28 (т, С-16), 26.77 (т, С-6), 26.53 (т, С-2), 25.75 (т, С-7), 25.54 (т, С-11), 23.52 (т, С-23), 23.31 (т, С-15), 22.94 (к, С-19), 21.31 (к, С-27), 21.24 (к, С-29), 17.40 (к, С-21), 12.31 (к, С-18).

24-нор-3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-2''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (260с)

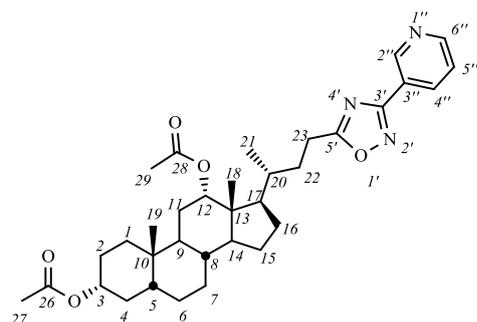
По общей методике при кипячении в течение 10 часов имидамида диацетата ДХК **259с** (2.9 г, 4.9 ммоль, 1 экв.) и фторида тетрабутиламмония (1.7 мл, 1.7 ммоль, 0.35 экв.) в сухом ТГФ (25 мл) получили продукт **260с**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–0.5% MeOH в CHCl₃), получили соединение **260с** (3.1 г, количественный выход) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.



Тпл 163.9–166.5°C. Элем. ан.: вычислено С, 70.68%; Н, 8.20%; N, 7.27%; O, 13.85; найдено С, 70.57%; Н, 7.64%; N, 7.27%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.68 (дм, 1H, $J=4.8$, H-6''), 8.00 (д, 1H, $J=7.9$, H-3''), 7.74 (ддд, 1H, $J=7.8$, $J=1.7$, H-4''), 7.31 (м, 1H, H-5''), 4.99 (м, 1H, H-12), 4.59 (м, 1H, H-3), 2.91 (м, 1H, H-23), 2.77 (м, 1H, H-23'), 2.01 (с, 3H, CH₃-29), 1.92 (с, 3H, CH₃-27), 0.80 (д, 3H, $J=6.2$, CH₃-21), 0.79 (с, 3H, CH₃-19), 0.62 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 180.78 (с, С-5'), 170.15 (с, С-26), 170.06 (с, С-28), 167.75 (с, С-3'), 150.04 (д, С-6''), 146.06 (с, С-2''), 136.66 (д, С-4''), 125.09 (д, С-5''), 122.67 (д, С-3''), 75.44 (д, С-12), 73.78 (д, С-3), 49.06 (д, С-14), 47.07 (д, С-17), 44.69 (с, С-13), 41.44 (д, С-5), 35.29 (д, С-8), 34.51 (д, С-20), 34.36 (т, С-1), 34.01 (д, С-9), 33.66 (с, С-10), 32.33 (т, С-22), 31.88 (т, С-4), 27.08 (т, С-16), 26.51 (т, С-6), 26.26 (т, С-2), 25.48 (т, С-7), 25.28 (т, С-11), 23.30 (т, С-23), 23.06 (т, С-15), 22.71 (к, С-19), 21.11 (к, С-27), 21.03 (к, С-29), 17.14 (к, С-21), 12.06 (к, С-18).

24-нор-3 α ,12 α -диацетокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-3''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (260d)

По общей методике при кипячении в течение 2 часов имидамида диацетата ДХК **259d** (1.5 г, 2.50 ммоль, 1 экв.) и фторида тетрабутиламмония (0.63 мл, 0.63 ммоль, 0.25 экв.) в сухом ТГФ (25 мл) получили продукт **260d**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–3% MeOH в CHCl₃), получили соединение **260d** (1.4 г, выход 95%) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.

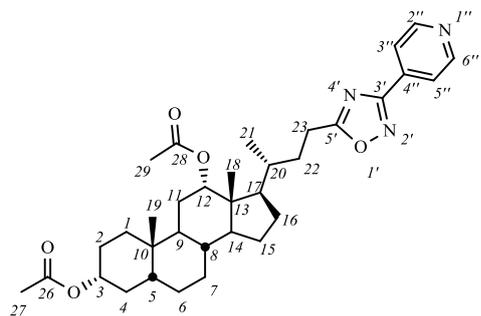


HRMS: m/z вычислено для C₃₄H₄₇O₅N₂⁺ 577.3510; найдено 577.3502. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 9.25 (м, 1H, H-2''), 8.68 (дд, 1H, $J=4.8$, $J=1.6$, H-6''), 8.28 (ддд, 1H, $J=8.0$, $J=2.0$, $J=1.8$, H-

4''), 7.36 (м, 1Н, Н-5''), 5.05 (м, 1Н, Н-12), 4.65 (м, 1Н, Н-3), 2.95 (м, 1Н, Н-23), 2.81 (м, 1Н, Н-23'), 2.07 (с, 3Н, СН₃-29), 1.98 (с, 3Н, СН₃-27), 0.87 (д, 3Н, *J*=6.6, СН₃-21), 0.86 (с, 3Н, СН₃-19), 0.70 (с, 3Н, СН₃-18). ¹³С ЯМР (CDCl₃): δ = 180.66 (с, С-5'), 170.25 (с, С-26), 170.11 (с, С-28), 166.22 (с, С-3'), 151.77 (д, С-6''), 148.51 (д, С-2''), 134.40 (д, С-4''), 123.39 (д, С-5''), 123.13 (с, С-3''), 75.67 (д, С-12), 73.99 (д, С-3), 49.32 (д, С-14), 47.40 (д, С-17), 44.99 (с, С-13), 41.71 (д, С-5), 35.58 (д, С-8), 34.64 (д, С-20), 34.61 (т, С-1), 34.28 (д, С-9), 33.90 (с, С-10), 32.45 (т, С-22), 32.16 (т, С-4), 27.23 (т, С-16), 26.74 (т, С-6), 26.50 (т, С-2), 25.73 (т, С-7), 25.51 (т, С-11), 23.46 (т, С-23), 23.27 (т, С-15), 22.88 (к, С-19), 21.22 (к, С-27), 21.15 (к, С-29), 17.38 (к, С-21), 12.28 (к, С-18).

24-нор-3α,12α-диацетокси-5β-холан-23-(3'-(пиридин-4''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (260e)

По общей методике при кипячении в течение 2 часов имидамида диацетата ДХК **259e** (1.5 г, 2.6 ммоль, 1 экв.) и фторида тетрабутиламмония (0.65 мл, 0.65 ммоль, 0.25 экв.) в сухом ТГФ (25 мл) получили продукт **260e**. Сырой продукт очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–1% MeOH в CHCl₃), получили соединение **260e** (1.3 г, выход 86%) в виде белого твердого вещества.



Тпл 167.3–171.1°C. Элем. ан.: вычислено С, 70.68%; Н, 8.20%; N, 7.27%; O, 13.85; найдено С, 69.75%; Н, 7.42%; N, 7.10%. ¹Н ЯМР (CDCl₃): δ = 8.69 (м, 2Н, Н-2'', Н-6''), 7.56 (м, 2Н, Н-3'', Н-5''), 5.03 (м, 1Н, Н-12), 4.62 (м, 1Н, Н-3), 2.93 (м, 1Н, Н-23), 2.79 (м, 1Н, Н-23'), 2.04 (с, 3Н, СН₃-29), 1.95 (с, 3Н, СН₃-27), 0.84 (д, 3Н, *J*=6.4, СН₃-21), 0.83 (с, 3Н, СН₃-19), 0.67 (с, 3Н, СН₃-18). ¹³С ЯМР (CDCl₃): δ = 180.93 (с, С-5'), 170.19 (с, С-26), 170.07 (с, С-28), 166.50 (с, С-3'), 150.41 (д, С-2'', С-6''), 134.14 (с, С-4''), 120.95 (д, С-3'', С-5''), 75.55 (д, С-12), 73.89 (д, С-3), 49.20 (д, С-14), 47.26 (д, С-17), 44.86 (с, С-13), 41.58 (д, С-5), 35.45 (д, С-8), 34.55 (д, С-20), 34.49 (т, С-1), 34.16 (д, С-9), 33.79 (с, С-10), 32.34 (т, С-22), 32.03 (т, С-4), 27.15 (т, С-16), 26.63 (т, С-6), 26.39 (т, С-2), 25.63 (т, С-7), 25.41 (т, С-11), 23.38 (т, С-23), 23.18 (т, С-15), 22.81 (к, С-19), 21.18 (к, С-27), 21.11 (к, С-29), 17.27 (к, С-21), 12.19 (к, С-18).

Общая методика гидролиза ацетатных групп оксадиазольных производных 260a-e

К раствору соответствующего оксадиазольного производного (**260a-e**) (1 экв.) в MeOH добавили раствор КОН (8 экв.) в MeOH, перемешивали 1 час при комнатной температуре (до образования соответствующего моноацетата (**261a-e**), ход реакции контролировали ТСХ, AcOEt : CHCl₃ = 3 : 20 (для **a, b**), MeOH : CHCl₃ = 1.5 : 20 (для **c, d, e**). Отобрали из реакционной смеси 2–3 мл. Добавили к отобранной пробе 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения

pH~7. Метанол удалили на роторном испарителе, остаток растворили в смеси CH₂Cl₂–AcOEt, промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃, NaCl. Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе. Получили сырые продукты (**261a-e**) в виде бесцветных аморфных масс, которые очищали колоночной хроматографией на силикагеле.

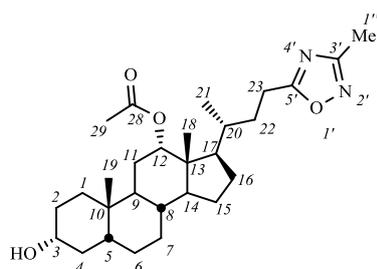
Оставшуюся реакционную смесь кипятили несколько часов (до образования оксадиазольных производных (**262a-e**), ход реакции контролировали ТСХ), затем охладили до комнатной температуры и добавили 5%-ный водный раствор HCl до достижения значения pH~7. Метанол удалили на роторном испарителе, остаток растворили в смеси CH₂Cl₂–AcOEt, промыли насыщенными водными растворами NaHCO₃, NaCl. Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄. Растворитель удалили на роторном испарителе. Сырые продукты (**262a-e**) белые твердые вещества очищали колоночной хроматографией на силикагеле.

Соединения **261a** и **262a**

Из соединения **260a** (2.25 г, 4.4 ммоль) и KOH (2.0 г, 35 ммоль) в MeOH (40 мл) по общей методике получили продукты **261a** (0.25 г) и **262a** (1.25 г).

24-нор-3 α -гидрокси-12 α -ацетокси-5 β -холан-23-(3'-метил-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (**261a**)

Сырой продукт **261a** очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–1% MeOH в CHCl₃), получили соединение **261a** (0.20 г, выход 72%) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.

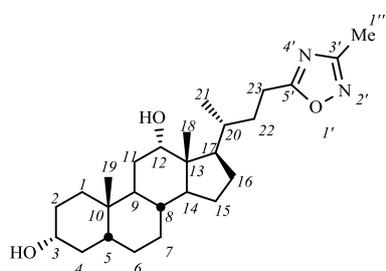


HRMS: m/z вычислено для C₂₈H₄₄O₄N₂⁺ 472.3296; найдено 472.3295. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 4.99 (м, 1H, H-12), 3.52 (м, 1H, H-3), 2.79 (м, 1H, H-23), 2.65 (м, 1H, H-23'), 2.28 (с, 3H, CH₃-1''), 2.21 (ш.с., 1H, OH), 2.00 (с, 3H, CH₃-29), 1.88-1.71 (м: 3H, [1.84]–H-22, [1.79]–H-16, [1.75]–H-6), 1.68 (ддд, 1H, ²J=J_{4 α ,5}=12.9, J_{4 α ,3 α} =11.5, H-4 α (α)), 1.63-1.47 (м: 7H, [1.60]–H-9, [1.59]–H-1, [1.57]–H-11, [1.57]–H-17, [1.53]–H-2, [1.53]–H-15, [1.51]–H-14,), 1.46-1.28 (м: 7H, [1.42]–H-22', [1.41]–H-4', [1.36]–H-11', [1.35]–H-20, [1.34]–H-7, [1.34]–H-8, [1.31]–H-5), 1.23-1.13 (м: 2H, [1.19]–H-16', [1.18]–H-6'), 1.12-0.94 (м: 3H, [1.07]–H-2', [1.05]–H-7', [1.00]–H-15'), 0.86 (м, 1H, H-1'), 0.81 (с, 3H, CH₃-19), 0.77 (д, 3H, J=6.4, CH₃-21), 0.63 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 179.75 (с, C-5'), 170.30 (с, C-28), 166.67 (с, C-3'), 75.59 (д, C-12), 71.21 (д, C-3), 49.12 (д, C-14), 47.13 (д, C-17), 44.75 (с, C-13), 41.69 (д, C-5), 35.95 (т, C-4), 35.42 (д, C-8), 34.73 (т, C-1), 34.49 (д, C-20), 34.12 (д, C-9), 33.74 (с, C-10), 32.28 (т, C-22), 30.14 (т, C-2), 27.10 (т, C-16), 26.79 (т, C-6), 25.67 (т, C-7), 25.33

(т, С-11), 23.15 (т, С-15), 23.12 (т, С-23), 22.84 (к, С-19), 21.09 (к, С-29), 17.18 (к, С-21), 12.12 (к, С-18), 11.26 (к, С-1'').

24-нор-3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холан-23-(3'-метил-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (262a)

Сырой продукт **262a** очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–15% AcOEt в CHCl₃), получили соединение **262a** (1.1 г, выход 82%) в виде белого твердого вещества.



