

АРГАНІЧНАЯ ХІМІЯ
ORGANIC CHEMISTRY

УДК 547.92
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2023-59-3-202-210>

Поступила в редакцию 30.01.2023
Received 30.01.2023

В. А. Хрипач, В. Н. Жабинский, Е. В. Сикоров, С. И. Лазарев

Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

**СИНТЕЗ 22- И 23-ДЕГИДРОКСИБРАССИНОСТЕРОИДОВ
СТИГМАСТАНОВОГО РЯДА**

Аннотация. Осуществлен синтез ранее неописанных 22- и 23-дезоксипредшественников гомокастестерона, позволяющий получить целевые соединения без замены углеродного скелета боковой цепи. Ключевыми реакциями в их синтезе стали раскрытие эпоксидного цикла и радикальное дебромирование.

Ключевые слова: брассиностероиды, гомокастестерон, эпоксиды, дебромирование

Для цитирования. Синтез 22- и 23-дегидроксибрассиностероидов стигмастанового ряда / В. А. Хрипач [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. хим. наук. – 2023. – Т. 59, № 3. – С. 202–210. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2023-59-3-202-210>

V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, E. V. Sikorov, S. I. Lazarev

Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

SYNTHESIS OF 22- AND 23-DEHYDROXYBRASSINOSTEROIDS OF THE STIGMASTANE SERIES

Abstract. The synthesis of previously undescribed 22- and 23-deoxyanalogues of homocasterone has been carried out, which makes it possible to obtain target compounds without replacing the carbon skeleton of the side chain. The key reactions in their synthesis were epoxy ring opening and radical debromination.

Keywords: brassinosteroids, homocasterone, epoxides, debromination

For citation. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Sikorov E. V., Lazarev S. I. Synthesis of 22- and 23-dehydroxybrassinosteroids of the stigmastane series. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2023, vol. 59, no. 3, pp. 202–210 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2023-59-3-202-210>

Введение. Выделение в 1979 г. из пыльцы рапса брассинолида положило начало широкомасштабным исследованиям нового класса растительных гормонов, получивших название брассиностероиды (БС) [1]. К настоящему времени известно более 60 представителей этого класса фитогормонов [2]. Характерной структурной особенностью БС является боковая цепь **3**, содержащая 22R,23R-диольную группировку. Биосинтез этого фрагмента молекулы достаточно хорошо изучен на примере БС с кампестановым углеродным скелетом **1** (рис. 1). С-22 и С-23 гидроксильные группы в стероиды с боковой цепью **1** (R = α -Me, кампестерин, кампестанол, 6-оксокампестанол) последовательно вводятся под действием цитохром Р450-зависимых монооксигеназ [3]. В растительных источниках обнаружены соответствующие биосинтетические предшественники брассинолида, включая (22S)-22-гидроксикампестерин, 6-деоксокатастерон и катастерон [4–6]. Аналогичные превращения БС стигмастанового ряда изучены значительно меньше.

Необходимым условием исследований биосинтеза БС является наличие предполагаемых участников этих процессов в качестве стандартов. Следует отметить, что построение структурного фрагмента **3** является сравнительно простой задачей, поскольку 22R,23R-диольная группировка может быть введена в одну стадию путем асимметрического гидроксирования по Шарплесу легко доступных Δ^{22} -олефинов **4** [7]. В то же время все методы построения фрагмента

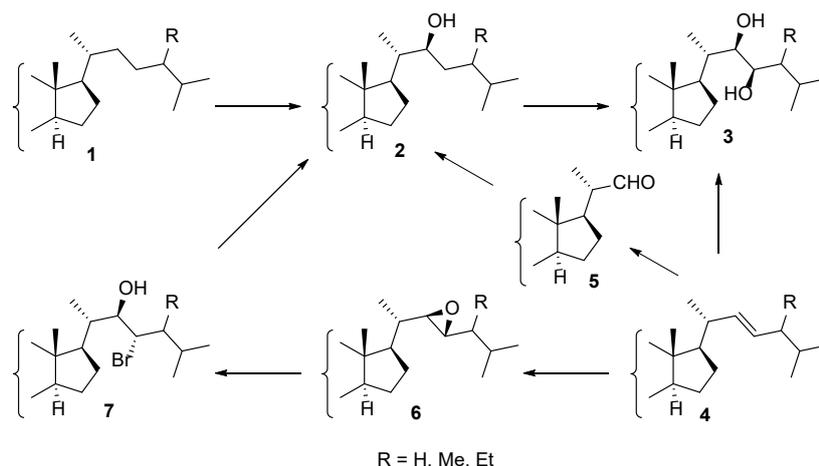


Рис. 1. Общая схема биосинтеза 22*R*,23*R*-диолов **3** и подходы к построению фрагмента **2**
 Fig. 1. General scheme for the biosynthesis of 22*R*,23*R*-diols **3** and approaches to the construction of fragment **2**

2 требуют проведения многих стадий, в большинстве случаев включающих образование С-22 альдегидов **5** для последующей замены углеродного скелета боковой цепи. При этом помимо построения асимметрического центра при С-22, требуется также формирование необходимой стереохимии при С-24 [8–12].

На производных кампестанового [13] и эргостанового [14] рядов было показано, что целевые спирты **2** могут быть получены без замены нативного углеродного скелета боковой цепи через стадии образования эпоксида **6** и бромгидрина **7**. Такой подход при условии выбора соответствующего Δ²²-олефина сводит задачу синтеза фрагмента **2** только к формированию функциональной группы при С-22. Поэтому цель настоящего исследования – разработка метода синтеза брасиностероидов стигмастанового ряда, содержащих одну гидроксильную группу в боковой цепи.

Экспериментальная часть. Спектры ЯМР ¹H регистрировали на приборе фирмы Bruker BioSpin AVANCE 500 (500 МГц) в дейтерохлороформе. Значения химических сдвигов в спектрах ¹H ЯМР даны относительно сигнала остаточного CHCl₃ (δ_H 7,26). Данные спектров ¹³C ЯМР представлены относительно центрального пика CDCl₃ (δ_C 77,16). В работе использованы реактивы фирмы Sigma-Aldrich. Протекание реакций контролировали методом ТСХ на пластинках Merck 60 F254. Очистку синтезируемых соединений проводили методом колоночной хроматографии на силикагеле Merck 60 (0,063–0,2 мм).

