氧化甾醇受体(LXRs)配体的合成

周向东^{①*} 郑辉^① 周维善^{②*}

(①第三军医大学基础部药理学教研室, 重庆 400038; ②中国科学院上海有机化学研究所, 上海 200032.)

* 联系人: zhxd@mail.tmmu.com.cn; zhws@pub.sioc.ac.cn)

摘要 以猪去氧胆酸甲酯 **4** 为原料, 乙酰链甾醇 **11** 为关键中间体和改进的 Sharpless 不对称双羟化反应为关键步骤, 经 9 步反应, 以 56% 的总收率和 100% 的高立体选择性地合成了 LXRs 激动剂 24S, 25-环氧胆固醇 **1**. 并通过 **1** 合成了 LXR α 亚型选择性激动剂 5 α , 6 α : 24S, 25-双环氧胆固醇 **2** 以及新配体 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇 **3**.

关键词 猪去氧胆酸甲酯 乙酰链甾醇 24S, 25-环氧胆固醇 Sharpless 不对称双羟化反应 LXRs 激动剂

心脑血管疾病是危害人们健康的头号敌人, 每年夺走约 1200 万人的生命, 约占世界总死亡数的四分之一, 还使千百万人致残, 已成为普遍关注的社会问题. 动脉粥样硬化是心脑血管疾病的病理基础^[1]. 胆固醇是动脉粥样硬化的罪魁祸首. 发展治疗动脉粥样硬化的药物对于防治心脑血管疾病具有重要的社会意义. 目前临床上主要使用的降低胆固醇防止动脉粥样硬化的药物是一类 HMG-CoA 还原酶抑制剂(他汀类)^[1], 其作用机制是单纯抑制胆固醇生源合成的限速酶——羟甲戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶, 使内源胆固醇的合成减少. 由此机理可看出, 这类药物只对胆固醇的体内合成起作用, 不能调控食物中摄入的过量的胆固醇, 也不能清除体内过量的胆固醇^[2].

近年来, 孤儿受体的发现导致了“逆向内分泌学”的产生^[3]. 肝孤儿受体(liver X receptors, LXRs)的发现就是其中的一例. LXRs 是核受体超家族中的一员, 最初因其配体未知而被认为是孤儿受体. LXRs 有 LXR α 和 LXR β 两种亚型, 其中 LXR α 主要在肝脏、脑、脂肪细胞、巨噬细胞内表达, 而 LXR β 则广泛表达于各种器官^[4-6]. 与其他核受体一样, LXRs 为配体依赖性核受体, 与相应的配体结合而被活化, 再与活化的 RXR(维甲酸孤儿受体)结合形成兼容性异源二聚体, 该异源二聚体与相应的 DNA 应答元件结合, 调节靶基因的表达, 发挥其生物效应^[4,5]. 最近已发现了几个受 LXRs 调控的直接靶基因, 这些靶基因都参与调控胆固醇的逆向运输和代谢分解. 如, 胆固醇分解成胆酸的限速酶胆固醇 7 α -羟化酶基因 CYP7A^[7,8], 将血浆中胆固醇转移到肝脏的胆固醇酯转移蛋白(CETP)基因^[9], 向细胞外输送胆固醇的 ABC-1^[10-12]

和 ABC-8^[13](运载蛋白 APT-结合盒家族的两个成员)基因, 巨噬细胞中的载脂蛋白 E(ApoE)基因等^[14,15]. LXRs 信号转导是一个新发现的有用的调节胆固醇代谢、运输的途径. 因此, LXRs 便成为治疗高胆固醇血症和动脉粥样硬化等心脑血管疾病的新的分子靶, LXRs 配体的发现便成为创制治疗高胆固醇血症, 动脉粥样硬化等心脑血管疾病新药的直接目标^[2,3,16].

LXRs 研究最为重要的进展是发现 24S, 25-环氧胆固醇 **1**, 脑甾醇(24S-羟基胆固醇)和 22R-羟基胆固醇等氧化甾醇是 LXRs 内源性配体(激动剂), 这些特定的氧化甾醇成为新一代的甾体激素, 因而 LXRs 又被称为是氧化甾醇受体^[3,7,17,18], 其中, 24S, 25-环氧胆固醇的活性最高^[18,19]. LXRs 配体的药效基团研究表明^[18,19]: 24S, 25-环氧胆固醇中的 24S, 25-环氧作为单纯的氢键接受体是 LXRs 激动剂必要的结构保证. 因此, 合成具有 24S, 25-环氧结构的氧化甾醇对于发现治疗高胆固醇血症和动脉粥样硬化等心脑血管疾病的新一代药物具有重要意义.

本文报道以猪去氧胆酸甲酯 **4** (methyl hyodeoxycholanate) (图 1)为原料, 乙酰链甾醇 **11** 为关键中间体和改进的 Sharpless 不对称双羟化反应为关键步骤, 高立体选择性地合成了 24S, 25-环氧胆固醇, 在此基础上立体选择性地合成了 LXR α 亚型选择性配体 5 α , 6 α : 24S, 25-双环氧胆固醇 **2**^[18]和设计的新配体 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇 **3**.