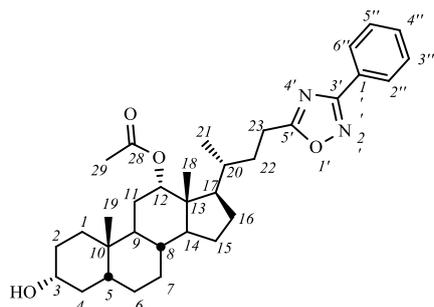
Тпл 89.8°C [разложение]. HRMS: m/z вычислено для C₂₆H₄₂O₃N₂⁺ 430.3190; найдено 430.3186. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 3.95 (м, 1H, H-12), 3.58 (м, 1H, H-3), 2.87 (м, 1H, H-23), 2.73 (м, 1H, H-23'), 2.34 (с, 3H, CH₃-1''), 1.94-1.66 (м: 9H, [1.90]–H-22, [1.83]–H-16, [1.80]–H-6, [1.77]–H-9, [1.75]–H-4, [1.73]–H-17, [1.70]–H-1, OH-12, OH-3), 1.66-1.28 (м: 12H, [1.63]–H-2, [1.58]–H-15, [1.53]–H-14, [1.52]–H-22', [1.48]–H-11, [1.48]–H-11, [1.48]–H-4', [1.42]–H-20, [1.38]–H-7, [1.38]–H-8, [1.37]–H-5, [1.33]–H-2'), 1.26-1.17 (м: 2H, [1.23]–H-6', [1.20]–H-16'), 1.14-1.01 (м: 2H, [1.09]–H-7', [1.04]–H-15'), 0.94 (м, 1H, H-1'), 1.00 (д, 3H, $J=6.5$, CH₃-21), 0.87 (с, 3H, CH₃-19), 0.64 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 180.02 (с, С-5'), 166.85 (с, С-3'), 72.90 (д, С-12), 71.58 (д, С-3), 48.08 (д, С-14), 46.86 (д, С-17), 46.35 (с, С-13), 41.89 (д, С-5), 36.26 (т, С-4), 35.86 (д, С-8), 35.05 (т, С-1), 35.04 (д, С-20), 33.96 (с, С-10), 33.49 (д, С-9). 32.49 (т, С-22), 30.30 (т, С-2), 28.62 (т, С-11), 27.33 (т, С-16), 26.96 (т, С-6), 25.96 (т, С-7), 23.48 (т, С-15), 23.30 (т, С-23), 23.01 (к, С-19), 17.09 (к, С-21), 12.59 (к, С-18), 11.43 (к, С-1'').

Соединения 261b и 262b

Из соединения **260b** (2.0 г, 3.5 ммоль) и КОН (1.2 г, 21 ммоль) в MeOH (40 мл) по общей методике получили продукты **261b** (0.1 г) и **262b** (1.55 г).

24-нор-3 α -гидрокси-12 α -ацетокси-5 β -холан-23-(3'-фенил-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (261b)

Сырой продукт **261b** очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–1% MeOH в CHCl₃), получили соединение **261b** (0.07 г, выход 67%) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.

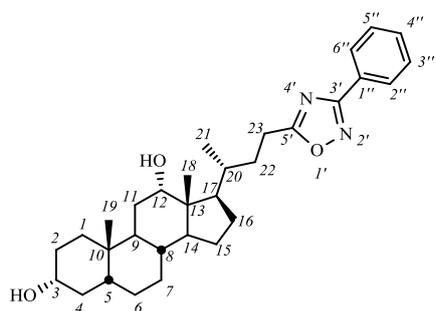


HRMS: m/z вычислено для C₃₃H₄₆O₄N₂⁺ 534.3452; найдено 534.3447. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.04 (м, 2H, H-2'', H-6''), 7.44 (м, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 5.06 (м, 1H, H-12), 3.57 (м, 1H, H-3), 2.94 (м, 1H, H-23), 2.79 (м, 1H, H-23'), 2.13 (ш.с., 1H, OH), 2.06 (с, 3H, CH₃-29), 0.87 (д, 3H, $J=6.6$, CH₃-21), 0.86 (с, 3H, CH₃-19), 0.69 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 180.07 (с, С-5'), 170.37 (с, С-28), 167.94 (с, С-3'), 130.84 (д, С-4''), 128.57 (д, С-3'', С-5''), 127.12 (д, С-2'', С-6''),

126.64 (с, С-1''), 75.65 (д, С-12), 71.29 (д, С-3), 49.16 (д, С-14), 47.21 (д, С-17), 44.79 (с, С-13), 41.71 (д, С-5), 35.95 (т, С-4), 35.45 (д, С-8), 34.74 (т, С-1), 34.54 (д, С-20), 34.14 (д, С-9), 33.76 (с, С-10), 32.36 (т, С-22), 30.16 (т, С-2), 27.15 (т, С-16), 26.81 (т, С-6), 25.70 (т, С-7), 25.36 (т, С-11), 23.35 (т, С-23), 23.19 (т, С-15), 22.86 (к, С-19), 21.15 (к, С-29), 17.23 (к, С-21), 12.17 (к, С-18).

24-нор-3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холан-23-(3'-фенил-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (262b)

Сырой продукт **262b** очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–15% AcOEt в CHCl₃), получили соединение **262b** (1.45 г, выход 85%) в виде белого твердого вещества.



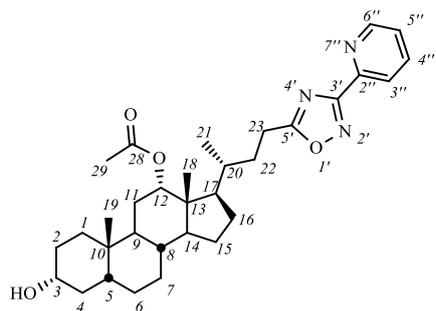
Тпл 151.1-151.8°C. HRMS: m/z вычислено для C₃₁H₄₄O₃N₂⁺ 492.3347; найдено 492.3350. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.04 (м, 2H, Н-2'', Н-6''), 7.45 (м, 3H, Н-3'', Н-4'', Н-5''), 3.97 (м, 1H, Н-12), 3.58 (м, 1H, Н-3), 2.97 (м, 1H, Н-23), 2.85 (м, 1H, Н-23'), 2.00 (м, 1H, Н-22), 1.03 (д, 3H, $J=6.4$, CH₃-21), 0.95 (м, 1H, Н-1'), 0.88 (с, 3H, CH₃-19), 0.65 (с, 3H, CH₃-18). ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 180.29 (с, С-5'), 168.07 (с, С-3'), 130.92 (д, С-4''), 128.67 (д, С-3'', С-5''), 127.24 (д, С-2'', С-6''), 126.79 (с, С-1''), 72.92 (д, С-12), 71.59 (д, С-3), 48.10 (д, С-14), 46.97 (д, С-17), 46.37 (с, С-13), 41.90 (д, С-5), 36.27 (т, С-4), 35.86 (д, С-8), 35.09 (д, С-20), 35.06 (т, С-1), 33.96 (с, С-10), 33.49 (д, С-9), 32.56 (т, С-22), 30.31 (т, С-2), 28.62 (т, С-11), 27.36 (т, С-16), 26.97 (т, С-6), 25.96 (т, С-7), 23.54 (т, С-15), 23.50 (т, С-23), 23.01 (к, С-19), 17.12 (к, С-21), 12.60 (к, С-18).

Соединения 261с и 262с

Из соединения **260с** (2.9 г, 5.0 ммоль) и КОН (2.2 г, 40.1 ммоль) в MeOH (50 мл) по общей методике получили продукты **261с** (0.23 г) и **262с** (1.7 г).

24-нор-3 α -гидрокси-12 α -ацетокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-2''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (261с)

Сырой продукт **261с** очистили колоночной хроматографией (SiO₂, градиент 0–1% MeOH в CHCl₃), получили соединение **261с** (0.16 г, выход 77%) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.

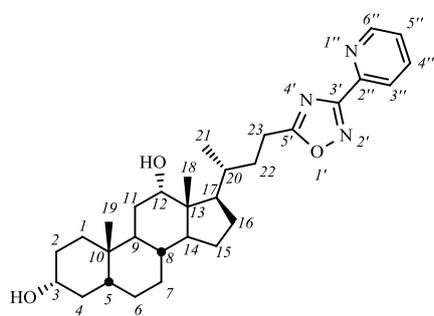


Элем. ан.: вычислено С, 71.74%; Н, 8.47%; N, 7.84%; O, 11.95; найдено С, 69.15%; Н, 7.94%; N, 7.60%. ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8.71 (м, 1H, Н-6''), 8.04 (м, 1H, Н-3''), 7.77 (м, 1H, Н-4''), 7.35 (м, 1H, Н-5''), 5.02 (м, 1H, Н-12), 3.55 (м, 1H, Н-3), 2.95 (м, 1H, Н-23), 2.80 (м, 1H, Н-23'), 2.03 (с, 3H, CH₃-29), 0.83 (д, 3H,

$J=6.4$, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.82 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.66 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-18}$). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 180.90$ (с, C-5'), 170.37 (с, C-28), 167.84 (с, C-3'), 150.13 (д, C-6''), 146.14 (с, C-2''), 136.77 (д, C-4''), 125.19 (д, C-5''), 122.79 (д, C-3''), 75.63 (д, C-12), 71.33 (д, C-3), 49.14 (д, C-14), 47.18 (д, C-17), 44.79 (с, C-13), 41.71 (д, C-5), 35.97 (т, C-4), 35.44 (д, C-8), 34.74 (т, C-1), 34.61 (д, C-20), 34.14 (д, C-9), 33.76 (с, C-10), 32.43 (т, C-22), 30.17 (т, C-2), 27.18 (т, C-16), 26.80 (т, C-6), 25.69 (т, C-7), 25.36 (т, C-11), 23.43 (т, C-23), 23.19 (т, C-15), 22.86 (к, C-19), 21.15 (к, C-29), 17.23 (к, C-21), 12.16 (к, C-18).

24-нор-3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-2''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (262с)

Сырой продукт **262с** очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–5% MeOH в CHCl_3), получили соединение **262с** (1.67 г, выход 73%) в виде белого твердого вещества.

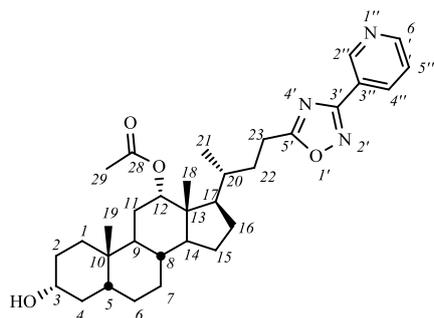


Тпл 65.8°C [разложение]. Элем. ан.: вычислено С, 72.99%; Н, 8.78%; N, 8.51%; O, 9.72; найдено С, 64.29%; Н, 7.12%; N, 7.60%. ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8.75$ (м, 1H, H-6''), 8.08 (м, 1H, H-3''), 7.80 (м, 1H, H-4''), 7.38 (м, 1H, H-5''), 3.95 (м, 1H, H-12), 3.57 (м, 1H, H-3), 3.01 (м, 1H, H-23), 2.87 (м, 1H, H-23'), 1.03 (д, 3H, $J=6.6$, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.87 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.64 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-18}$). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 181.12$ (с, C-5'), 167.94 (с, C-3'), 150.23 (д, C-6''), 146.29 (с, C-2''), 136.85 (д, C-4''), 125.25 (д, C-5''), 122.89 (д, C-3''), 72.90 (д, C-12), 71.58 (д, C-3), 48.08 (д, C-14), 46.90 (д, C-17), 46.36 (с, C-13), 41.88 (д, C-5), 36.25 (т, C-4), 35.85 (д, C-8), 35.10 (д, C-20), 35.04 (т, C-1), 33.94 (с, C-10), 33.48 (д, C-9), 32.60 (т, C-22), 30.29 (т, C-2), 28.61 (т, C-11), 27.35 (т, C-16), 26.95 (т, C-6), 25.94 (т, C-7), 23.58 (т, C-23), 23.48 (т, C-15), 22.99 (к, C-19), 17.12 (к, C-21), 12.59 (к, C-18).

Соединения 261d и 262d

Из соединения **260d** (1.2 г, 2.1 ммоль) и KOH (0.9 г, 17 ммоль) в MeOH (25 мл) по общей методике получили продукты **261d** (0.13 г) и **262d** (0.65 г).

24-нор-3 α -гидрокси-12 α -ацетокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-3''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (261d)

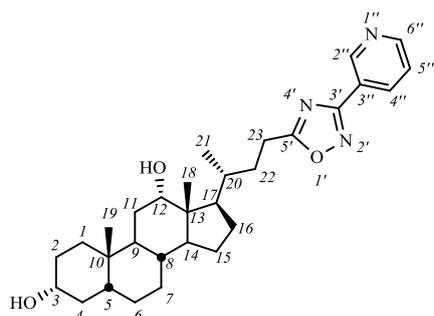


Сырой продукт **261d** очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–3% MeOH в CHCl_3), получили соединение **261d** (0.11 г, выход 69%) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{O}_4\text{N}_2^+$ 535.3405; найдено 535.3412. ^1H

ЯМР (CDCl_3): $\delta = 9.23$ (м, 1H, H-2''), 8.67 (дд, 1H, $J=4.8$, $J=1.6$, H-6''), 8.28 (ддд, 1H, $J=8.0$, $J=2.0$, $J=1.8$, H-4''), 7.37 (м, 1H, H-5''), 5.04 (м, 1H, H-12), 3.57 (м, 1H, H-3), 2.94 (м, 1H, H-23), 2.80 (м, 1H, H-23'), 2.21 (ш.с., 1H, OH), 2.04 (с, 3H, CH_3 -29), 0.85 (д, 3H, $J=6.7$, CH_3 -21), 0.84 (с, 3H, CH_3 -19), 0.68 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 180.67$ (с, C-5'), 170.40 (с, C-28), 166.07 (с, C-3'), 151.65 (д, C-6''), 148.32 (д, C-2''), 134.49 (д, C-4''), 123.47 (д, C-5''), 123.05 (с, C-3''), 75.67 (д, C-12), 71.32 (д, C-3), 49.20 (д, C-14), 47.25 (д, C-17), 44.84 (с, C-13), 41.74 (д, C-5), 36.02 (т, C-4), 35.49 (д, C-8), 34.78 (т, C-1), 34.57 (д, C-20), 34.19 (д, C-9). 33.81 (с, C-10), 32.36 (т, C-22), 30.22 (т, C-2), 27.19 (т, C-16), 26.84 (т, C-6), 25.74 (т, C-7), 25.41 (т, C-11), 23.38 (т, C-23), 23.23 (т, C-15), 22.90 (к, C-19), 21.21 (к, C-29), 17.28 (к, C-21), 12.23 (к, C-18).

24-нор-3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-3''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (262d)

Сырой продукт **262d** очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–4.5% MeOH в CHCl_3), получили соединение **262d** (0.54 г, выход 61%) в виде белого твердого вещества.