Эпоксидование бромкетона **9.** К раствору 5,0 г (10 ммоль) бромкетона **9** (получен в 4 стадии из стигмастерина **8** согласно методике [15]) в 132 мл хлороформа при перемешивании добавляли 4,5 г (20 ммоль) 77 % *m*-хлорнадбензойной кислоты. Реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч. Затем добавляли 105 мл 10%-ного NH₄OH и экстрагировали хлороформом. Органический слой упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – петролейный эфир–этилацетат, 30 : 1). Выделяли в порядке элюирования:

Фракция 1: 0,35 г (7,0 %) исходного олефина **9**.

Фракция 2: 0,11 г (2,1 %) (**22*R*,23*R*,24*S***)-3β-бром-22,23-эпокси-24-этил-5α-холестан-6-она **10**. Т. пл. 148–150 °С (гексан–ацетон). Спектр ¹H ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 0,66 с (3H, 18-CH₃), 0,79 с (3H, 19-CH₃), 0,92 д (6H, 26 и 27-CH₃, *J* 7 Гц), 0,96 т (3H, 29-CH₃, *J* 7 Гц), 1,00 д (3H, 21-CH₃, *J* 5,4 Гц), 2,50 м (1H, C²²-H), 2,73 дд (1H, C²³-H, *J* 7,5, 2,4 Гц), 3,94 тт (1H, C³-H_α, *J* 12,6, 4,2 Гц).

Фракция 3: 3,98 г (77 %) смеси 3-бромэпоксидов **10** и **11**.

Фракция 4: 0,04 г (0,8 %) (**22*S*,23*S*,24*S***)-3β-бром-22,23-эпокси-24-этил-5α-холестан-6-она **11**. Т. пл. 140–142 °С (гексан–ацетон). Спектр ¹H ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 0,65 с (3H, 18-CH₃), 0,80 с (3H, 19-CH₃), 0,92 т (3H, 29-CH₃, *J* 7 Гц), 0,94 д (6H, 26 и 27-CH₃, *J* 7 Гц), 1,01 д (3H, 21-CH₃, *J* 5,4 Гц), 2,50 м (2H, C²²- и C²³-H), 3,94 тт (1H, C³-H_α, *J* 12,6, 4,2 Гц).

Дегидробромирование смеси 3-бромэпоксидов **10 и **11**.** К 4,0 г (7,9 ммоль) смеси 3-бромэпоксидов **10** и **11** приливали 94 мл *N,N*-диметилформамида и добавляли 6,15 г (0,83 ммоль)

карбоната лития. Смесь нагревали на масляной бане с обратным холодильником при температуре 150 °С в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду, экстрагировали хлороформом. Экстракт сушили над безводным сернокислым натрием, растворитель упаривали, остаток очищали хроматографией на силикагеле (элюент – петролейный эфир–этилацетат, 30 : 1). Выделяли в порядке элюирования:

Фракция 1: 1,78 г (53 %) **(22R,23R,24S)-эпокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-она 12**. Т. пл. 102–104 °С (этанол). Спектр ^1H ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 0,67 с (3H, 18- CH_3), 0,71 с (3H, 19- CH_3), 0,96 т (3H, 29- CH_3 , J 7,5 Гц), 1,03 д (3H, 21- CH_3 , J 5,5 Гц), 2,49 м (1H, C^{22} - или C^{23} -H), 2,73 дд (1H, C^{22} - или C^{23} -H, J 7,0, 2,4 Гц), 5,56 м (1H, C^2 -H), 5,68 м (1H, C^3 -H). Спектр ^{13}C ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 11,92, 12,42, 13,48, 16,04, 19,61, 20,14, 20,92, 21,08, 21,71, 24,19, 27,74, 29,15, 37,68, 38,50, 39,31, 39,35, 40,01, 43,11, 46,95, 48,29, 53,40, 53,85, 56,38, 61,98, 124,47, 124,95, 211,76.

Фракция 2: 0,72 г (21 %) **(22S,23S,24S)-эпокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-она 13**. Т. пл. 137–139 °С (этанол). Спектр ^1H ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 0,66 с (3H, 18- CH_3), 0,70 с (3H, 19- CH_3), 1,01 д (3H, 21- CH_3 , J 6,7 Гц), 2,50 м (2H, C^{22} -H и C^{23} -H), 5,55 м (1H, C^2 -H), 5,68 м (1H, C^3 -H). Спектр ^{13}C ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 12,06, 12,35, 13,47, 16,23, 19,37, 19,40, 20,96, 21,11, 21,72, 24,16, 26,86, 29,33, 37,67, 38,77, 39,38, 39,99, 43,16, 46,94, 48,75, 53,49, 53,84, 56,00, 56,36, 58,54, 61,97, 62,89, 124,44, 125,00, 211,72.

Фракция 3: 0,24 г (7,1 %) исходной смеси 3-бромэпоксидов **10** и **11**.

Раскрытие эпоксида 12 бромистоводородной кислотой. К раствору 1,2 г (2,81 ммоль) эпоксида **12** в 14 мл хлороформа и 34 мл уксусной кислоты прибавляли 14 мл (83 ммоль) 48%-ного раствора бромистоводородной кислоты. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Затем разбавляли водой, экстрагировали хлороформом. Экстракт пропускали через слой окиси алюминия, упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью петролейный эфир–этилацетат (10 : 1). Выделяли в порядке элюирования:

Фракция 1: 0,90 г (63 %) **(22S,23R,24S)-22-бром-23-гидрокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-она 14**. Т. пл. 183–185 °С (ацетон). Спектр ^1H ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 0,68 с (3H, 18- CH_3), 0,71 с (3H, 19- CH_3), 0,92 д (3H, 21- CH_3 , J 6,7 Гц), 4,07 д (1H, C^{22} -H, J 10,3 Гц), 4,22 д (1H, C^{23} -H, J 10,3 Гц), 5,56 м (1H, C^2 -H), 5,68 м (1H, C^3 -H). Спектр ^{13}C ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 11,90, 13,51, 15,49, 18,58, 19,18, 21,18, 21,20, 21,73, 24,06, 27,67, 28,95, 30,85, 37,74, 39,40, 39,43, 39,98, 42,69, 43,52, 46,94, 47,68, 53,45, 53,88, 55,02, 56,21, 63,20, 73,38, 124,47, 124,99, 211,70.