1 实验部分

所有反应均以薄层层析跟踪, 使用烟台化工研究所生产的高效薄层层析硅胶板, 磷钼酸显色. 快速层析用青岛海洋化工厂生产的层析硅胶(10 ~ 40 μ m), 层析用石油醚(Petroleum ether)均为 60~90 $^{\circ}$ C. 四氢呋

图 1

喃(THF)在氮气保护下,以钠和二苯甲酮回流至蓝色蒸出待用。二氯甲烷以氢化钙回流数小时后蒸出待用;化合物熔点用 Büch535 熔点仪测定,所有熔点均未校正。所有化合物旋光值由 Perkin-Elmer241MC 和 Perkin-Elmer341 旋光仪测定。红外光谱由 Shimadzu-440 和 Bio-Rad FTS185 红外光谱仪测定,固体样品用 KBr 压片。 ^1H NMR 由 Bruker AM300 (300 MHz)型核磁共振仪测定, TMS 作内标,未经特别说明,均用 CDCl_3 作溶剂。质谱由 HP5890A 型和 HP5973 质谱仪测定。元素分析由中国科学院上海有机化学研究所分析化学室以 ELEMENT ANALYZER-MOD. 1106 仪测定。高分辨质谱由 Concept 1H 型质谱仪测定。

(i) Δ^5 -3 β -羟基胆烷酸甲酯(5)。以猪去氧胆酸甲酯 4 为原料,经三步一锅炒合成 5^[20]。三步收率 94%。mp: 143.4 ~ 144.3 °C; $[\alpha]_D^{23}$ -42.33°(C, 1.99, CHCl_3); MS-EI(m/z): 388(M^+), 370($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 355($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{Me}$), 328($\text{M}^+ + 1 - \text{H}_2\text{O} - \text{MeO}$); IR(KBr) cm^{-1} : 3489(OH), 1716 (CO_2Me); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.69(3H, s, 18- H_3), 0.82(3H, d, $J = 6.4$ Hz, 21- H_3), 1.02(3H, s, 19- H_3), 3.53 (1H, m, 3 α -H), 3.68(3H, s, COOCH_3), 5.36 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, 6-H); 元素分析($\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3$): 计算值 C, 77.27%, H, 10.37%; 实测值 C, 77.37%, H, 10.15%。

(ii) Δ^5 -3 β -二甲基-叔丁基硅氧基胆烷酸甲酯(6)。25 mL 干燥蛋形瓶中,加入磁子, 1.552 g (4 mmol)原料 5, 溶于 4 mL DMF 中,加入 723 mg (4.8 mmol)叔丁基二甲基氯硅烷和 681 mg (4.0 mmol)咪唑,室温搅拌过夜。用 100 mL 乙酸乙酯(EtOAc)溶解, 5×100 mL H_2O , 3×50 mL 饱和 NaHCO_3 和 3×50 mL 饱和 NaCl 洗至中性,无水 NaSO_4 干燥,除去溶剂得粗品 2.973 g。快速柱层析(石油醚:乙酸乙酯/150:1~

100:1)得化合物(6) 2.000 g, 收率定量。mp: 138.4 ~ 139.7 °C; $[\alpha]_D^{18}$ -29.31°(C, 1.02, CHCl_3); MS-EI (m/z): 503($\text{M}^+ + 1$), 502(M^+), 488($\text{M}^+ + 1 - \text{Me}$), 446($\text{M}^+ + 1 - \text{tBu}$); IR(KBr) cm^{-1} : 1745(CH_3CO_2); ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 0.05(9H, s, tBu), 0.67(3H, s, 18- H_3), 0.89 (3H, s, 19- H_3), 0.92(3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21- H_3), 3.48(1H, m, 3 α -H), 3.66(3H, s, CO_2CH_3), 5.23(1H, d, $J = 5.2$ Hz, 6-H); 元素分析($\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{O}_3\text{Si}$): 计算值 C, 74.05%, H, 10.82%; 实测值 C, 74.00%, H, 10.72%。