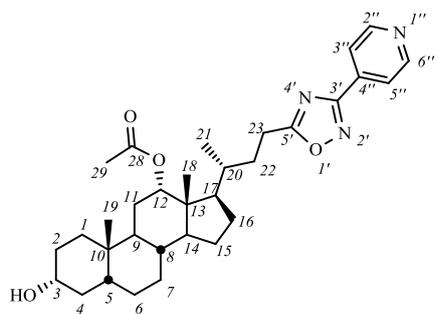
Тпл 167.2-167.6°C [разложение]. HRMS: m/z вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{O}_3\text{N}_3^+$ 493.3299; найдено 493.3294. ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 9.27$ (м, 1H, H-2''), 8.70 (дд, 1H, $J=4.8$, $J=1.6$, H-6''), 8.31 (ддд, 1H, $J=8.0$, $J=2.0$, $J=1.8$, H-4''), 7.39 (м, 1H, H-5''), 3.96 (м, 1H, H-12), 3.58 (м, 1H, H-3), 2.99 (м, 1H, H-23), 2.86 (м, 1H, H-23'), 1.99 (м, 1H, H-22), 1.04 (д, 3H, $J=6.5$, CH_3 -21), 0.95 (м, 1H, H-1'), 0.87 (с, 3H, CH_3 -19), 0.65 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 180.88$ (с, C-5'), 166.15 (с, C-3'), 151.70 (д, C-6''), 148.42 (д, C-2''), 134.58 (д, C-4''), 123.53 (д, C-5''), 123.16 (с, C-3''), 72.90 (д, C-12), 71.56 (д, C-3), 48.13 (д, C-14), 46.91 (д, C-17), 46.38 (с, C-13), 41.90 (д, C-5), 36.28 (т, C-4), 35.87 (д, C-8), 35.06 (т, C-1), 35.06 (д, C-20), 33.96 (с, C-10), 33.51 (д, C-9). 32.52 (т, C-22), 30.32 (т, C-2), 28.67 (т, C-11), 27.36 (т, C-16), 26.96 (т, C-6), 25.97 (т, C-7), 23.50 (т, C-23), 23.48 (т, C-15), 23.01 (к, C-19), 17.11 (к, C-21), 12.61 (к, C-18).

Соединения 261e и 262e

Из соединения **260e** (1.15 г, 2.0 ммоль) и KOH (0.93 г, 16 ммоль) в MeOH (25 мл) по общей методике получили продукты **261e** (0.13 г) и **262e** (0.65 г).

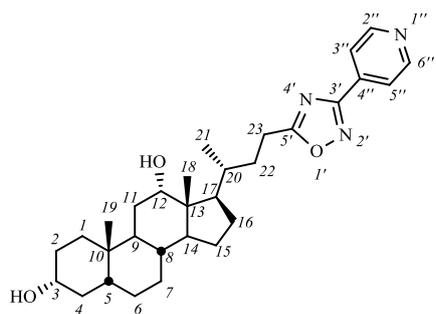
24-нор-3 α -гидрокси-12 α -ацетокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-4''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (261e)

Сырой продукт **261e** очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–1% MeOH в CHCl_3), получили соединение **261e** (0.09 г, выход 62%) в виде бесцветной прозрачной аморфной массы.



Тпл 164.9°C [разложение]. Элем. ан.: вычислено С, 71.74%; Н, 8.47%; N, 7.84%; O, 11.95; найдено С, 71.19%; Н, 7.86%; N, 7.89%. ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8.70$ (м, 2H, H-2'', H-6''), 7.88 (м, 2H, H-3'', H-5''), 5.03 (м, 1H, H-12), 3.57 (м, 1H, H-3), 2.95 (м, 1H, H-23), 2.80 (м, 1H, H-23'), 2.30 (ш.с., 1H, OH), 2.04 (с, 3H, CH_3 -29), 0.84 (д, 3H, $J=6.4$, CH_3 -21), 0.83 (с, 3H, CH_3 -19), 0.67 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 181.02$ (с, C-5'), 170.40 (с, C-28), 166.48 (с, C-3'), 150.35 (д, C-2'', C-6''), 134.22 (с, C-4''), 121.05 (д, C-3'', C-5''), 75.65 (д, C-12), 71.29 (д, C-3), 49.19 (д, C-14), 47.23 (д, C-17), 44.84 (с, C-13), 41.73 (д, C-5), 36.01 (т, C-4), 35.49 (д, C-8), 34.77 (т, C-1), 34.56 (д, C-20), 34.18 (д, C-9), 33.81 (с, C-10), 32.34 (т, C-22), 30.21 (т, C-2), 27.18 (т, C-16), 26.84 (т, C-6), 25.73 (т, C-7), 25.41 (т, C-11), 23.39 (т, C-23), 23.22 (т, C-15), 22.90 (к, C-19), 21.21 (к, C-29), 17.27 (к, C-21), 12.27 (к, C-18).

24-нор-3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холан-23-(3'-(пиридин-4''-ил)-1',2',4'-оксадиазол-5'-ил) (262e)



Сырой продукт **262e** очистили колоночной хроматографией (SiO_2 , градиент 0–5% MeOH в CHCl_3), получили соединение **262e** (0.65 г, выход 76%) в виде белого твердого вещества.

Тпл 77.2°C [разложение]. Элем. ан.: вычислено С, 72.99%; Н, 8.78%; N, 8.51%; O, 9.72; найдено С, 70.02%; Н, 7.86%; N, 8.38%. ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8.72$ (м, 2H, H-2'', H-6''), 7.90 (м, 2H, H-3'', H-5''), 3.95 (м, 1H, H-12), 3.57 (м, 1H, H-3), 2.99 (м, 1H, H-23), 2.85 (м, 1H, H-23'), 2.20 (ш.с., 1H, OH), 1.03 (д, 3H, $J=6.4$, CH_3 -21), 0.87 (с, 3H, CH_3 -19), 0.64 (с, 3H, CH_3 -18). ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 181.16$ (с, C-5'), 166.40 (с, C-3'), 150.25 (д, C-2'', C-6''), 134.25 (с, C-4''), 121.06 (д, C-3'', C-5''), 72.65 (д, C-12), 71.25 (д, C-3), 47.93 (д, C-14), 46.64 (д, C-17), 46.26 (с, C-13), 41.80 (д, C-5), 36.15 (т, C-4), 35.75 (д, C-8), 35.08 (д, C-20), 35.02 (т, C-1), 33.87 (с, C-10), 33.34 (д, C-9), 32.41 (т, C-22), 30.17 (т, C-2), 28.59 (т, C-11), 27.33 (т, C-16), 26.91 (т, C-6), 25.89 (т, C-7), 23.44 (т, C-23), 23.40 (т, C-15), 22.92 (к, C-19), 16.95 (к, C-21), 12.48 (к, C-18).

ВЫВОДЫ

1. Выполнен направленный синтез соединений, содержащих 2-циано-3-оксо-1(2)-еновый фрагмент в цикле А и 12-оксо- или 12-оксо-9(11)-еновый фрагмент в цикле С стероидного остова дезоксихолевой кислоты. Осуществлено региоселективное формирование двойных связей в цикле А 3-оксопроизводных дезоксихолевой кислоты в зависимости от типа используемого электрофильного агента. Анализ результатов исследования антипролиферативной активности показал, что наличие 2-циано-3-оксо-1(2)-енового фрагмента, а также гидроксиметиленовой группы или изоксазольного кольца в цикле А и/или 12-оксо-9(11)-енового фрагмента в цикле С стероидного остова важно для проявления высокой антипролиферативной активности полученных соединений.

2. Показано, что конденсация метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с метилформиатом в присутствии гидрида натрия приводит к региоселективному формированию метилового эфира 2-гидроксиметилен-3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты. Синтезирован ряд 2-аминометиленовых производных дезоксихолевой кислоты модификацией гидроксиметиленовой группы диаминами и аминспиртами. Изучение антипролиферативной активности показало, что введение азотсодержащих функциональных групп в положение 2 стероидного остова приводит к увеличению антипролиферативной активности по сравнению с исходной кислотой.

3. Изучение реакции метилового эфира 3,12-диоксо-5 β -холан-24-овой кислоты с метилидом диметилсульфония и метилидом диметилсульфоксония; показало, что при использовании последнего образуется единственный стереоизомер эпоксипроизводного – метиловый эфир С-3 β -эпокси-12-оксо-5 β -холан-24-овой кислоты. Раскрытием эпоксидного цикла азот- и серацентрированными нуклеофилами синтезирована серия новых производных дезоксихолевой кислоты, содержащих в положении 3 различные алифатические и циклические полифункциональные амины, или арил- и гетарилсульфанильные фрагменты. Выявлено, что, с точки зрения увеличения антипролиферативной активности, введение азотсодержащих функциональных групп в положение 3 стероидного остова является более предпочтительным, чем в положение 2, а также более предпочтительным, чем введение в положение 3 арил- или гетарилсульфанильных фрагментов.

4. Синтезирован ряд биоизостеров дезоксихолевой кислоты, обладающих антипролиферативной активностью, трансформацией нативной карбоксильной группы в 3'-замещенные 1',2',4'-оксадиазольные циклы, содержащие алкильные или ароматические заместители.

Список сокращений и условных обозначений

9-BBN – 9-борабицикло[3.3.1]нонан

Woc – *трет*-бутоксикарбонил

Buⁿ – *n*-бутил

Bu^t – *трет*-бутил

CAR – конститутивный андростан-рецептор

CDI – 1,1'-карбонилдиимидазол

COSY – корреляционная спектроскопия

DCC – *N,N'*-дициклогексилкарбодиимид

DEAD – диэтиловый эфир азодикарбоновой кислоты

DHP – дигидропиран

DIBAL-H – диизобутилалюминийгидрид

DIPEA – *N,N*-диизопропилэтиламин

DMAP – 4-диметиламинопиридин

DMPU – 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон

EDC – 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)-карбодиимид

EEDQ – *N*-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин

FDA – администрация по контролю за лекарственными препаратами и пищевыми продуктами
США

FXR – фарнезоидный X-рецептор

GP-BAR1 (TGR5) – сопряженный с G-белком мембранный рецептор

HMBC – гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия

HMPA – гексаметилфосфортриамид

HOBT – 1-гидроксibenзотриазол

HRMS – масс-спектрометрия высокого разрешения

HSDH – гидроксистероид дегидрогеназа

HSQC – гетероядерная одноквантовая корреляционная спектроскопия

IBX – 2-иодоксибензойная кислота

IC₅₀ – концентрация полумаксимального ингибирования

LDA – диизопропиламид лития

LMWH – низкомолекулярный гепарин

LXR – печеночный X-рецептор

m-CPBA – *мета*-хлорпероксибензойная кислота

MEM – метоксиэтоксиметил

MIC – минимальная ингибирующая концентрация
MOM – метоксиметил
MTT-реагент – бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразола
MTT-тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток
MW – микроволновое излучение
NBS – *N*-бромсукцинимид
NOESY – ядерная спектроскопия с эффектом Оверхаузера
Nu – нуклеофил
PCC – хлорхромат пиридиния
Prⁱ – изопропил
Prⁿ – пропил
PXR – прегнановый X-рецептор
Py – пиридин
Selectride – три(*втор*-бутил)гидроборат
SI – индекс селективности
TBDMS – *трет*-бутилдиметилсилил
TGR5 (GP-BAR1) – сопряженный с G-белком мембранный рецептор
THP – тетрагидропиранил
TMSOTf – триметилсилилтрифлат
VDR – рецептор витамина D
Δ – кипячение
Дегидро-ХК – дегидрохолевая кислота; 3,7,12-триоксо-5β-холановая кислота
ДХК – дезоксихолевая кислота
ЖК – желчная(ые) кислота(ы)
ЛХК – литохолевая кислота
УДХК – урсодезоксихолевая кислота
ХДХК – хенодесоксихолевая кислота
ХК – холевая кислота
ЯМР – ядерный магнитный резонанс

Список литературы

-
- ¹ Popadyuk I.I., Markov A.V., Salomatina O.V., Logashenko E.B., Shernyukov A.V., Zenkova M.A., Salakhutdinov N.F. Synthesis and biological activity of novel deoxycholic acid derivatives // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – V. 23. – P. 5022-5034.
- ² Попадюк И.И., Саломатина О.В., Салахутдинов Н.Ф. Современные подходы к модификациям желчных кислот с целью синтеза соединений, обладающих ценными физико-химическими и биологическими свойствами // *Успехи химии.* – 2017. – Вып. 86(5). – С. 388–443.
- ³ Popadyuk I.I., Markov A.V., Babich V.O., Salomatina O.V., Logashenko E.B., Zenkova M.A., Salakhutdinov N.F. Novel derivatives of deoxycholic acid bearing aliphatic or cyclic diamine moieties at the C-3 position: synthesis and evaluation of anti-proliferative activity // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.06.072.
- ⁴ Hofmann A.F., Hagey L.R. Key discoveries in bile acid chemistry and biology and their clinical applications // *J. Lipid Res.* – 2014. – V. 55. – P. 1553-1595.
- ⁵ Mukhopadhyay S., Maitra U. Chemistry and biology of bile acids // *Curr. Sci.* – 2004. – V. 87. – P. 1666-1683.
- ⁶ Hofmann A.F., Hagey L.R., Krasowski M.D. Bile salts of vertebrates. structural variation and possible evolutionary significance // *J. Lipid Res.* – 2010. – V. 51. – № 2. – P. 226-246.
- ⁷ Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: в 2-х томах. Москва. : Мир, 1993. – Т. 1. – С. 281-283. [Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. Harper's biochemistry. Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut/San Mateo, California. 1988].
- ⁸ Russel D.W. The Enzymes, regulation, and Genetics of Bile Acid Synthesis // *Annu. Rev. Biochem.* – 2003. –V. 72. –P. 137-174.
- ⁹ Zwicker B.L., Agellon L.B. Transport and biological activities of bile acids // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2013. – V. 45. – P. 1389-1398.
- ¹⁰ Hofmann A.F., Mysels K.J. Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and Ca²⁺ ions // *J. Lipid Res.* – 1992. – V. 33. – P. 617-626.
- ¹¹ Pat. US 2438232 A / Preparation of cholic acid / Sifferd R.H., Armour and Company, Chicago, Ill., a corporation of Illinois – 23.03.1948.
- ¹² Gattermann L., Wieland H. Laboratory methods of organic chemistry. New York: The Macmillan Company. 1952. 411 p.
- ¹³ Pat. WO 2007/078039 A1 / Purification process for chenodeoxycholic acid / Kim T.Y., Kim Y.S., Lim Y.M., Kim W.Y., Yoon Y.J., Jin Y.S., Lee B.G., Choi S.J., Lee S.J., DAEWOONG PHARMACEUTICAL CO., LTD – 12.07.2007.