Фракция 2: 0,51 г (35 %) **(22R,23S,24S)-23-бром-22-гидрокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-она 15**. Т. пл. 189–192 °С (ацетон). Спектр ^1H ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 0,72 с (3H, 18- CH_3), 0,73 с (3H, 19- CH_3), 0,91 д (3H, 21- CH_3 , J 6,8 Гц), 0,93 т (3H, 29- CH_3 , J 7,4 Гц), 4,02 д (1H, C^{22} -H, J 10,5 Гц), 4,16 дд (1H, C^{23} -H, J 10,3, 2,4 Гц), 5,56 м (1H, C^2 -H), 5,68 м (1H, C^3 -H). Спектр ^{13}C ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 11,18, 11,96, 12,52, 13,51, 18,63, 19,14, 21,17, 21,74, 23,83, 23,95, 27,37, 28,20, 37,72, 37,77, 39,41, 39,61, 40,02, 42,90, 46,01, 46,95, 52,91, 53,45, 53,89, 56,82, 60,46, 73,44, 124,48, 125,02, 211,70.

(23S,24S)-23-Гидрокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-он 16. К раствору 0,26 г (0,51 ммоль) бромгидрина **14** в 4 мл сухого бензола добавляли 0,3 мл (1,1 ммоль) трибутилового гидроксида и 8 мг (0,05 ммоль) азобисизобутиронитрила. Смесь нагревали на масляной бане с обратным холодильником в течение 6 ч при температуре 100 °С в атмосфере аргона. Растворитель упаривали, остаток очищали хроматографией на силикагеле (элюент – петролейный эфир–этилацетат, 30 : 1). Получали 165 мг (75 %) 23-гидрокси- Δ^2 -стероида **16**. Т. пл. 176–179 °С (ацетон). Спектр ^1H ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 0,67 с (3H, 18- CH_3), 0,71 с (3H, 19- CH_3), 0,95 т (3H, 29- CH_3 , J 7,4 Гц), 2,73 дд (1H, C^{23} -H, J 7,2, 2,3 Гц), 5,56 м (1H, C^2 -H), 5,68 м (1H, C^3 -H). Спектр ^{13}C ЯМР δ , м.д. (CDCl_3): 11,92, 12,41, 13,48, 13,55, 16,04, 17,29, 19,62, 20,14, 20,93, 21,09, 21,72, 24,19, 27,75, 28,26, 29,16, 37,69, 39,32, 39,37, 40,01, 43,12, 46,96, 48,30, 53,42, 53,87, 56,39, 61,99, 124,48, 124,96, 211,75.

(22S,24R)-22-Гидрокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-он 17. К 0,33 г (0,65 ммоль) бромгидрина **15** в 8 мл сухого бензола добавляли 0,4 мл (1,5 ммоль) трибутилового гидроксида и 10 мг (0,06 ммоль) азобисизобутиронитрила. Смесь нагревали на масляной бане с обратным холодильником в течение 16 ч при температуре 100 °С в атмосфере аргона. Растворитель упаривали, остаток хроматографировали на силикагеле (элюент – петролейный эфир–этилацетат, 30 : 1). Выделяли в порядке элюирования:

Фракция 1: 15 мг (5,4 %) **(22R,23R,24S)-эпокси-24-этил-5 α -холест-2-ен-6-она 12**.

Фракцыя 2: 235 мг сумесі 22*R*,23*R*-эпоксида **12** і Δ²-22-гидроксиesteroида **17**.

Полученную сумесь растворяли в 3 мл хлороформа и 6 мл уксусной кислоты и добавляли 3 мл 48%-ной бромистоводородной кислоты. Реакционную сумесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Затем разбавляли водой, экстрагировали хлороформом. Экстракт пропускали через слой окиси алюминия, упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью петролейный эфир–этилацетат (20 : 1). Выделяли в порядке элюирования:

Фракция 1: 150 мг (53 %) (22*S*,24*R*)-22-гидрокси-24-этил-5α-холест-2-ен-6-она **17**. Т. пл. 181–184 °С (ацетон). Спектр ¹H ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 0,70 с (3H, 18-CH₃), 0,71 с (3H, 19-CH₃), 2,52 м (1H, C²²-H), 5,56 м (1H, C²-H), 5,68 м (1H, C³-H). Спектр ¹³C ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 11,78, 12,11, 13,49, 14,11, 16,53, 18,36, 19,66, 21,05, 21,69, 22,68, 23,88, 24,18, 27,46, 29,35, 29,65, 31,91, 37,63, 39,31, 40,02, 43,46, 46,92, 49,45, 53,31, 53,80, 56,05, 61,95, 124,46, 124,94, 211,87.

Фракция 2: 65 мг (19 %) (22*S*,23*R*,24*S*)-22-бром-23-гидрокси-24-этил-5α-холест-2-ен-6-она **14**.

Фракция 3: 36 мг (11 %) (22*R*,23*S*,24*S*)-23-бром-22-гидрокси-24-этил-5α-холест-2-ен-6-она **15**.