-
- ¹⁴ Pat. US 2002/183531 A1 / Preparation of bile acids / Faarup P. – 05.12.2002.
- ¹⁵ Pat. WO 2011/075701 A2 / Methods for the purification of deoxycholic acid / Moriarty R.M., Prasad A.R., Reid J.G., Swaringen Jr. R.A., KYTHERA BIOPHARMACEUTICALS, INC. – 23.06.2011.
- ¹⁶ Eggert T., Bakonyi D., Hummel W. Enzymatic routes for the synthesis of ursodeoxycholic acid // J. Biotechnol. – 2014. – V. 191. P. 11-21.
- ¹⁷ Salvador J.A.R., Carvalho J.F.S., Neves M.A.C., Silvestre S.M., Leitão A.J., Silva M.C., Sá e Melo M.L. Anticancer steroids: linking natural and semi-synthetic compounds // Nat. Prod. Rep. – 2013. – V. 30. – P. 324-374.
- ¹⁸ Sharma R., Long A., Gilmer J.F. Advances in Bile acid Medicinal Chemistry // Curr. Med. Chem. – 2011. V. 18. – P. 4029-4052.
- ¹⁹ Arlia-Ciommo A., Piano A., Svistkova V., Mohtashami S., Titorenko V.I. Mechanisms Underlying the Anti-Aging and Anti-Tumor Effects of Lithocholic Bile Acid // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – V. 15. – P. 16522-16543.
- ²⁰ Horowitz N.S., Hua J., Powell M.A., Gibb R.K., Mutch D.G., Herzog T.J. Novel cytotoxic agents from an unexpected source: Bile acids and ovarian tumor apoptosis // Gynecol. Oncol. – 2007. – V. 107. – P. 344–349.
- ²¹ Rodrigues C.M.P., Castro R.E., Steer C.J. The role of bile acids in the modulation of apoptosis // The Liver in Biology and Disease. Princ. Med. Biol. – 2004. – V. 15. – P. 119–145.
- ²² Kong W., Wang J., Xing X., Xiao X., Zhao Y., Zang Q., Zhang P., Jin C., Li Z., Liu W. Antifungal evaluation of cholic acid and its derivatives on *Candida albicans* by microcalorimetry and chemometrics // Anal. Chim. Acta. – 2011. – V. 689. – P. 250-256.
- ²³ Kong W., Jin C., Xiao X., Zhao Y., Li Z., Zhang P., Liu W., Li X.-F. Comparative study of effects of two bile acid derivatives on *Staphylococcus aureus* by multiple analytical methods // J. Hazard. Mater. – 2010. –V. 179. – P. 742-474.
- ²⁴ Amaral J.D., Viana R.J.S., Ramalho R.M., Steer C.J., Rodrigues C.M.P. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid // J. Lipid Res. – 2009. V. 50. – P. 1721-1734.
- ²⁵ Sharma R., Prichard D., Majer F., Byrne A.-M., Kelleher D., Long A., Gilmer J. F. Ursodeoxycholic acid amides as novel glucocorticoid receptor modulators // J. Med. Chem. – 2011. – V. 54. – P. 122-130.
- ²⁶ Xie Q., Khaoustov V.I., Chung C.C., Sohn J., Krishnan B., Lewis D.E., Yoffe B. Effect of Tauroursodeoxycholic Acid on Endoplasmic Reticulum Stress–Induced Caspase-12 Activation // Hepatology. – 2002. – V. 36. – P. 592-601.

-
- ²⁷ Özcan U., Yilmaz E., Özcan L., Furuhashi M., Vaillancourt E., Smith R.O., Görgün C.Z., Hotamisligil G.S. Chemical Chaperones Reduce ER Stress and Restore Glucose Homeostasis in a Mouse Model of Type 2 Diabetes // *Science*. – 2006. – V. 313. – P. 1137-1140.
- ²⁸ Groenendyk J., Lee D., Jung J., Dyck J.R.B., Lopaschuk G.D., Agellon L.B., Michalak M. Inhibition of the Unfolded Protein Response Mechanism Prevents Cardiac Fibrosis // *PLoS ONE*. – 2016. – V. 11. – e0159682. – P. 1-15.
- ²⁹ Zimmer A., Gespach C. Bile Acids and Derivatives, Their Nuclear Receptors FXR, PXR and Ligands: Role in Health and Disease and Their Therapeutic potential // *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* – 2008. – V. 8. – № 5. – P. 540-563.
- ³⁰ Parks D.J., Blanchard S.G., Bledsoe R.K., Chandra G., Consler T.G., Kliewer S.A., Stimmel J.B., Willson T.M., Zavacki A.M., Moore D.D., Lehmann J.M. Bile Acids: Natural Ligands for an Orphan Nuclear Receptor // *Science*. – 1999. – V. 284. P. 1365-1368.
- ³¹ Staudinger J.L., Goodwin B., Jones S.A., Hawkins-Brown D., MacKenzie K.I., LaTour A., Liu Y., Klaassen C.D., Brown K.K., Reinhard J., Willson T.M., Koller B.H., Kliewer S.A. The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2001. – V. 98. – № 6. – P. 3369-3374.
- ³² Makishima M., Lu T.T., Xie W., Whitfield G.K., Domoto H., Evans R.M., Haussler M.R., Mangelsdorf D.J. Vitamin D Receptor As an Intestinal Bile Acid Sensor // *Science*. – 2002. – V. 296. – P. 1313-1316.
- ³³ Pellicciari R., Gioiello A., Macchiarulo A., Thomas C., Rosatelli E., Natalini B., Sardella R., Pruzanski M., Roda A., Pastorini E., Schoonjans K., Auwerx J. Discovery of 6 α -Ethyl-23(S)-methylcholic Acid (S-EMCA, INT-777) as a Potent and Selective Agonist for the TGR5 Receptor, a Novel Target for Diabetes // *J. Med. Chem.* – 2009. – V. 52. – P. 7958-7961.
- ³⁴ Maruyama T., Miyamoto Y., Nakamura T., Tamai Y., Okada H., Sugiyama E., Nakamura T., Itadani H., Tanaka K. Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR) // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2002. – V. 298. – P. 714-719.
- ³⁵ Hofmann A.F. The continuing importance of Bile acids in Liver and Intestinal Disease // *Arch. Intern. Med.* – 1999. – V. 159. – P. 2647-2658.
- ³⁶ Sharma R., Majer F., Peta V.K., Wang J., Keaveney R., Kelleher D., Long A., Gilmer J.F. Bile acid toxicity structure–activity relationships: Correlations between cell viability and lipophilicity in a panel of new and known bile acids using an oesophageal cell line (HET-1A) // *Bioorg. Med. Chem.* – 2010. – V. 18. – P. 6886-6895.
- ³⁷ Arias I.M. *et al.* *The Liver. Biology and Pathobiology*. 5th Edition. (Eds I. M. Arias, H. J. Alter, J. L. Boyer, D. L. Cohen, N. Fausto, D. A. Shafritz, A. W. Wolkoff). Wiley-Blackwell, 2009.

- ³⁸ G. Jenkins, L. J. Hardie. *Bile Acids. Toxicology and Bioactivity*. RCS Publishing Royal Society of Chemistry, 2008.
- ³⁹ Enhsen A., Kramer W., Wess G. Bile acids in drug discovery // *Drug Discovery Today*. – 1998. – V. 3. – P. 409-418.
- ⁴⁰ Kang J.H., Hwang S.R., Sung S., Jang J.A., Md. Alam M., Sa K.H., Kim S.-Y., Kim I.S., Byun Y.R., Kang Y.M. Intracellular delivery of desulfated heparin with bile acid conjugation alleviates T cell-mediated inflammatory arthritis via inhibition of RhoA-dependent transcellular diapedesis // *J. Controlled Release*. – 2014. – V. 183. – P. 9-17.
- ⁴¹ Pathil A., Warth A., Chamulitrat W., Stremmel W. Comparison of different bile acid–phospholipid conjugates in acute hepatitis // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2012. – V. 42. – P. 130-138.
- ⁴² Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Antonchick A.V., Antonchick A.P. Synthesis of (24S)-Hydroxy and (24S)-24,25-Epoxycholesterol Analogues, Potential Agonists of Nuclear LXR Receptors // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2006. – V. 32. – P. 586-594. [Биоорганическая химия. 2006. – № 32 (6). – С. 651-659]
- ⁴³ Sepe V., Renga B., Festa C., D'Amore C., Masullo D., Cipriani S., Di Leva F.S., Monti M.C., Novellino E., Limongelli V., Zampella A., Fiorucci S. Modification on Ursodeoxycholic Acid (UDCA) Scaffold. Discovery of Bile Acid Derivatives As Selective Agonists of Cell-Surface G-Protein Coupled Bile Acid Receptor 1 (GP-BAR1) // *J. Med. Chem.* – 2014. – V. 57. – P. 7687-7701.
- ⁴⁴ Festa C., Renga B., D'Amore C., Sepe V., Finamore C., De Marino S., Carino A., Cipriani S., Monti M.C., Zampella A., Fiorucci S. Exploitation of Cholane Scaffold for the Discovery of Potent and Selective Farnesoid X Receptor (FXR) and G-Protein Coupled Bile Acid Receptor 1 (GP-BAR1) Ligands // *J. Med. Chem.* – 2014. – V. 57. – P. 8477-8495.
- ⁴⁵ Gubitosi M., Trillo J.V., Vargas A.A., Pavel N.V., Gazzoli D., Sennato S., Jover A., Mejjide F., Galantini L. Characterization of Carbon Nanotube Dispersions in Solutions of Bile Salts and Derivatives Containing Aromatic Substituents // *J. Phys. Chem. B*. – 2014. – V. 118. – P. 1012-1021.
- ⁴⁶ Qiao Y., Lin Y., Zhang S., Huang J. Lanthanide-Containing Photoluminescent Materials. From Hybrid Hydrogel to Inorganic Nanotubes // *Chem. - Eur. J.* – 2011. – V. 17. – P. 5180-5187.
- ⁴⁷ Chakrabarty A., Maitra U., Das A.D. Metal cholate hydrogels. Versatile supramolecular systems for nanoparticle embedded soft hybrid materials // *J. Mater. Chem.* – 2012. – V. 22. – P. 18268-18274.
- ⁴⁸ Chakrabarty A., Chatterjee S., Maitra U. Cadmium deoxycholate: a new and efficient precursor for highly luminescent CdSe nanocrystals // *J. Mater. Chem. C*. – 2013. – V. 1. – P. 2136-2144.
- ⁴⁹ Margulis-Goshen K., di Gregorio M.C., Pavel N.V., Abezgauz L., Danino D., Tato J.V., Tellini V.H.S., Magdassi S., Galantini L. Drug-loaded nanoparticles and supramolecular nanotubes formed

from a volatile microemulsion with bile salt derivatives // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2013. – V. 15. – P. 6016-6024.

⁵⁰ Yang L., Luo J., Shi S., Zhang Q., Sun X., Zhang Z., Gong T. Development of a pulmonary peptide delivery system using porous nanoparticle-aggregate particles for systemic application // *Int. J. Pharm.* – 2013. – V. 451. – P. 104-111.

⁵¹ Pat. WO 03/095470 A1 / Platinum complexes having antitumor activity / Bartoli E., Palmieri B., Medici A., ICE S.R.L. – 20.11.2003

⁵² Pérez-Andrés M., Benito J.J., Rodríguez-Fernández E., Manzano J.L., Barrera S., Orfao A., Criado J.J. Synthesis and Cytotoxic Activity of Cisplatin Analogue with an Ursodeoxycholate Ligand // *Lett. Drug Des. Discovery.* – 2007. – V. 4. – P. 341-345.

⁵³ Bergamini P., Marchesi E., Pagnoni A., Lambertini E., Franceschetti T., Penolazzi L., Piva R. Synthesis, characterization of strontium-bile acid salts and their bioactivity vs. the anti-osteoporosis drug strontium ranelate // *J. Inorg. Biochem.* – 2009. – V. 103. – P. 891-897.

⁵⁴ Culiță D.C., Marinescu G., Patron L., Țună F., Stanică N., Yun M. Coordination compounds of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) with ursodeoxycholic acid // *Rev. Roum. Chim.* – 2010. – V. 55. – P. 63-67.

⁵⁵ Tripathi K., Kumar D.A.J., Siva T. Synthesis of organometallic complexes of cholic acid // *Orient. J. Chem.* – 2010. – V. 26. – P. 983-988.

⁵⁶ Auzias M., Therrien B., Süss-Fink G. $\text{Ru}_2(\text{CO})_4(\text{OOCR})_2(\text{PPh}_3)_2$ sawhorse-type complexes containing $\mu_2\text{-}\eta^2$ -carboxylato ligands derived from biologically active acids // *Inorg. Chim. Acta.* – 2006. – V. 359. – P. 3412-3416.

⁵⁷ Jasiewicz B., Mrówczyńska L., Malczewska-Jaskóła K. Synthesis and haemolytic activity of novel salts made of nicotine alkaloids and bile acids // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – V. 24. – P. 1104-1107.

⁵⁸ Shaheen F., Ali S., Rosario S., Shah N.A. Synthesis and structural elucidation of bioactive triorganotin(IV) derivatives of Sodium deoxycholate // *J. Coord. Chem.* – 2014. – V. 67. – P. 1851-1861.

⁵⁹ Pat. WO 03/095462 A2 / Platinum complexes containing chemically modified bile acids, having antitumor activity / Bartoli E., Palmieri B., Medici A., ICE S.R.L. – 20.11.2003

⁶⁰ Nannelli A., Messina A., Marini S., Trasciatti S., Longo V., Gervasi P.G. Effects of the anticancer dehydrotarplatin on cytochrome P450 and antioxidant enzymes in male rat tissues // *Arch. Toxicol.* – 2007. – V. 81. – P. 479-487.