(23*S*,24*S*)-2α,3α,23-Тригидрокси-24-этил-5α-холестан-6-он 18. К раствору 130 мг (0,3 ммоль) стероида **16** в 17 мл сумесі ацетон–вода (20 : 1) добавляли 100 мг (0,85 ммоль) *N*-метилморфолин-*N*-оксида и 10 мг (0,04 ммоль) OsO₄. Реакционную сумесь оставляли при комнатной температуре при интенсивном перемешивании на 24 ч. Затем добавляли 50 мл воды, выпавший осадок отфильтровали на фильтре Шотта. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью хлороформ – метанол в соотношении 15 : 1. Получали 125 мг (89 %) 22-дегидрокси-28-гомокастестерона **18**. Т. пл. 203–205 °С (ацетон). Спектр ¹H ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 0,65 с (3H, 18-CH₃), 0,74 с (3H, 19-CH₃), 2,67 дд (1H, C⁵-H_α, *J* 12,6, 3,0 Гц), 2,73 дд (1H, C²³-H, *J* 7,2, 2,3 Гц), 3,75 м (1H, C²-H_β), 4,03 м (1H, C³-H_β). Спектр ¹³C ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 11,97, 12,41, 13,52, 16,05, 19,56, 20,13, 20,87, 21,13, 24,16, 26,27, 27,72, 29,11, 37,63, 38,51, 39,18, 40,15, 42,53, 43,21, 46,69, 48,25, 50,71, 53,32, 53,67, 56,26, 61,99, 62,05, 68,23, 68,34, 212,05.

(22*S*,24*R*)-2α,3α,22-Тригидрокси-24-этил-5α-холестан-6-он 19. 23-дегидрокси-28-гомокастестерон/ (98 мг) получен из стероида **17** с выходом 83 % согласно методике, приведенной для синтеза триола **18**. Т. пл. 209–212 °С (ацетон). Спектр ¹H ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 0,67 с (3H, 18-CH₃), 0,74 с (3H, 19-CH₃), 2,50 м (1H, C²²-H), 2,68 дд (1H, C⁵-H_α, *J* 12,6, 2,9 Гц), 3,74 м (1H, C²-H_β), 4,03 м (1H, C³-H_β). Спектр ¹³C ЯМР δ, м.д. (CDCl₃): 11,97, 12,41, 13,52, 16,05, 19,56, 20,13, 20,87, 21,13, 24,16, 26,27, 27,72, 29,11, 37,63, 38,51, 39,18, 40,15, 42,53, 43,21, 46,69, 48,25, 50,71, 53,32, 53,67, 56,26, 61,99, 62,05, 68,23, 68,34, 212,05.

Результаты и их обсуждение. В качестве исходного соединения использован бромкетон **9**, полученный в 4 стадии из коммерческого стигмастерина **8** [15]. Окисление стероида **9** *m*-хлорнадбензойной кислотой давало сумесь эпоксидов **10** и **11**, хроматографическое деление которой на силикагеле не позволило выделить необходимое для дальнейших трансформаций количество 22*R*,23*R*-эпоксипроизводного. Поэтому было решено провести разделение изомеров на следующей стадии. Дегидробромирование сумесі 3-бромэпоксидов **10** и **11** кипячением ее в диметилформамиде с карбонатом лития дало сумесь изомерных эпоксидов, которую удалось разделить путем колоночной хроматографии на силикагеле. В результате были получены Δ²-эпоксиды **12** и **13** в соотношении 2,5 : 1 с суммарным выходом 74 % (рис. 2).

Конфигурация полученных Δ²-эпоксидов была установлена спектральными методами. В спектрах ¹H ЯМР обоих соединений отсутствуют сигналы 3α-протонов и имеются характерные мультиплеты с δ 5,55–5,56 и 5,68, свидетельствующие о наличии Δ²-связи. В спектре эпоксида **12** имеются два сигнала с δ 2,49 и 2,73, отвечающие резонансному поглощению протонов эпоксидного цикла. Значения химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия этих протонов совпадают с данными, опубликованными для 22*R*,23*R*-эпоксидов [16, 17]. В спектре эпоксида **13** сигналы протонов эпоксидного цикла представлены в виде двухпротонного мультиплета с δ 2,50 м.д., что согласуется с литературными данными для 22*S*,23*S*-эпоксидов [16, 17]. Фрагменты спектров эпоксидов **12** и **13** приведены на рис. 3.

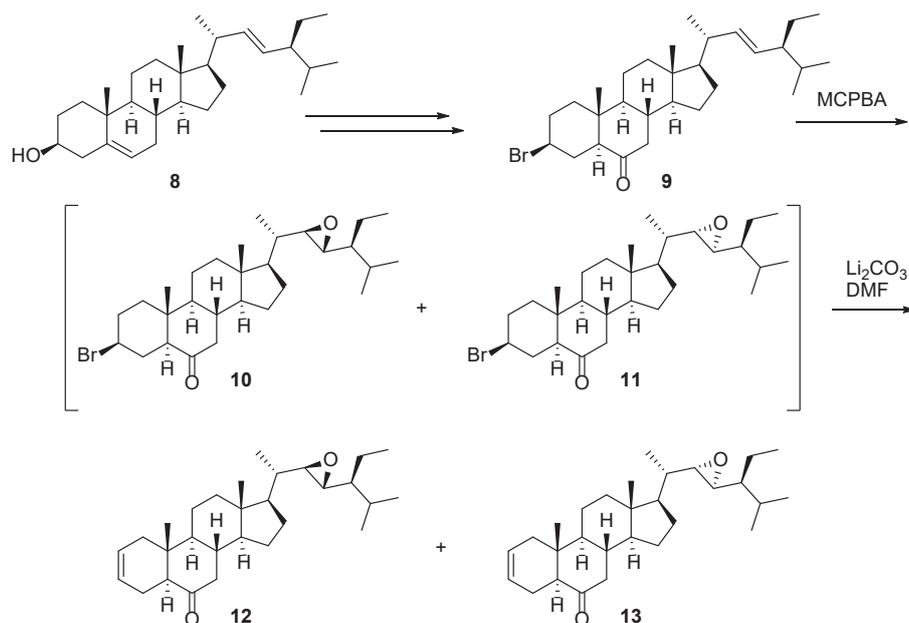


Рис. 2. Синтез эпоксидов **12** и **13**
 Fig. 2. Synthesis of epoxides **12** and **13**

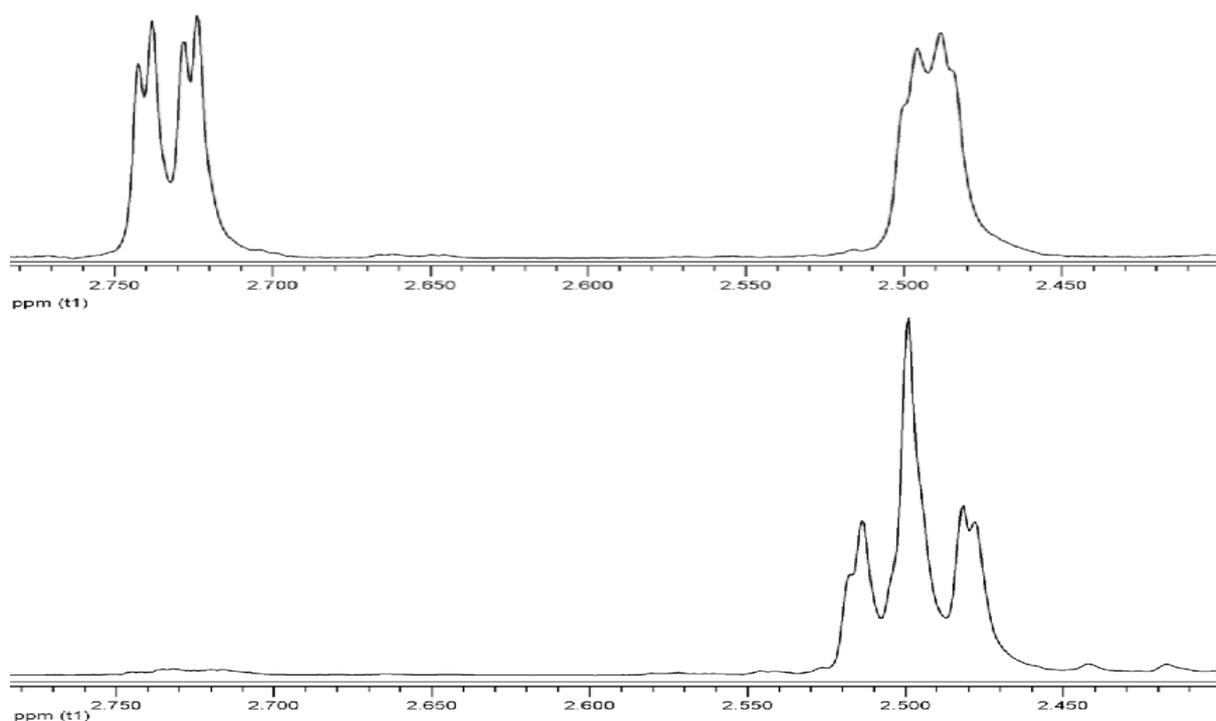
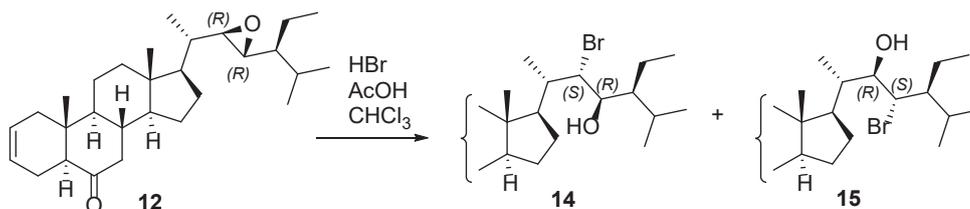


Рис. 3. Фрагменты спектров ^1H ЯМР 22*R*,23*R*-эпоксида **12** (сверху) и 22*S*,23*S*-эпоксида **13** (снизу)
 Fig. 3. Fragments of ^1H NMR spectra of 22*R*,23*R*-epoxide **12** (top) and 22*S*,23*S*-epoxide **13** (bottom)

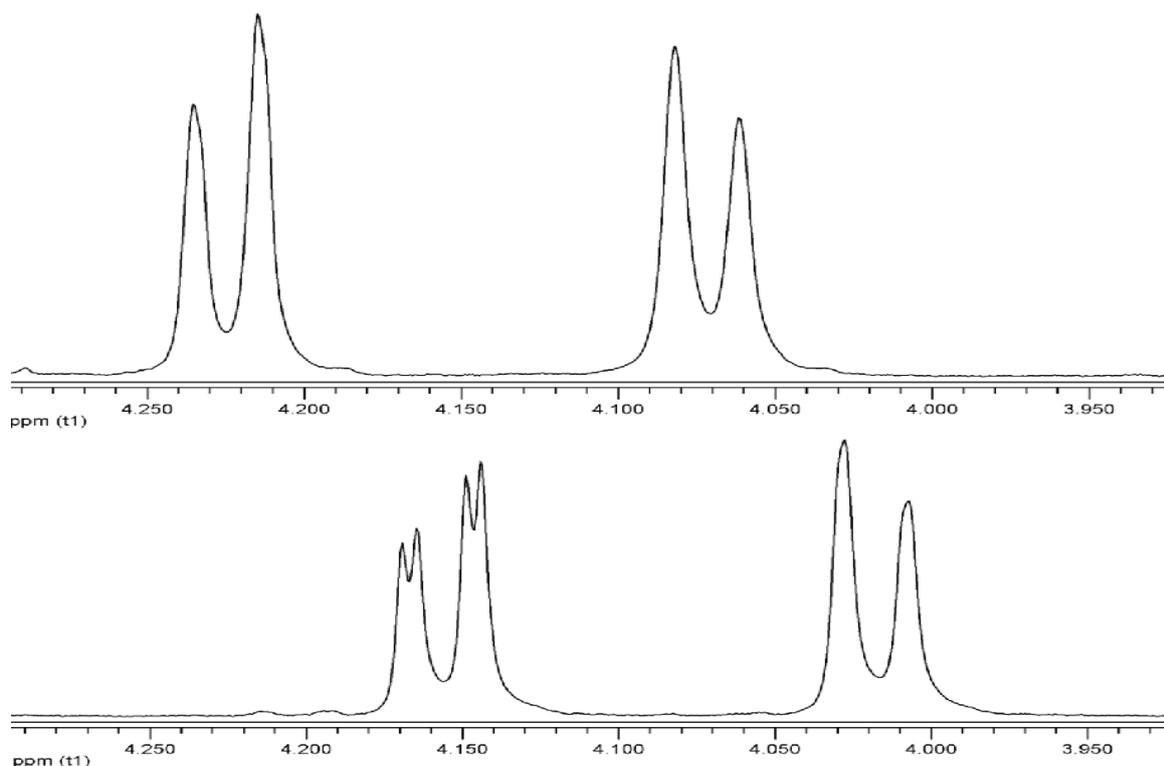
Обработка 22*R*,23*R*-эпоксида **12** бромистоводородной кислотой в смеси уксусная кислота–хлороформ дала бромгидрины **14** и **15** в соотношении 9 : 5 с выходом, близким к количественному (рис. 4).