-
- ⁶¹ Lampronti I., Bianchi N., Zuccato C., Medici A., Bergamini P., Gambari R. Effects on erythroid differentiation of platinum(II) complexes of synthetic bile acid derivatives // *Bioorg. Med. Chem.* – 2006. – V. 14. – P. 5204-5210.
- ⁶² Barbara C., Orlandi P., Bocci G., Fioravanti A., Di Paolo A., Natale G., Del Tacca M., Danesi R. In vitro and in vivo antitumour effects of novel, orally active bile acid-conjugated platinum complexes on rat hepatoma // *Eur. J. Pharmacol.* – 2006. – V. 549. – P. 27-34.
- ⁶³ Thi T.H.N., Cardová L., Dvořáková M., Ročková D., Drašar P. Synthesis of cholic acid based calixpyrroles and porphyrins // *Steroids.* – 2012. – V. 77. – P. 858-863.
- ⁶⁴ Sokolova N.V., Latyshev G.V., Lukashev N.V., Nenajdenko V.G. Design and synthesis of bile acid-peptide conjugates linked via triazole moiety // *Org. Biomol. Chem.* – 2011. – V. 9. – P. 4921-4926.
- ⁶⁵ Nonappa, Maitra U. Simple esters of cholic acid as potent organogelators: direct imaging of the collapse of SAFINs // *Soft Matter.* – 2007. – V. 3. – P. 1428-1433.
- ⁶⁶ Ikonen S., Macíčková-Cahová H., Pohl R., Šanda M., Hocek M. Synthesis of nucleoside and nucleotide conjugates of bile acids, and polymerase construction of bile acid-functionalized DNA // *Org. Biomol. Chem.* – 2010. – V. 8. – P. 1194-1201.
- ⁶⁷ Maslov M.A., Morozova N.G., Solomatina T.V., Shaforostova N.G., Serebrennikova G.A. Synthesis of Amino Analogues of Cholic Acid // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2011. – V. 37. – P. 507-515. [Биоорганическая химия. 2011. – № 37(4). – С. 567-576].
- ⁶⁸ Wang P., She G., Yang Y., Li Q., Zhang H., Liu J., Cao Y., Xu X., Lei H. Synthesis and Biological Evaluation of New Ligustrazine Derivatives as Anti-Tumor Agents // *Molecules.* – 2012. – V. 17. – P. 4972-4985.
- ⁶⁹ Banerjee S., Vidya V.M., Savyasachi A.J., Maitra U. Perfluoroalkyl bile esters: a new class of efficient gelators of organic and aqueous-organic media // *J. Mater. Chem.* – 2011. – V. 21. – P. 14693-14705.
- ⁷⁰ Linares G.G., Zigolo M.A., Simonetti L., Longhi S.A., Baldessari A. Enzymatic synthesis of bile acid derivatives and biological evaluation against *Trypanosoma cruzi* // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – V. 23. – P. 4804-4814.
- ⁷¹ Vatmurge N.S., Hazra B.G., Pore V.S., Shirazi F., Deshpande M.V., Kadreppa S., Chattopadhyay S., Gonnaded R.G. Synthesis and biological evaluation of bile acid dimers linked with 1,2,3-triazole and bis- β -lactam // *Org. Biomol. Chem.* – 2008. – V. 6. – P. 3823-3830.
- ⁷² Jurček O., Wimmer Z., Svobodová H., Bennettová B., Kolehmainen E., Drašar P. Preparation and preliminary biological screening of cholic acid-juvenoid conjugates // *Steroids.* – 2009. – V. 74. – P. 779-785.

-
- ⁷³ Svobodová H., Ryšavá H., Pavlík M., Šaman D., Drašar P., Wimmer Z. Steroid conjugates: Synthesis and preliminary biological testing of pro-juvenoids // *Bioorg. Med. Chem.* – 2010. – V. 18. – P. 8194-8203.
- ⁷⁴ Vatmurge N.S., Hazra B.G., Pore V.S., Shirazi F., Chavan P.S., Deshpande M.V. Synthesis and antimicrobial activity of β -lactam–bile acid conjugates linked via triazole // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2008. – V. 18. – 2043-2047.
- ⁷⁵ Paschke R., Kalbitz J., Paetz C., Luckner M., Mueller T., Schmoll H.-J., Mueller H., Sorkau E., Sinn E. Cholic acid–carboplatin compounds (CarboChAPt) as models for specific drug delivery: synthesis of novel carboplatin analogous derivatives and comparison of the cytotoxic properties with corresponding cisplatin compounds // *J. Inorg. Biochem.* – 2003. – V. 94. – P. 335-342.
- ⁷⁶ Paschke R., Kalbitz J., Paetz C. Novel spacer linked bile acid–cisplatin compounds as a model for specific drug delivery, synthesis and characterization // *Inorg. Chim. Acta.* – 2000. – V. 304. – P. 241-249.
- ⁷⁷ Aher N.G., Pore V.S., Mishra N.N., Kumar A., Shukla P.K., Sharma A., Bhat M.K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – V. 19. – P. 759-763.
- ⁷⁸ El Kihel L., Clément M., Bazin M.-A., Descamps G., Khalid M., Rault S. New lithocholic and chenodeoxycholic piperazinylcarboxamides with antiproliferative and pro-apoptotic effects on human cancer cell lines // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – V. 16. – P. 8737-8744.
- ⁷⁹ Bülbül M., Saraçoğlu N., Küfrevioğlu Ö.İ., Çiftçi M. Bile Acid Derivatives of 5-Amino-1,3,4-thiadiazole-2-sulfonamide as New Carbonic Anhydrase Inhibitors: Synthesis and Investigation of Inhibition Effects // *Bioorg. Med. Chem.* – 2002. – V. 10. – P. 2561-2567.
- ⁸⁰ Noponen V., Belt H., Lahtinen M., Valkonen A., Salo H., Ulrichova J., Galandakova A., Sievanen E. Bile acid–cysteamine conjugates: Structural properties, gelation, and toxicity evaluation // *Steroids.* – 2012. – V. 77. – P. 193-203.
- ⁸¹ Vallejo M., Castro M.A., Medarde M., Macias R.I.R., Romero M.R., El-Mir M.Y., Monte M.J., Briz O., Serrano M.A., Marin J.J.G. Novel bile acid derivatives (BANBs) with cytostatic activity obtained by conjugation of their side chain with nitrogenated bases // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – V. 73. – P. 1394-1404.
- ⁸² Vicens M., Medarde M., Macias R.I.R., Larena M.G., Villafaina A., Serrano M.A., Marin J.J.G. Novel cationic and neutral glycocholic acid and polyamine conjugates able to inhibit transporters involved in hepatic and intestinal bile acid uptake // *Bioorg. Med. Chem.* – 2007. – V. 15. – P. 2359-2367.

-
- ⁸³ Hazra B.G., Pore V.S., Dey S.K., Datta S., Darokar M.P, Saikia D., Khanuja S.P.S., Thakur A.P. Bile acid amides derived from chiral amino alcohols: novel antimicrobials and antifungals // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2004. – V. 14. – P. 773-777.
- ⁸⁴ Park J.-K., Kim T.-H., Nam J.-P., Park S.C., Park Y., Jang M.-K., Nah J.-W. Bile Acid Conjugated Chitosan Oligosaccharide Nanoparticles for Paclitaxel Carrier // *Macromol. Res.* –2014. – V. 22. – № 3. – P. 310-317.
- ⁸⁵ Wu D., Ji S., Wu Y., Ju Y., Zhao Y. Design, synthesis, and antitumor activity of bile acid–polyamine–nucleoside conjugates // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2007. – V. 17. – P. 2983-2986.
- ⁸⁶ Scozzafava A., Supuran C.T. Carbonic Anhydrase Inhibitors. Preparation of Potent Sulfonamides Inhibitors Incorporating Bile Acid Tails // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2002. – V. 12. – P. 1551-1557.
- ⁸⁷ Blagbrough I.S., Al-Hadithi D., Geall A.J. Cheno-, urso- and deoxycholic acid spermine conjugates: relative binding affinities for calf thymus DNA // *Tetrahedron.* – 2000. – V. 56. – P. 3439-3447.
- ⁸⁸ Rasras A.J.M., Al-Tel T.H., Al-Aboudi A.F., Al-Qawasmeh R.A. Synthesis and antimicrobial activity of cholic acid hydrazone analogues // *Eur. J. Med. Chem.*, – 2010. – V. 45. – P. 2307-2313.
- ⁸⁹ Valkonen A., Lahtinen M., Kolehmainen E. Syntheses and structural study of bile acid amidoalcohols // *Steroids.* – 2008. – V. 73. – P. 1228-1241.
- ⁹⁰ Huang L., Sun Y., Zhu H., Zhang Y., Xu J., Shen Y.-M. Synthesis and antimicrobial evaluation of bile acid tridentate conjugates // *Steroids.* – 2009. – V. 74. – P. 701-706.
- ⁹¹ Salunke D.B., Hazra B.G., Pore V.S., Bhat M.K., Nahar P.B., Deshpande M.V. New Steroidal Dimers with Antifungal and Antiproliferative Activity // *J. Med. Chem.* – 2004. – V. 47. – P. 1591-1594.
- ⁹² Pat. US 2006/0003974 A1 / Bile acid derived steroidal dimers with amphiphilic topology having antiproliferative activity / Salunke D.B., Hazra B.G., Pore V.S., Bhat M.K., Council of scientific and industrial research; National center for cell science. New York. – 05.01.2006.
- ⁹³ Li Y., Zhang Z., Ju Y., Zhao C.-Q. Design, Synthesis and Antitumor Activity of Dimeric Bile Acid-Amino Acid Conjugates // *Lett. Org. Chem.* – 2007. – V. 4. – № 6. – P. 414-418.
- ⁹⁴ Chong H.-S., Song H.A., Ma X., Lim S., Sun X., Mhaske S.B. Bile acid-based polyaminocarboxylate conjugates as targeted antitumor agents. // *Chem. Commun.* – 2009. – V. 21. – P. 3011–3013.
- ⁹⁵ Vicens M., Macias R.I.R., Briz O., Rodriguez A., El-Mir M.Y., Medarde M., Marin J.J.G. Inhibition of the intestinal absorption of bile acids using cationic derivatives: Mechanism and repercussions // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – V. 73. – P. 394-404.
- ⁹⁶ Tolle-Sander S., Lentz K.A., Maeda D.Y., Coop A., Polli J.E. Increased Acyclovir Oral Bioavailability via a Bile Acid Conjugate // *Mol. Pharmaceutics.* – 2004. – V. 1. – № 1. – P. 40-48.

- ⁹⁷ Huang L., Zhu H., Xu X., Zhang C., Shen Y.-M. Synthesis and characterization of organometallic rhenium(I) and technetium(I) bile acid complexes // *J. Organomet. Chem.* – 2009. – V. 694. – P. 3247-3253.
- ⁹⁸ Chong H.-S., Chen Y., Kang C.S., Sun X., Wu N. Novel ⁶⁴Cu-radiolabeled bile acid conjugates for targeted PET imaging // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – V. 25. – P. 1082-1085.
- ⁹⁹ Łotowski Z., Kulesza U. Studies on the synthesis of cholane derivatives containing a mercapto group and their dimers with disulfide spacers. Part 1. 24-Mercapto-5 β -cholane-3 α ,7 α ,12 α -triol and its C(24)–C(24') disulfide dimer // *J. Sulfur Chem.* – 2010. – V. 31. – № 2. – P. 97-102.
- ¹⁰⁰ Bukiya A.N., Patil S.A., Li W., Miller D.D., Dopico A.M. Calcium- and Voltage-Gated Potassium (BK) Channel Activators in the 5 β -Cholanic Acid-3 α -ol Analogue Series with Modifications in the Lateral Chain // *Chem. Med. Chem.* – 2012. – V. 7. – P. 1784-1792.
- ¹⁰¹ Omura K., Adachi Y., Kobayashi Y., Sekiguchi S., Zhou B., Iida T. Chemical Synthesis of the Epimeric (23R)- and (23S)-Fluoro Derivatives of Bile Acids via Horner–Wadsworth–Emmons Reaction // *Lipids.* – 2015. – V. 50. – P. 919-926.
- ¹⁰² Koivukorpi J., Valkonen A., Kolehmainen E. Synthesis and characterization of lithocholic acid derived dipyrromethanes: precursors for pyrrole-steroidal macrocycles // *J. Mol. Struct.* – 2004. – V. 693. – P. 81-86.
- ¹⁰³ Bhat S., Maitra U. Low molecular mass cationic gelators derived from deoxycholic acid: remarkable gelation of aqueous solvents // *Tetrahedron.* – 2007. – V. 63. – P. 7309-7320.
- ¹⁰⁴ Carnell A.J., Hale I., Denis S., Wanders R.J.A., Isaacs W.B., Wilson B.A., Ferdinandusse S. Design, Synthesis, and In Vitro Testing of r-Methylacyl-CoA Racemase Inhibitors // *J. Med. Chem.* – 2007. – V. 50. – P. 2700-2707.
- ¹⁰⁵ Nahar L., Turner A.B., Sarker S.D. Synthesis of Hydroxy Acids of Dinorcholane and 5 β -Cholane // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2009. – V. 20. – P. 88-92.
- ¹⁰⁶ Alcalde M.A., Jover A., Meijide F., Galantini L., Pavel N.V., Antelo A., Tato J.V. Synthesis and Characterization of a New *Gemini* Surfactant Derived from 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-amine (Steroid Residue) and Ethylenediaminetetraacetic Acid (Spacer) // *Langmuir.* – 2008. – V. 24. – P. 6060-6066.
- ¹⁰⁷ Sangeetha N.M., Balasubramanian R., Maitra U., Ghosh S., Raju A.R. Synthesis and Characterization of a New *Gemini* Surfactant Derived from 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-amine (Steroid Residue) and Ethylenediaminetetraacetic Acid (Spacer) // *Langmuir.* – 2002. – V. 18. – P. 7154-7157.

- ¹⁰⁸ Sangeetha N.M., Bhat S., Choudhury A.R., Maitra U., Terech P. Properties of Hydrogels Derived from Cationic Analogues of Bile Acid: Remarkably Distinct Flowing Characteristics // *J. Phys. Chem. B.* – 2004. – V. 108. – P. 16056-16063.
- ¹⁰⁹ Pore V.S., Aher N.G., Kumar M., Shukla P.K. Design and synthesis of fluconazole/bile acid conjugate using click reaction // *Tetrahedron.* – 2006. – V. 62. – P. 11178-11186.
- ¹¹⁰ Maitra U., Babu P. First synthesis of phosphonobile acids and preliminary studies on their aggregation properties // *Steroids.* – 2003. – V. 68. – P. 459-463.
- ¹¹¹ Babu P., Maitra U. Synthesis and in vitro cholesterol dissolution by 23- and 24-phosphonobile acids // *Steroids.* – 2005. – V. 70. – P. 681-689.
- ¹¹² Bortolini O., Fantin G., Fogagnolo M., Rossetti S., Maiuolo L., Di Pompo G., Avnet S., Granchi D. Synthesis, characterization and biological activity of hydroxyl-bisphosphonic analogs of bile acids // *Eur. J. Med. Chem.* – 2012. – V. 52. – P. 221-229.
- ¹¹³ Pellicciari R., Sato H., Gioiello A., Costantino G., Macchiarulo A., Sadeghpour B.M., Giorgi G., Schoonjans K., Auwerx J. Nongenomic Actions of Bile Acids. Synthesis and Preliminary Characterization of 23- and 6,23-Alkyl-Substituted Bile Acid Derivatives as Selective Modulators for the G-Protein Coupled Receptor TGR5 // *J. Med. Chem.* – 2007. – V. 50. – P. 4265-4268.
- ¹¹⁴ Yu D.D., Sousa K.M., Mattern D.L., Wagner J., Fu X., Vaidehi N., Forman B.M., Huang W. Stereoselective synthesis, biological evaluation, and modeling of novel bile acid-derived G-protein coupled Bile acid receptor 1 (GP-BAR1, TGR5) agonists // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – V. 23. – P. 1613-1628.
- ¹¹⁵ Sato H., Macchiarulo A., Thomas C., Gioiello A., Une M., Hofmann A.F., Saladin R., Schoonjans K., Pellicciari R., Auwerx J. Novel Potent and Selective Bile Acid Derivatives as TGR5 Agonists: Biological Screening, Structure-Activity Relationships, and Molecular Modeling Studies // *J. Med. Chem.* – 2008. – V. 51. – P. 1831-1841.
- ¹¹⁶ Хрипач В.А., Жабинский В.Н., Антончик А.В. Построение боковых цепей стероидов с использованием реакций Кневенагеля // *Изв. Нац. Акад. Наук Беларуси Серия Хим. Наук.* – 2010. – № 3. – С. 74-77.
- ¹¹⁷ Ren S., McNamara P., Koharski D. An improved synthesis of [24-¹⁴C]cholic acid, and its application to the synthesis of [¹⁴C]SCH 209702 (Syn3). Synthesis of [²H₈]SCH 209702 // *J. Labelled Compd. Radiopharm.* – 2008. – V. 51. – P. 231-235.
- ¹¹⁸ Sugahara M., Sada K., Miyata M. A robust structural motif in inclusion crystals of norbile acids // *Chem. Commun.* – 1999. – V. 3. – P. 293-294.
- ¹¹⁹ Batta A.K., Datta S.C., Tint G.S., Alberts D.S., Earnest D.L., Salen G. A convenient synthesis of dinorbile acids: Oxidative hydrolysis of norbile acid nitriles // *Steroids.* – 1999. – V. 64. – P. 780-784.