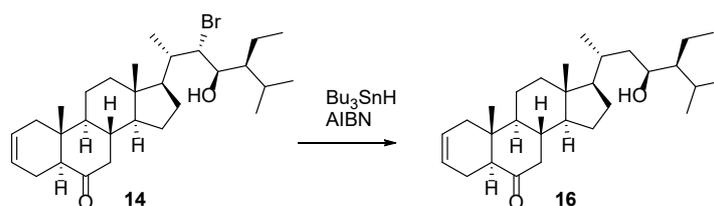
В спектрах ^1H ЯМР соединений **14** и **15** отсутствуют сигналы эпоксидных протонов и имеются характерные мультиплеты с δ 5,56 и 5,68, свидетельствующие о сохранении Δ^2 -связи. Также в спектрах присутствует ряд новых сигналов в диапазоне 4,02–4,22 м.д., принадлежащих про-

Рис. 4. Реакция эпоксида **12** с бромистоводородной кислотойFig. 4. Reaction of epoxide **12** with hydrobromic acid

тонам при C-22 и C-23. Положение заместителей в боковой цепи полученных стероидов было установлено путем сравнения их спектральных характеристик с литературными данными схожих соединений. Так, в спектре соединения **14** присутствуют два дублета с δ 4,07 и 4,22, что согласуется с данными, полученными для 22-бром-23-гидроксистероидов [18]. В ^1H ЯМР спектре бромгидрина **15** присутствует дублет с δ 4,02 и дублет дублета с δ 4,16, что характерно для 23-бром-22-гидроксистероидов [18]. Фрагменты спектров полученных изомеров приведены на рис. 5. Конфигурация гидроксильной группы соединений **14** и **15** определяется исходным эпоксидом (*R*), а конфигурация атома брома – особенностями транс-раскрытия эпоксидного цикла (*S*).

Полученные бромгидрины **14** и **15** подвергли реакциям радикального дебромирования. Синтезы проводили в кипящем сухом бензоле в присутствии трибутилового гидроксида и каталитических количеств азобисизобутиронитрила. Дебромирование 22-бром-23-гидроксистероида **14** протекало за 6 ч и приводило к единственному продукту Δ^2 -23-гидроксистероиду **16** (рис. 6). В ^1H ЯМР спектре полученного соединения отсутствуют сигналы C-22 и C-23 протонов исходного бромгидрина в диапазоне 4,07–4,22 м.д., и появляется новый сигнал в виде дублета дублета с δ 2,73, принадлежащий атому водорода, связанному с атомом углерода C-23, несущим гидроксильную

Рис. 5. Фрагменты спектров ^1H ЯМР бромгидринов **14** (сверху) и **15** (снизу)Fig. 5. Fragments of the ^1H NMR spectra of bromohydrins **14** (top) and **15** (bottom)

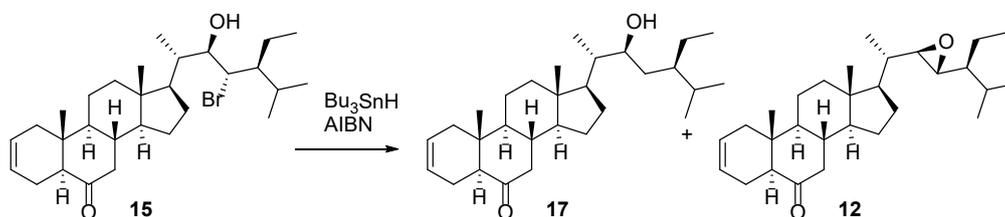
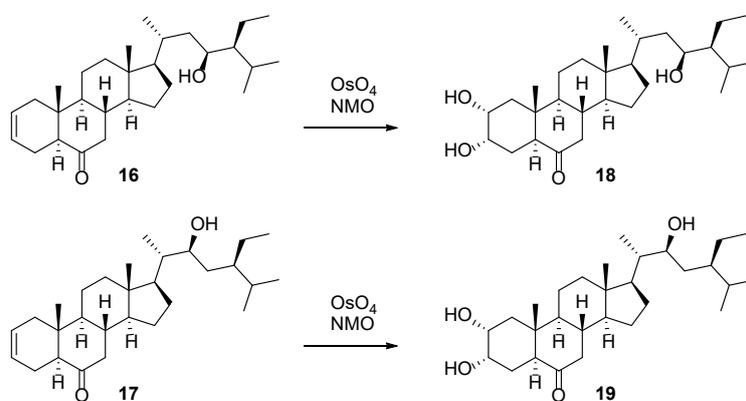
Рис. 6. Дебромирование бромгидрина **14**Fig. 6. Debromination of bromohydrin **14**

группу. Также в молекуле сохраняются мультиплеты с δ 5,56 и 5,68, свидетельствующие о неизменности Δ^2 -связи.

Аналогичная реакция 23-бром-22-гидроксистероида **15** требовала кипячения реакционной смеси в течение 16 ч. При этом в результате получена смесь двух веществ: Δ^2 -22-гидроксипроизводного **17** и 22*R*,23*R*-эпоксида **12** (рис. 7). Образование **12** является результатом побочной реакции дегидробромирования **15** в условиях проведения процесса дебромирования. Хроматографическое деление реакционной смеси на силикагеле не позволило выделить достаточное количество продуктов в чистом виде. Поэтому было решено обработать смесь бромистоводородной кислотой, что привело к образованию бромгидринов **14** и **15**, полярность которых заметно отличается от полярности исходного эпоксида **12** и стероида **17**. Полученная смесь из трех веществ была успешно разделена методом колоночной хроматографии на силикагеле.