- ¹²⁰ Ogawa S., Mitamura K., Ikegawa S., Krasowski M.D., Hagey L.R., Hofmann A.F., Iida T. Chemical synthesis of the (25R)- and (25S)-epimers of 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 α -cholestan-27-oic acid as well as their corresponding glycine and taurine conjugates // *Chem. Phys. Lipids.* – 2011. – V. 164. – P. 368-377.
- ¹²¹ Broderick S., Davis A.P., Williams R.P. The "Triamino-analogue" of Methyl Cholate; A Facial Amphiphile and Scaffold with Potential for Combinatorial and Molecular Recognition Chemistry // *Tetrahedron Lett.* – 1998. – V. 39. – P. 6083-6086.
- ¹²² Salunke D.B., Hazra B.G., Gonnade R.G., Pore V.S., Bhadbhade M.M. Molecular association via halogen bonding and other weak interactions in the crystal structures of 11-bromo-12-oxo-5 β -cholan derivatives // *J. Mol. Struct.* – 2008. – V. 892. – P. 246-253.
- ¹²³ Salunke D.B., Ravi D.S., Pore V.S., Mitra D., Hazra B.G. Amino Functionalized Novel Cholic Acid Derivatives Induce HIV-1 Replication and Syncytia Formation in T Cells // *J. Med. Chem.* – 2006. – V. 49. – P. 2652-2655.
- ¹²⁴ Opsenica D., Pocsfalvi G., Juranić Z., Tinant B., Declercq J.-P., Kyle D.E., Milhous W.K., Šolaja B.A. Cholic Acid Derivatives as 1,2,4,5-Tetraoxane Carriers: Structure and Antimalarial and Antiproliferative Activity // *J. Med. Chem.* – 2000. – V. 43. – P. 3274-3282.
- ¹²⁵ Dosa P.I., Ward T., Castro R.E., Rodrigues C.M.P., Steer C.J. Synthesis and Evaluation of Water-Soluble Prodrugs of Ursodeoxycholic Acid (UDCA), an Anti-apoptotic Bile Acid // *Chem. Med. Chem.* – 2013. – V. 8. – P. 1002-1011.
- ¹²⁶ Májer F., Sharma R., Mullins C., Keogh L., Phipps S., Duggan S., Kelleher D., Keely S., Long A., Radics G., Wang J., Gilmer J.F. New highly toxic bile acids derived from deoxycholic acid, chenodeoxycholic acid and lithocholic acid // *Bioorg. Med. Chem.* – 2014. – V. 22. – P. 256-268.
- ¹²⁷ Mrózek L., Dvořáková L., Mandelová Z., Rárová L., Řezáčová A., Plaček L., Opatřilová R., Dohnal J., Paleta O., Král V., Drašar P., Jampílek J. Investigation of new acyloxy derivatives of cholic acid and their esters as drug absorption modifiers // *Steroids.* – 2011. – V. 76. – P. 1082-1097.
- ¹²⁸ Roussi F., Ngo Q.A., Thoret S., Guéritte F., Guénard D. The Design and Synthesis of New Steroidal Compounds as Potential Mimics of Taxoids // *Eur. J. Org. Chem.* – 2005. – P. 3952-3961.
- ¹²⁹ Li Q., Tochtrop G.P. A stereoselective synthesis of the allo-bile acids from the 5 β -isomers // *Tetrahedron Lett.* – 2011. – V. 52. – P. 4137-4139.
- ¹³⁰ Ibrahim-Ouali M., Rocheblave L. First synthesis of thia steroids from cholic acid // *Steroids.* – 2010. – V. 75. – P. 701-709.
- ¹³¹ Pat. WO 2011/073419 A1 / New steroid inhibitors of PGP for Use For Inhibiting Multidrug Resistance / Grenot C., Cuilleron C., Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale (INSERM). Paris. – 23.06.2011.

- ¹³² Wilson C.P., Webb S.J. Palladium(II)-gated ion channels // *Chem. Commun.* – 2008. – V. 34. – P. 4007-4009.
- ¹³³ Lee E., Kim Y.-S., Bae S.M., Kim S.K., Jin S., Chung S.W., Lee M., Moon H.T., Jeon O.-C., Park R.W., Kim I.S., Byun Y., Kim S.Y. Polyproline-type helical-structured low-molecular weight heparin (LMWH)-taurocholate conjugate as a new angiogenesis inhibitor // *Int. J. Cancer.* – 2009. – V. 124. – P. 2755-2765.
- ¹³⁴ Kim J., Chung S.W., Kim S.Y., Byun Y. Enhanced Anti-Angiogenic Effect of Low Molecular Weight Heparin-Bile Acid Conjugates by Co-Administration of a Selective COX-2 Inhibitor // *Pharm. Res.* – 2015. – V. 32. – № 7. – P. 2318-2327.
- ¹³⁵ Pospieszny T., Małecka I., Paryzek Z. Synthesis and spectroscopic studies of new bile acid derivatives linked by a 1,2,3-triazole ring // *Tetrahedron Lett.* – 2012. – V. 53. – P. 301-305.
- ¹³⁶ Bortolini O., Fantin G., Fogagnolo M., Mari L. Two-way enantioselective control in the epoxidation of alkenes with the keto bile acid–Oxone® system // *Tetrahedron.* – 2006. – V. 62. – P. 4482-4490.
- ¹³⁷ Bandyopadhyaya A.K., Sangeetha N.M., Radha A., Maitra U. Synthesis of both enantiomers of 1-phenylethane-1,2-diol via chirality transfer from bile acid derivatives // *Tetrahedron: Asymmetry.* – 2000. – V. 11. – P. 3463-3466.
- ¹³⁸ Willemen H.M., de Smet L.C.P.M., Koudijs A., Stuart M.C.A., Heikamp-de Jong I.G.A.M., Marcelis A.T.M., Sudhölter E.J.R. Micelle Formation and Antimicrobial Activity of Cholic Acid Derivatives with Three Permanent Ionic Head Groups // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – V. 41. – P. 4275-4277.
- ¹³⁹ Ye W., Li Y., Zhou Z., Wang X., Yao J., Liu J., Wang C. Synthesis and antibacterial activity of new long-chain-alkyl bile acid-based amphiphiles // *Bioorg. Chem.* – 2013. – V. 51. – P. 1-7.
- ¹⁴⁰ Guan Q., Li C., Schmidt E.J., Boswell J.S., Walsh J.P., Allman G.W., Savage P.B. Preparation and Characterization of Cholic Acid-Derived Antimicrobial Agents with Controlled Stabilities // *Org. Lett.* – 2000. – V. 2. – P. 2837-2840.
- ¹⁴¹ Jin X.-Y., Fan S.-Y., Li H.-W., Shi W.-G., Chen W., Wang H.-F., Zhong B.-H. Novel liver-specific nitric oxide (NO) releasing drugs with bile acid as both NO carrier and targeting ligand // *Chin. Chem. Lett.* – 2014. – V. 25. – P. 787-790.
- ¹⁴² Pat. US 2007/0190066 A1 / Cationic steroid antimicrobial compositions and methods of use / Savage P.B., Leung D.Y., Pillsbury Winthrop Shaw Pittman LLP. – 16.08.2007.
- ¹⁴³ Taotafa U., McMullin D.B., Lee S.C., Hansen L.D., Savage P.B. Anionic Facial Amphiphiles from Cholic Acid // *Org. Lett.* – 2000. – V. 2. – P. 4117-4120.

- ¹⁴⁴ Zhong Z., Yan J., Zhao Y. Cholic Acid-Derived Facial Amphiphiles with Different Ionic Characteristics // *Langmuir*. – 2005. – V. 21. – P. 6235-6239.
- ¹⁴⁵ Ibrahim-Ouali M., Bouleghlem H., Aouf N.-E. Ring-closing metathesis towards functionalised pentacyclic steroids // *Tetrahedron Lett.* – 2012. – V. 53. – P. 1859-1862.
- ¹⁴⁶ Davis A.P., Lawless L.J. Steroidal guanidinium receptors for the enantioselective recognition of N-acyl α -amino acids // *Chem. Commun.* – 1999. – V. 3. – P. 9-10.
- ¹⁴⁷ Lawless L.J., Blackburn A.G., Ayling A.J., Pérez-Payán M.N., Davis A.P. Steroidal guanidines as enantioselective receptors for N-acyl α -amino acids. Part 1. 3 α -Guanylated carbamates derived from cholic acid // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* – 2001. – V. 11. – P. 1329-1341.
- ¹⁴⁸ Iuliano A., Masini G., Félix G., Salvadori P. Synthesis of deoxycholic-derived chiral stationary phases possessing both arylcarbamate and arylamide moieties: evaluation of their chiral discrimination properties in the HPLC resolution of racemic compounds // *Tetrahedron: Asymmetry.* – 2001. – V. 12. – P. 2811-2825.
- ¹⁴⁹ Anelli P.L., Brocchetta M., Lattuada L., Manfredi G., Morosini P., Murru M., Palano D., Sipioni M., Visigalli M. Scale-Up of Trisodium [(3 β ,5 β ,12 α)-3-[[4(S)-4-[Bis[2-[bis[(carboxy-*kO*)methyl]amino-*kN*]ethyl]amino-*kN*]-4-(carboxy-*kO*)-1-oxobutyl]amino]-12-hydroxycholan-24-oato(6-)]gadolate(3-)], a Gd(III) Complex under Development As a Contrast Agent for MRI Coronary Angiography // *Org. Process Res. Dev.* – 2009. – V. 13. – P. 739-746.
- ¹⁵⁰ Gilat T., Somjen G.J., Mazur Y., Leikin-Frenkel A., Rosenberg R., Halpern Z., Konikoff F.M. Fatty acid bile acid conjugates (FABACs)—New molecules for the prevention of cholesterol crystallisation in bile // *Gut.* – 2001. – V. 48. – P. 75-79.
- ¹⁵¹ Gonen A., Shaish A., Leikin-Frenkel A., Gilat T., Harats D. Fatty Acid Bile Acid Conjugates Inhibit Atherosclerosis in the C57BL/6 Mouse Model // *Pathobiology.* – 2003. – V. 70. – P. 215-218.
- ¹⁵² Gianolio E., Cabella C., Colombo Serra S., Valbusa G., Arena F., Maiocchi A., Miragoli L., Tedoldi F., Uggeri F., Visigalli M., Bardini P., Aime S. B25716/1: a novel albumin-binding Gd-AAZTA MRI contrast agent with improved properties in tumor imaging // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2014. – V. 19. – P. 715-726.
- ¹⁵³ Felici M., Contreras-Carballada P., Smits J.M.M., Nolte R.J.M., Williams R.M., De Cola L., Feiters M.C. Cationic Heteroleptic Cyclometalated Iridium(III) Complexes Containing Phenyl-Triazole and Triazole-Pyridine Clicked Ligands // *Molecules.* – 2010. – V. 15. – P. 2039-2059.
- ¹⁵⁴ Ibrahim-Ouali M., Khalil H. New synthesis of pentacyclic steroids by stereoselective epoxide ring opening // *Tetrahedron Lett.* – 2010. – V. 51. – P. 6948-6950.
- ¹⁵⁵ Ibrahim-Ouali M., Romero E., Hamze K. Stereoselective synthesis of pentacyclic steroids functionalized at C-11 // *Steroids.* – 2012. – V. 77. – P. 1092-1100.

- ¹⁵⁶ Pat. WO 2011/022838 A1 / Polyhydroxylated bile acids for treatment of biliary disorders / Ling V., Wang R., Sheps J. A., British Columbia Cancer Agency Branch. – 03.03.2011.
- ¹⁵⁷ Iida T., Momose T., Chang F.C., Goto J., Nambara T. Potential Bile Acid Metabolites. XV. Synthesis of 4 β -Hydroxylated Bile Acids; Unique Bile Acids in Human Fetal Bile // Chem. Pharm. Bull. – 1989. – V. 37. – № 12. –P. 3323-3329.
- ¹⁵⁸ Tochtrop G.P., DeKoster G.T., Cistola D.P., Covey D.F. Synthesis of [3,4-¹³C₂]-Enriched Bile Salts as NMR Probes of Protein-Ligand Interactions // J. Org. Chem. – 2002. – V. 67. – P. 6764-6771.
- ¹⁵⁹ Verzele D., Madder A. Short Synthesis of Orthogonally Protected 3 α ,12 α -Diamino-5 β -cholan-24-oic Acid, a Dipodal Steroid Scaffold for Combinatorial Chemistry // Eur. J. Org. Chem. – 2007. – P. 1793-1797.
- ¹⁶⁰ Ibrahim-Ouali M., Zoubir J., Romero E. A ring-closing metathesis approach to secosteroidal macrocycles // Tetrahedron Lett. – 2011. – V. 52. – P. 7128-7131.
- ¹⁶¹ Ibrahim-Ouali M., Romero E. Synthesis of various secosteroidal macrocycles by ring-closing metathesis // Steroids. – 2013. –V. 78. – P. 651-661.
- ¹⁶² Ibrahim-Ouali M., Hamze K. A click chemistry approach to secosteroidal macrocycles // Steroids. – 2014. – V. 80. – P. 102-110.
- ¹⁶³ Huang Y., Chen S., Cui J., Gan C., Liu Z., Wei Y., Song H. Synthesis and cytotoxicity of A-homo-lactam derivatives of cholic acid and 7-deoxycholic acid S // Steroids. – 2011. – V. 76. – P. 690-694.
- ¹⁶⁴ Shi Z., Zhao Z., Liu X., Wu L. Synthesis of new deoxycholic acid bis thiocarbazonates under solvent-free conditions using microwave irradiation // J. Chem. Res. – 2011. – V. 35. – P. 198-201.
- ¹⁶⁵ del Amo V., Bhattarai K., Nissinen M., Rissanen K., Pérez-Payán M.N., Davis A.P. A Short Synthesis of Methyl 3 α ,7 α ,12 α -Triaminocholanoate, the ‘Triaza-Analogue’ of Methyl Cholate // Synlett. –2005. – V. 8. – P. 1319-1321.
- ¹⁶⁶ Ibrahim-Ouali M., Hamze K., Rocheblave L. Synthesis of 12-oxa, 12-aza and 12-thia cholane triols // Steroids. – 2011. – V. 76. – P. 324-330.
- ¹⁶⁷ Aher N.G., Pore V.S., Mishra N.N., Shukla P.K., Gonnade R.G. Design and synthesis of bile acid-based amino sterols as antimicrobial agents // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2009. – V. 19. – P. 5411-5414.
- ¹⁶⁸ Pat. US 2015/112089 A1 / Deuterated Bile Acids / Finch M.D., Low W., Steer C., Munshi C.B., Rodrigues C., de Oliveria S.D.L., Metselex Inc. Minneapolis. – 23.04.2015.
- ¹⁶⁹ Dangate P.S., Salunke C.L., Akamanchi K.G. Regioselective oxidation of cholic acid and its 7 β epimer by using *o*-iodoxybenzoic acid // Steroids. – 2011. – V. 76. – P. 1397-1399.

- ¹⁷⁰ Medici A., Pedrini P., De Battisti A., Fantin G., Fogagnolo M., Guerrini A. Anodic electrochemical oxidation of cholic acid // *Steroids*. – 2001. – V. 66. – P. 63-69.
- ¹⁷¹ Pedrini P., Andreotti E., Guerrini A., Dean M., Fantin G., Giovannini P.P. *Xanthomonas maltophilia* CBS 897.97 as a source of new 7β - and 7α -hydroxysteroid dehydrogenases and cholyglycine hydrolase: Improved biotransformations of bile acids // *Steroids*. – 2006. – V. 71. – P. 189-198.
- ¹⁷² Cravotto G., Binello A., Boffa L., Rosati O., Boccalini M., Chimichi S. Regio- and stereoselective reductions of dehydrocholic acid // *Steroids*. – 2009. – V. 71. – P. 469-475.
- ¹⁷³ Giovannini P.P., Grandini A., Perrone D., Pedrini P., Fantin G., Fogagnolo M. 7α - and 12α -Hydroxysteroid dehydrogenases from *Acinetobacter calcoaceticus lwoffii*: a new integrated chemo-enzymatic route to ursodeoxycholic acid // *Steroids*. – 2008. – V. 73. – P. 1385-1390.
- ¹⁷⁴ Medici A., Pedrini P., Bianchini E., Fantin G., Guerrini A., Natalini B., Pellicciari R. 7α -OH epimerisation of bile acids via oxido-reduction with *Xanthomonas maltophilia* // *Steroids*. – 2002. – V. 67. – P. 51-56.
- ¹⁷⁵ Harburn J.J., Loftus G.C., Marples B.A. Synthesis of novel Steroidal Inhibitors of HIV-1 Protease // *Tetrahedron*. – 1998. – V. 54. – P. 11907-11924.
- ¹⁷⁶ Salunke D.B., Hazra B.G., Gonnade R.G., Bhadbhade M.M., Pore V.S. An efficient method for the synthesis of methyl 11 α -amino-3 α ,7 α -diacetoxy-12-oxo-5 β -cholan-24-oate // *Tetrahedron*. – 2005. – V. 61. – P. 3605-3612.
- ¹⁷⁷ He H.-B., Gao L.-X., Deng Q.-F., Ma W.-P., Tang C.-L., Qiu W.-W., Tang J., Li J.-Y., Li J., Yang F. Synthesis and biological evaluation of 4,4-dimethyl lithocholic acid derivatives as novel inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2012. – V. 22. – P. 7237-7242.
- ¹⁷⁸ Kubodera N., Hatakeyama S. Process Development for the Practical Production of Eldecalcitol by Linear, Convergent and Biomimetic Syntheses // *Anticancer Res.* – 2012. – V. 32. – P. 303-310.
- ¹⁷⁹ Lin H.-S., Rampersaud A.A., Richett M.E., Harper R.W., Beavers L.S., McClure D.B., Gardner A.J., Eacho P.I., Foxworthy P.S., Gadski R.A. Synthesis and in vitro biological activity of 4 α -(2-propenyl)-5 α -cholest-24-en-3 α -ol: A 24,25-dehydro analog of the hypocholesterolemic agent 4 α -(2-propenyl)-5 α -cholestan-3 α -ol // *Steroids*. – 1999. – V. 64. – P. 217-227.
- ¹⁸⁰ Pore V.S., Divse J.M., Charolkar C.R., Nawale L.U., Khedkar V.M., Sarkar D. Design and synthesis of 11 α -substituted bile acid derivatives as potential anti-tuberculosis agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2015. – V. 25. – P. 4185-4190.
- ¹⁸¹ Pat. US 2012/277198 A1 / Polyhydroxylated bile acids for treatment of biliary disorders / Ling V., Wang R., Sheps J.A. – 01.11.2012.

-
- ¹⁸² Pat. WO 2013/041519 A1 / ROR Gamma Modulators / Wolfrum C., Carreira E., Meissburger B., ETH ZÜRICH, ETH TRANSFER, Zürich. – 28.03.2013.
- ¹⁸³ Pellicciari R., Gioiello A., Sabbatini P., Venturoni F., Nuti R., Colliva C., Rizzo G., Adorini L., Pruzanski M., Roda A., Macchiarulo A. Avicholic Acid: A Lead Compound from Birds on the Route to Potent TGR5 Modulators // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2012. – V. 3. – P. 273-277.
- ¹⁸⁴ Yamaguchi T., Nakamori R., Iida T., Nambara T. 1 β -Hydroxylation in 5 β -Steroids: An Efficient Synthesis of 1 β ,3 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-oic Acid // *Synth. Commun.* – 2001. – V. 31. – P. 1213-1219.
- ¹⁸⁵ Pat. EP 0393493 B1 / Pellicciari R., Roda A., Frigerio G. – 1995.
- ¹⁸⁶ Königsberger K., Chen G.-P., Vivello J., Lee G., Fitt J., McKenna J., Jenson T., Prasad K., Repič O. An Expedient Synthesis of 6 α -Fluoroursodeoxycholic Acid // *Org. Process Res. Dev.* – 2002. – V. 6. – P. 665-669
- ¹⁸⁷ Pellicciari R., Fiorucci S., Camaioni E., Clerici C., Costantino C., Maloney P.R., Morelli A., Parks D.J., Willson T.M. 6 α -Ethyl-Chenodeoxycholic Acid (6-ECDC), a Potent and Selective FXR Agonist Endowed with Anticholestatic Activity // *J. Med. Chem.* – 2002. – V. 45. – P. 3569-3572.
- ¹⁸⁸ Yu D., Mattern D.L., Forman B.M. An improved synthesis of 6 α -ethylchenodeoxycholic acid (6ECDC), a potent and selective agonist for the Farnesoid X Receptor (FXR) // *Steroids.* – 2012. – V. 77. – P. 1335-1338.
- ¹⁸⁹ Pellicciari R., Costantino G., Camaioni E., Sadeghpour B.M., Entrena A., Willson T.M., Fiorucci S., Clerici C., Gioiello A. Bile Acid Derivatives as Ligands of the Farnesoid X Receptor. Synthesis, Evaluation, and Structure-Activity Relationship of a Series of Body and Side Chain Modified Analogues of Chenodeoxycholic Acid // *J. Med. Chem.* – 2004. – V. 47. – P. 4559-4569.
- ¹⁹⁰ Gioiello A., Macchiarulo A., Carotti A., Filipponi P., Costantino G., Rizzo G., Adorini L., Pellicciari R. Extending SAR of bile acids as FXR ligands: Discovery of 23-N-(carbocinnamyloxy)-3 α ,7 α -dihydroxy-6 α -ethyl-24-nor-5 β -cholan-23-amine // *Bioorg. Med. Chem.* – 2011. – V. 19. – P. 2650-2658.
- ¹⁹¹ Bhat L., Jandeleit B., Dias T.M., Moors T.L., Gallop M.A. Synthesis and biological evaluation of novel steroidal pyrazoles as substrates for bile acid transporters // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2005. – V. 15. – P. 85-87.
- ¹⁹² Pat. WO 03/020214 A2 / Bile-acid derived compounds for enhancing oral absorption and systemic bioavailability of drugs / Bhat L., Gallop M.A., Jandeleit B., XenoPort Inc. Santa Clara. – 13.03.2003.
- ¹⁹³ Pat. WO 2009/146218 A2 / Compounds including an anti-inflammatory pharmacore and methods of use / Anderson E., Bolton G.L., Ferguson D.A., Jiang X., Kral R.M. Jr., Visnick M., REATA PHARMACEUTICALS INC. Irving. – 03.12.2009.

-
- ¹⁹⁴ Zhang D.-H., Cai F., Zhou X.-D., Zhou W.-S. A Concise and Stereoselective Synthesis of Squalamine // *Org. Lett.* – 2003. – V. 5. – P. 3257-3259.
- ¹⁹⁵ Hasserodt J., Janda K.D., Lerner R.A. A Class of 4-Aza-lithocholic Acid-Derived Haptens for the Generation of Catalytic Antibodies with Steroid Synthase Capabilities // *Bioorg. Med. Chem.* – 2000. – V. 8. – P. 995-1003.
- ¹⁹⁶ E. Raviña *The Evolution of Drug Discovery. From Traditional Medicines to Modern Drugs.* WILEY-VCH, 2011. 199-201 p.
- ¹⁹⁷ Iida T., Omura K., Sakiyama R., Kodomari M. Regioselective dehydrogenation of 3-keto-steroids to form conjugated enones using o-iodoxybenzoic acid and trifluoroacetic acid catalysis // *Chem. Phys. Lipids.* – 2014. – V. 178. – P. 45-51.
- ¹⁹⁸ Iguchi Y., Nishimaki-Mogami T., Yamaguchi M., Teraoka F., Kaneko T., Une M. Effects of Chemical Modification of Ursodeoxycholic Acid on TGR5 Activation // *Biol. Pharm. Bull.* – 2011. – V. 34. – P. 1-7.
- ¹⁹⁹ Poša M., Bjedov S., Sebenji A., Sakač M. Wittig reaction (with ethylidene triphenylphosphorane) of oxo-hydroxy derivatives of 5 β -cholanic acid: Hydrophobicity, haemolytic potential and capacity of derived ethylidene derivatives for solubilisation of cholesterol // *Steroids.* – 2014. – V. 86. – P. 16-25.
- ²⁰⁰ Bhattarai K.M., del Amo V., Magro G., Sisson A.L., Joos J.-B., Charmant J.P.H., Kantacha A., Davis A.P. The “triamino-analogue” of methyl allocholate; a rigid, functionalized scaffold for supramolecular chemistry // *Chem. Commun.* – 2006. – V. 22. – P. 2335-2337.
- ²⁰¹ Clare J.P., Ayling A.J., Joos J.B., Sisson A.L., Magro G., Pérez-Payán M.N., Lambert T.N., Shukla R., Smith B.D., Davis A.P. Substrate Discrimination by Cholapod Anion Receptors: Geometric Effects and the “Affinity-Selectivity Principle” // *J. Am. Chem. Soc.* – 2005. – V. 127. – P. 10739-10746.
- ²⁰² Puleo G.L., Iuliano A. Methyl 12-[D-prolinoylamino]cholate as a versatile organocatalyst for the asymmetric aldol reaction of cyclic ketones // *Tetrahedron: Asymmetry.* – 2007. – V. 18. – P. 2894-2900.
- ²⁰³ Pérez Gil R., Iglesias Arteaga M.A., Pérez Martínez C., Coll Manchado F., Coll García D., Rosado A. Synthesis of Analogues of Brassinosteroids from Chenodeoxycholic Acid // *Eur. J. Org. Chem.* – 1998. – P. 2405-2407.
- ²⁰⁴ Opsenica D., Angelovski G., Pocsfalvi G., Juranić Z., Žižak Ž., Kyle D., Milhous W.K., Šolaja B.A. Antimalarial and Antiproliferative Evaluation of Bis-Steroidal Tetraoxanes // *Bioorg. Med. Chem.* – 2003. – V. 11. – P. 2761-2768.
- ²⁰⁵ Šolaja B.A., Terzić N., Pocsfalvi G., Gerena L., Tinant B., Opsenica D., Milhous W.K. Mixed Steroidal 1,2,4,5-Tetraoxanes: Antimalarial and Antimycobacterial Activity // *J. Med. Chem.* – 2002. – V. 45. – P. 3331-3336.