В ^1H ЯМР спектре полученного 22-гидроксистероида **17** неизменными остаются мультиплеты, соответствующие Δ^2 -связи, и присутствует новый мультиплет с δ 2,52, свидетельствующий о наличии гидроксильной группы при атоме углерода С-22.

Реакции введения 2 α ,3 α -диолевой группировки в соединения **16** и **17** проводили в водном ацетоне в присутствии *N*-метилморфолин-*N*-оксида, используя каталитические количества четырехоксида осмия (рис. 8).

Рис. 7. Дебромирование бромгидрина **15**Fig. 7. Debromination of bromohydrin **15**Рис. 8. Синтез триолов **18** и **19**Fig. 8. Synthesis of triols **18** and **19**

Структура полученных соединений подтверждается данными ^1H ЯМР. В спектрах стероидов **18** и **19** отсутствуют сигналы мультиплетов, характерные для Δ^2 -связи и присутствует ряд новых сигналов δ 3,74–3,75 и 4,03, свидетельствующих о наличии 2 α ,3 α -диольной группировки.

Таким образом, в результате проведенного исследования разработан метод синтеза предполагаемых биосинтетических предшественников гомокастестерона, содержащих одну гидроксильную группу в боковой цепи. При этом целевые соединения получены с использованием простых реакций с сохранением нативного углеродного скелета боковой цепи исходного стерина.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Х23РНФ-087).

Acknowledgements. The work was financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant agreement no. X23RNF-087).

Список использованных источников

1. Khripach, V. A. Brassinosteroids. A New Class of Plant Hormones / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, A. E. de Groot. – San Diego: Academic Press, 1999. – 456 с.
2. Bajguz, A. Brassinosteroids – Occurrence and Chemical Structures in Plants / A. Bajguz // Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone / eds.: S. Hayat, Aqil Ahmad. – Dordrecht, 2011. – P. 1–27. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0189-2_1
3. Wei, Z. Regulation of brassinosteroid homeostasis in higher plants / Z. Wei, J. Li // Front. Plant Sci. – 2020. – Vol. 11. – № 583622. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.583622>
4. The DWF4 gene of Arabidopsis encodes a cytochrome P450 that mediates multiple 22 α -hydroxylation steps in brassinosteroid biosynthesis / S. W. Choe [et al.] // Plant Cell. – 1998. – Vol. 10, № 2. – P. 231–243. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.2.231>
5. Arabidopsis CYP90B1 catalyses the early C-22 hydroxylation of C27, C28 and C29 sterols / S. Fujita [et al.] // Plant J. – 2006. – Vol. 45, № 5. – P. 765–774. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02639.x>
6. CYP724B2 and CYP90B3 function in the early C-22 hydroxylation steps of brassinosteroid biosynthetic pathway in tomato / T. Ohnishi [et al.] // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2006. – Vol. 70, № 9. – P. 2071–2080. <https://doi.org/10.1271/bbb.60034>
7. Khripach, V. A. Synthetic Aspects of Brassinosteroids / V. A. Khripach, V. N. Zhabinskii, Y. V. Ermolovich // Studies in Natural Products Chemistry / ed. Atta-ur-Rahman. – Amsterdam, 2015. – P. 309–352. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63460-3.00006-7>
8. Synthesis of hexadeuterated 23-dehydroxybrassinosteroids / V. A. Khripach [et al.] // Steroids. – 2002. – Vol. 67, № 13–14. – P. 1101–1108. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(02\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(02)00071-5)
9. Synthesis of [26,27- $^2\text{H}_6$]brassinosteroids from 23,24-bisnorcholeonic acid methyl ester / A. P. Antonchick [et al.] // Steroids. – 2004. – Vol. 69, № 10. – P. 617–628. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2004.05.014>
10. Hurski, A. L. A new approach to the side chain formation of 24-alkyl-22-hydroxy steroids: application to the preparation of early brassinolide biosynthetic precursors / A. L. Hurski, V. N. Zhabinskii, V. A. Khripach // Steroids. – 2012. – Vol. 77, № 7. – P. 780–790. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2012.03.010>
11. A convenient synthesis of (22S)-22-hydroxycampesterol and some related steroids / S. Takatsuto [et al.] // J. Chem. Res. (S). – 1998. – № 4. – P. 176–177. <https://doi.org/10.1039/A707201E>
12. A concise and stereoselective synthesis of the cathasterone's side chain / T. S. Mei [et al.] // Chin. Chem. Lett. – 2004. – Vol. 15. – P. 762–764.
13. Synthesis of cathasterone and its related putative intermediates in brassinolide biosynthesis / S. Takatsuto [et al.] // J. Chem. Res. (S). – 1997. – № 11. – P. 418–419. <https://doi.org/10.1039/A704788F>
14. Synthesis of 24-epicathasterone and related brassinosteroids with modified side chain / B. Voigt [et al.] // Tetrahedron. – 1997. – Vol. 53, № 50. – P. 17039–17054. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(97\)10146-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)10146-6)
15. Новый синтез (22S,23S)-28-гомокастестерона / А. А. Ахрем [и др.] // Докл. Акад. наук СССР. – 1984. – Т. 275, № 5. – С. 1089–1091.
16. Fuentes-Figueroa, M. A. Absolute configuration assignment of stigmaterol oxiranes / M. A. Fuentes-Figueroa, P. Joseph-Nathan, E. Burgueno-Tapia // Chirality. – 2022. – Vol. 34, № 2. – P. 396–420. <https://doi.org/10.1002/chir.23390>
17. Configurational assignment of epimeric 22,23-epoxides of steroids by C-13 NMR-spectroscopy / M. G. Sierra [et al.] // Tetrahedron. – 1986. – Vol. 42, № 2. – P. 755–758. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)87482-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87482-2)
18. Nakane, M. Stereoselectivity in the electrophilic addition reactions of stigmast-22(23)-ene derivatives / M. Nakane, M. Morisaki, N. Ikekawa // Tetrahedron. – 1975. – Vol. 31, № 22. – P. 2755–2760. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(75\)80285-7](https://doi.org/10.1016/0040-4020(75)80285-7)

References

1. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Groot A. E. de. *Brassinosteroids. A New Class of Plant Hormones*. San Diego, Academic Press, 1999. 456 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-406360-0.X5000-X>
2. Bajguz A., Hayat S., Ahmad A. Brassinosteroids – Occurrence and Chemical Structures in Plants. *Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone*. Dordrecht, Springer, 2011, pp. 1–27. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0189-2_1

3. Wei Z., Li J. Regulation of brassinosteroid homeostasis in higher plants. *Frontiers in Plant Science*, 2020, vol. 11, pp. 583622. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.583622>
4. Choe S. W., Dilkes B. P., Fujioka S., Takatsuto S., Sakurai A., Feldmann K. A. The DWF4 gene of Arabidopsis encodes a cytochrome P450 that mediates multiple 22a-hydroxylation steps in brassinosteroid biosynthesis. *Plant Cell*, 1998, vol. 10, no. 2, pp. 231–243. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.2.231>
5. Fujita S., Ohnishi T., Watanabe B., Yokota T., Takatsuto S., Fujioka S., Yoshida S., Sakata K., Masaharu M. Arabidopsis CYP90B1 catalyses the early C-22 hydroxylation of C27, C28 and C29 sterols. *Plant Journal*, 2006, vol. 45, no. 5, pp. 765–774. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02639.x>
6. Ohnishi T., Watanabe B., Sakata K., Mizutani M. CYP724B2 and CYP90B3 function in the early C-22 hydroxylation steps of brassinosteroid biosynthetic pathway in tomato. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006, vol. 70, no. 9, pp. 2071–2080. <https://doi.org/10.1271/bbb.60034>
7. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Ermolovich Y. V. Synthetic Aspects of Brassinosteroids. Atta-ur-Rahman (ed.). *Studies in Natural Products Chemistry*. Amsterdam, Elsevier, 2015, pp. 309–352. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63460-3.00006-7>
8. Khripach V. A., Zhabinskii V. N., Antonchick A. P., Konstantinova O. V., Schneider B. Synthesis of hexadeuterated 23-dehydroxybrassinosteroids. *Steroids*, 2002, vol. 67, no. 13–14, pp. 1101–1108. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(02\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(02)00071-5)
9. Antonchick A. P., Schneider B., Zhabinskii V. N., Khripach V. A. Synthesis of [26,27-²H₆]brassinosteroids from 23,24-bisnorcholeonic acid methyl ester. *Steroids*, 2004, vol. 69, no. 10, pp. 617–628. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2004.05.014>
10. Hurski A. L., Zhabinskii V. N., Khripach V. A. A new approach to the side chain formation of 24-alkyl-22-hydroxy steroids: application to the preparation of early brassinolide biosynthetic precursors. *Steroids*, 2012, vol. 77, no. 7, pp. 780–790. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2012.03.010>
11. Takatsuto S., Watanabe T., Gotoh C., Kuriyama H., Noguchi T., Fujioka S. A convenient synthesis of (22S)-22-hydroxycampesterol and some related steroids. *Journal of Chemical Research*, 1998, no. 4, pp. 176–177. <https://doi.org/10.1039/A707201E>
12. Mei T. S., Peng L. Z., Zhang T., Li Y. L. A concise and stereoselective synthesis of the cathasterone's side chain. *Chinese Chemical Letters*, 2004, vol. 15, pp. 762–764.
13. Takatsuto S., Kuriyama H., Noguchi T., Suganuma H., Fujioka S., Sakurai A. Synthesis of cathasterone and its related putative intermediates in brassinolide biosynthesis. *Journal of Chemical Research*, 1997, no. 11, pp. 418–419. <https://doi.org/10.1039/A704788F>
14. Voigt B., Porzel A., Bruhn C., Wagner C., Merzweiler K., Adam G. Synthesis of 24-epicathasterone and related brassinosteroids with modified side chain. *Tetrahedron*, 1997, vol. 53, no. 50, pp. 17039–17054. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(97\)10146-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)10146-6)
15. Akhrem A. A., Lakhvich F. A., Khripach V. A., Kovganko N. V., Zhabinsky V. N. New synthesis of (22S,23S)-28-homocastasterone. *Dokl. Akad. Nauk SSSR [Doklady (Transactions) of the USSR Academy of Sciences]*, 1984, vol. 275, no. 5, pp. 1089–1091 (in Russian).
16. Fuentes-Figueroa M. A., Joseph-Nathan P., Burgueno-Tapia E. Absolute configuration assignment of stigmaterol oxiranes. *Chirality*, 2022, vol. 34, no. 2, pp. 396–420. <https://doi.org/10.1002/chir.23390>
17. Sierra M. G., Bustos D. A., Zudenigo M. E., Ruveda E. A. Configurational assignment of epimeric 22,23-epoxides of steroids by C-13 NMR-spectroscopy. *Tetrahedron*, 1986, vol. 42, no. 2, pp. 755–758. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)87482-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)87482-2)
18. Nakane M., Morisaki M., Ikekawa N. Stereoselectivity in the electrophilic addition reactions of stigmast-22(23)-ene derivatives. *Tetrahedron*, 1975, vol. 31, no. 22, pp. 2755–2760. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(75\)80285-7](https://doi.org/10.1016/0040-4020(75)80285-7)

Информация об авторах

Хрипач Владимир Александрович – академик, д-р хим. наук, профессор, зав. лаб. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. В. Ф. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: khripach@iboch.by

Жабинский Владимир Николаевич – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. В. Ф. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vz@iboch.by

Сикоров Евгений Владимирович – лаборант. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. В. Ф. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: vz@iboch.by

Лазарев Станислав Игоревич – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. В. Ф. Купревича, 5/2, 220084, Минск, Республика Беларусь). E-mail: stanislav-l@iboch.by

Information about the authors

Khripach Vladimir A. – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Head of Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: khripach@iboch.by

Zhabinskii Vladimir N. – Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, D. Sc. (Chemistry), Professor, Chief Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vz@iboch.by

Sikorov Evgeny V. – Laboratory Assistant. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vz@iboch.by

Lazarev Stanislav I. – Junior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220084, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: stanislav-l@iboch.by