- ²⁰⁶ Opsenica I., Terzić N., Opsenica D., Angelovski G., Lehnig M., Eilbracht P., Tinant B., Juranić Z., Smith K.S., Yang Y.S., Diaz D.S., Smith P.L., Milhous W.K., Doković D., Šolaja B.A. Tetraoxane Antimalarials and Their Reaction with Fe(II) // *J. Med. Chem.* – 2006. – V. 49. – P. 3790-3799.
- ²⁰⁷ Hwang S.R., Kim I.J., Park J.W. Formulations of deoxycholic for therapy: a patent review (2011 – 2014) // *Expert Opin. Ther. Pat.* – 2015. – V. 25. – № 12. – P. 1423-1440.
- ²⁰⁸ Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells // *FASEB J.* – 1992. – V. 6. – № 12. – P. 3051-3064.
- ²⁰⁹ Dugo L., Marzocco S., Mazzon E., Di Paola R., Genovese T., Caputi A.P., Cuzzocrea S. Effects of GW274150, a novel and selective inhibitor of iNOS activity, in acute lung inflammation. // *Br. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 141. – № 6. – P. 979-987.
- ²¹⁰ Guzik T.J., Korbust R., Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2003. – V. 54. – P. 469-487.
- ²¹¹ Koohang A., Majewski N.D., Szotek E.L., Mar A.A., Eiznhamer D.A., Flavin M.T., Xu Z.-Q. Synthesis and cytotoxicity of 2-cyano-28-hydroxy-lup-1-en-3-ones // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – V. 19. – P. 2168-2171.
- ²¹² You Y.-J., Kim Y., Nam N.-H., Ahn B.-Z. Synthesis and cytotoxic activity of a-ring modified betulinic acid derivatives // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2003. – V. 13. – P. 313-3140.
- ²¹³ Honda T., Liby K.T., Su X., Sundararajan C., Honda Y., Suh N., Risingsong R., Williams C.R., Royce D.B., Sporn M.B., Gribble G.W. Design, synthesis, and anti-inflammatory activity both in vitro and in vivo of new betulinic acid analogues having an enone functionality in ring A. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2006. – V. 16. – P. 6306–6309.
- ²¹⁴ Honda T., Rounds B.V., Bore L., Finlay H.J., Favaloro F.G., Suh J.N., Wang Y., Sporn M.B., Gribble G.W. Synthetic Oleanane and Ursane Triterpenoids with Modified Rings A and C: A Series of Highly Active Inhibitors of Nitric Oxide Production in Mouse Macrophages // *J. Med. Chem.* – 2000. – V. 43. – P. 4233-4246.
- ²¹⁵ Rao G.S.R.S., Kondaiah P., Singh S.K., Ravanan P., Sporn M.B. Chemical modifications of natural triterpenes glycyrrhetic and boswellic acids: evaluation of their biological activity // *Tetrahedron.* – 2008. – V. 64. – P. 11541-11548.
- ²¹⁶ Chintharlapalli S., Papineni S., Jutooru I., McAlees A., Safe S. Structure-dependent activity of glycyrrhetic acid derivatives as peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists in colon cancer cells // *Mol. Cancer Ther.* – 2007. – V. 6. – P. 1588-1598.
- ²¹⁷ Salomatina O.V., Markov A.V., Logashenko E.B., Korchagina D.V., Zenkova M.A., Salakhutdinov, N. F., Vlassov V.V., Tolstikov G.A. Synthesis of novel 2-cyano substituted

glycyrrhetic acid derivatives as inhibitors of cancer cells growth and NO production in LPS-activated J-774 cells // *Bioorg. Med. Chem.* – 2014. – V. 22. – P. 585-593.

²¹⁸ Liby K., Voong N., Williams C.R., Risingsong R., Royce D.B., Honda T., Gribble G.W., Sporn M.B., Letterio J.J. The Synthetic Triterpenoid CDDO-Imidazolide Suppresses STAT Phosphorylation and Induces Apoptosis in Myeloma and Lung Cancer Cells // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – V. 12. – P. 4288-4293.

²¹⁹ Melichar B., Konopleva M., Hu W., Melicharova K., Andreeff M., Freedman R.S. Growth-inhibitory effect of a novel synthetic triterpenoid, 2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic acid, on ovarian carcinoma cell lines not dependent on peroxisome proliferator-activated receptor- γ expression // *Gynecol. Oncol.* – 2004. – V. 93. – P. 149-154.

²²⁰ Suh N., Wang Y., Honda T., Gribble G.W., Dmitrovsky E., Hickey W.F., Maue R.A., Place A.E., Porter D.M., Spinella M.J., Williams C.R., Wu G., Dannenberg A.J., Flanders K.C., Letterio J.J., Mangelsdorf D.J., Nathan C.F., Nguyen L., Porter W.W., Ren R.F., Roberts A.B., Roche N.S., Subbaramaiah K., Sporn M.B. A Novel Synthetic Oleanane Triterpenoid, 2-Cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic Acid, with Potent Differentiating, Antiproliferative, and Anti-Inflammatory Activity // *Cancer Res.* – 1999. – V. 59. – P. 336-341.

²²¹ Logashenko E.B., Salomatina O.V., Markov A.V., Korchagina D.V., Salakhutdinov N.F., Tolstikov G.A., Vlassov V.V., Zenkova M.A. Synthesis and pro-apoptotic activity of novel glycyrrhetic acid derivatives // *ChemBioChem.* – 2011. – V. 12. – P. 784-794.

²²² McKenzie B.F., Mattox V.R., Engel L.L., Kendall E.C. Steroids derived from bile acids. VI. An improved synthesis of methyl 3,9-epoxy- Δ^{11} -cholenate from desoxycholic acid // *J. Biol. Chem.* – 1948. – V. 173. – P. 271-276.

²²³ Fieser L.F., Rajagopalan S. Oxidation of Steroids. III. Selective Oxidations and Acylations in the bile acids series // *J. Am. Chem. Soc.* – 1950. – V. 72. – P. 5530-5536.

²²⁴ Tsuda K., Nozoe S., Ohata K. Steroids Studies. XLIII. An Aromatization Reaction of a Cross Conjugated Dienone System with Zinc // *Chem. Pharm. Bull.* – 1963. – V. 11. – P. 1265-1270.

²²⁵ Lidström P., Tierney J., Wathey B., Westman J. Microwave assisted organic synthesis – a review. // *Tetrahedron.* – 2001. – V. 57. – P. 9225-9283.

²²⁶ Reich H. J., Wollowitz S. Preparation of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds and Nitriles by Selenoxide Elimination // *Organic Reactions.* John Wiley & Sons. – 1993. – V. 44. – Chapter 1.

²²⁷ Clive D.L.J. Modern organoselenium chemistry // *Tetrahedron.* – 1978. – V. 34. – № 8. – P. 1049-1132.

²²⁸ Blaszczyk K., Koenig H., Paryzek Z. Cyclobutanone approach to the synthesis of cardenolides // *Eur. J. Org. Chem.* – 2005. – V. 4. – P. 749-754.

- ²²⁹ Leal A.S., Wang R., Salvador J.A.R., Jing Y. Synthesis of novel ursolic acid heterocyclic derivatives with improved abilities of antiproliferation and induction of p53, p21^{waf1} and NOXA in pancreatic cancer cells // *Bioorg. Med. Chem.* – 2012. – V. 20. – P. 5774-5786.
- ²³⁰ Clinton R.O., Manson A.J., Stonner F.W., Clarke R.L., Jennings K.F., Shaw P.E. Preparation of Some Steroidal Enamines // *J. Am. Chem. Soc.* – 1962. – V. 27. – P. 1148-1154.
- ²³¹ Miyano M., Smith J.N., Dorn C.R. A synthesis of 11-homo-aldosterone // *Tetrahedron.* – 1982. – V.38. – № 23. – P. 3447-3455.
- ²³² Voronova L.N., Tolmacheva I.A., Grishko V.V., Tolstikov A.G. SYNTHESIS OF C₂ SYMMETRIC TRITERPENE bis-ENAMINONES // *Chem. Nat. Compd.* – 2012. – V. 48. – № 1. – P. 75-82.
- ²³³ Tolmacheva I.A., Anikina L.V., Vikharev Yu.B., Shelepen'kina L.N., Grishko V.V., Tolstikov A.G. Synthesis and Immunotropic Activity of 2-Alkylaminomethylene-19 β ,28-Epoxyolean-3-ones // *Russ. J. Bioorg. Chem.* – 2008. – V. 34. – № 1. – P. 125-129.
- ²³⁴ Kumar V., Daum S.J., Bell M.R., Alexander M.A., Christiansen R.G., Ackerman J.H., Krolski M.E., Pilling G.M., Herrmann Jr. J.L., Winneker R.C., Wagner M.M. Synthesis and androgen receptor affinity of steroidal methylsulfonylfurans and a methylsulfonylthiophene // *Tetrahedron.* – 1991. – V. 47. – P. 5099-5110.
- ²³⁵ Kumar V., Ackerman J.H., Alexander M.D., Bell M.R., Christiansen R.G., Dung J.S., Jaeger E.P., Herrmann Jr. J.L., Krolski M.E., McKloskey P., Batzold F.H., Juniewicz P.E., Reel J., Snyder B.W., Winneker R.C. Androgen Receptor Affinity of 5'-Acyl Furanosteroids // *J. Med. Chem.* – 1994. – V. 37. – P. 4227-4236.
- ²³⁶ Gololobov Yu.G., Nesmeyanov A.N., Lysenko V.P., Boldeskul I.E. Twenty-five years of dimethylsulfoxonium methylide (Corey's reagent) // *Tetrahedron.* – 1987. – V. 43. – P. 2609-2651.
- ²³⁷ Corey E.J., Chaykovsky M. Dimethyloxosulfonium methylide ((CH₃)₂SOCH₂) and dimethylsulfonium methylide ((CH₃)₂SCH₂). Formation and application to organic synthesis // *J. Am. Chem. Soc.* – 1965. – V. 87. – P. 1353-1364.
- ²³⁸ Maltais R., Fournier M.-A., Poirier D. Development of 3-substituted-androsterone derivatives as potent inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 // *Bioorg. Med. Chem.* – 2011. – V. 19. – P. 4652–4668.
- ²³⁹ Djigoué G.B., Ngatcha B.T., Roy J., Poirier D. Synthesis of 5 α -Androstane-17-spiro- δ -lactones with a 3-Keto, 3-Hydroxy, 3-Spirocarbamate or 3-Spiromorpholinone as Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenases // *Molecules.* – 2013. – V. 18. – P. 914-933.

- ²⁴⁰ Djigoué G.B., Kenmogne L.C., Roy J., D.Poirier Synthesis of 3-spiromorpholinone androsterone derivatives as inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2013. – V. 23. – P. 6360-6362.
- ²⁴¹ Pat. US 2013 / 0096121 A1 / Apoptosis-inducing agents for the treatment of cancer and immune and autoimmune diseases / Wang L., Doherty G., Wang X., Tao Z.-F., Bruncko M., Kunzer A.R., Wendt M.D., Song X., Frey R., Hansen T.M., Sullivan G.M., Judd A., Souers A. – AbbVie Inc. – 18.04.2013 – P. 68, 105.
- ²⁴² Pat. WO 2006/038734 A1 / Pyridazinone derivatives cytokines inhibitors / Yamazaki H., Kasahara C., Shigenaga S., Higuchi K., Mizuhara H., Yasuda M., Yokomoto M., Misumi K., Kinoshita T., Katayama K. – ASTELLAS PHARMA INC., WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO., LTD. – 13.04.2006. – P. 58.
- ²⁴³ Bhat S., Maitra U. Nanoparticle-Gel Hybrid Material Designed with Bile Acid Analogues // *Chem. Mater.* – 2006. – V. 18. – P. 4224-4226.
- ²⁴⁴ Arshad M., Khan T.A., Khan M.A. 1,2,4-Oxadiazole nucleus with versatile biological applications // *Int. J. Pharma Sci. Res.* – 2014. – V. 5. № 7. – P. 303-316.
- ²⁴⁵ Arshad M. 1,3,4-Oxadiazole nucleus with versatile pharmacological applications: a review // *Int. J. Pharm. Sci. Res.* – 2014. – V. 5. – № 4. – P. 1124-1137.
- ²⁴⁶ Macor J.E., Ordway T., Smith R.L., Verhoest P.R., Mack R.A. Synthesis and Use of 5-Vinyl-1,2,4-oxadiazoles as Michael Acceptors. A Rapid Synthesis of the Potent Muscarinic Agonist L-670,548 // *J. Org. Chem.* – 1996. – V. 61. – P. 3228-3229.
- ²⁴⁷ Theunissen C., Evano G. Room-Temperature Direct Alkynylation of Arenes with Copper Acetylides // *Org. Lett.* – 2014. – V. 16. – № 17. – P. 4488-4491.
- ²⁴⁸ Bacchi A., Carcelli M., Compari C., Fiscaro E., Pala N., Rispoli G., Rogolino D., Sanchez T.W., Sechi M., Sinisi V., Neamati N. Investigating the Role of Metal Chelation in HIV-1 Integrase Strand Transfer Inhibitors // *J. Med. Chem.* – 2011. – V. 54. – P. 8407–8420.
- ²⁴⁹ Kumpan K., Nathubhai A., Zhang C., Wood P.J., Lloyd M.D., Thompson A.S., Haikarainen T., Lehtiö L., Threadgill M.D. Structure-based design, synthesis and evaluation in vitro of aryl-naphthyridinones, arylpyridopyrimidinones and their tetrahydro derivatives as inhibitors of the tankyrases // *Bioorg. Med. Chem.* – 2015. – V. 23. – P. 3013–3032.
- ²⁵⁰ Brossard D., Lechevrel M., El Kihel L., Quesnelle C., Khalid M., Moslemi S., Reimund J.-M. Synthesis and biological evaluation of bile carboxamide derivatives with pro-apoptotic effect on human colon adenocarcinoma cell lines // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – V. 86. – P.279-290.

-
- ²⁵¹ Gangloff A.R., Litvak J., Shelton E.J., Sperandio D., Wang V.R., Rice K.D. Synthesis of 3,5-disubstituted-1,2,4-oxadiazoles using tetrabutylammonium fluoride as a mild and efficient catalyst // *Tetrahedron Lett.* – 2001. – V. 42. – P. 1441-1443.
- ²⁵² Гордон А., Форд Р. Спутник химика. Физико-химические свойства, методики, библиография (пер. с англ. Розенберг Е.Л., Коппель С.И.). Москва: Мир, 1976.
- ²⁵³ Pat. WO 2012021133 A1 / Synthetic bile acid compositions and methods / Moriarty R.M., David N.E., Mahmood N.A., KYTHERA BIOPHARMACEUTICALS, INC. – Calabasas, California, USA – 16.02.2012.
- ²⁵⁴ Seebeck E., Reichstein, T. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe. 21. Mitteilung. 3 α -Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure und 3 α -Oxy-cholen-(9)-säure // *Helv. Chim. Acta.* – 1943. – V. 26. – P. 536-562
- ²⁵⁵ Chang F.C., Wood N.F., Holton W.G. 3 β ,12 β -Dihydroxycholanolic Acid // *J. Org. Chem.* – 1965. – V. 30. – P. 1718-1723.
- ²⁵⁶ Patiño Cano L.P., Bartolotta S.A., Casanova N.A., Siless G.E., Portmann E., Schejter L., Palermo J.A., Carballo M.A. Isolation of acetylated bile acids from the sponge *Siphonochalina fortis* and DNA damage evaluation by the comet assay // *Steroids.* – 2013. – V. 78. – P. 982–986.