(iii) Δ^5 -3 β -二甲基-叔丁基硅氧基胆烷-24-醇(7)。100 mL 干燥蛋形瓶中,加入磁子,装上滴液漏斗,真空火焰干燥,氩气保护下,冷至室温,加入 414 mg (10.91 mmol) LiAlH_4 , 40 mL THF 和 1.538 g (3.06 mmol)原料 6, 2 h 后, TLC 表明原料消失,加入 $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 有气体产生,搅拌 2 h 后,硅藻土过滤。 3×20 mL 乙酸乙酯洗涤,除去溶剂得针状晶体 1.481 g。粗品经石油醚-乙酸乙酯重结晶后得化合物 7 1.418 g, 收率 98%。mp: 173.3~174.0 °C; $[\alpha]_D^{18}$ -34.0°(C, 1.05, CHCl_3); MS-EI(m/z): 475($\text{M}^+ + 1$), 474(M^+), 460($\text{M}^+ + 1 - \text{Me}$), 418($\text{M}^+ + 1 - \text{tBu}$); IR(KBr) cm^{-1} : 3360(OH), 1253 (Si-CH₃), 1095(Si-O); ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 0.06 (9H, s, tBut), 0.63(3H, s, 18- H_3), 0.89(3H, s, 19- H_3), 0.96(3H, d, $J = 6.7$ Hz, 21- H_3), 3.48(1H, m, 3 α -H), 3.62 (2H, m, 24-CH₂), 5.32(1H, d, $J = 5.1$ Hz, Δ^6 -H); 元素分析($\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{O}_2\text{Si}$): 计算值 C, 75.88%, H, 11.46%; 实测值 C, 75.69%, H, 11.57%。

(iv) Δ^5 -3 β -二甲基-叔丁基硅氧基胆烷-24-醛(8)。100 mL 蛋形瓶中,加入磁子,装上滴液漏斗,真空火焰干燥,氩气保护下,冷至室温,加入 20 mL CH_2Cl_2 , 冷至 -78 °C, 滴加 0.76 mL (8.7 mmol)草酰氯,搅拌均匀后,滴加 1.24 mL (17.42 mmol)二甲亚砜(DMSO),

有气泡产生, 搅拌 15 min 后, 滴加含原料(7) 3.435 g(7.25 mmol)的 CH_2Cl_2 溶液 30 mL, 搅拌 15 min 后, 加入 10 mL 三乙胺, 继续搅拌 30 min 后, 升至室温, 用 3×50 mL 饱和 NH_4Cl , 3×50 mL 半饱和 NaCl 和 3×50 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥得粗品 3.785 g. 快速柱层析后得化合物(8) 3.410 g. 收率定量. mp: 151.8 ~ 153.8°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ -74.78°(C, 0.226, CHCl_3); MS-EI(m/z): 472(M^+), 457($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 415($\text{M}^+ - \text{tBu}$), 397($\text{M}^+ - \text{tBu} - \text{H}_2\text{O}$); IR(KBr) cm^{-1} : 2727(-CHO), 1733(CHO), 1253(Si-CH₃), 1087(Si-O); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.08(6H, s, Si(CH₃)₂), 0.70(3H, s, 18-H₃), 0.91(9H, s, SiC(CH₃)₃), 0.95(3H, d, $J = 6.5$ Hz, 21-H₃), 0.98(3H, s, 19-H₃), 3.50(1H, m, 3 α -H), 5.34(1H, d, $J = 5.2$ Hz, 6-H), 9.79 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, CHO); 元素分析($\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_2\text{Si}$): 计算值 C, 76.21%, H, 11.08%; 实测值 C, 76.19%, H, 11.22%.

(v) 3 β -二甲基-叔丁基硅氧基胆甾-5, 24-二烯(9). 100 mL 蛋形瓶中, 加入磁子, 真空火焰干燥, 氩气保护下, 冷至室温, 迅速加入 2.064 g (4.78 mmol) $\text{Ph}_3\text{PCH}(\text{CH}_3)_2\text{I}$, 加入 40 mL THF, 室温下滴加 2.0 mL 2.5 mmol/L (5.0 mmol)的丁基锂, 呈紫红色溶液. 室温搅拌 0.5 h. 加入含 1.127 g(2.39 mmol)原料 8 的 THF 溶液 20 mL, 室温搅拌 2 h. 滴加 40 mL 饱和 NH_4Cl 溶液, 有大量沉淀析出. 加入 50 mL 乙酸乙酯后, 用 5×100 mL H_2O , 3×50 mL 5% HCl , 3×50 mL 饱和 NaHCO_3 , 3×50 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品, 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯/200 : 1 ~ 150 : 1)得化合物(9) 1.090 g, 收率 92%. mp 123.5 ~ 124.9°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ -29.41°(c, 0.68, CHCl_3); MS-EI(m/z): 498(M^+), 484($\text{M}^+ + 1 - \text{CH}_3$), 442 ($\text{M}^+ + 1 - \text{tBu}$); IR(KBr) cm^{-1} : 1253(Si-CH₃), 1102(Si-O); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.06(6H, s, Si(CH₃)₂), 0.67(3H, s, 18-H₃), 0.89(3H, s, 19-H₃), 0.93(3H, d, $J = 6.5$ Hz, 21-H₃), 3.48(1H, m, 3 α -H), 5.09(1H, d, $J = 5.1$ Hz, Δ^6 -H); 元素分析($\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_3\text{Si}$): 计算值 C, 79.45%, H, 11.72%; 实测值 C, 79.33%, H, 11.87%.

(vi) 链甾醇(Desmosterol) (10). 25 mL 蛋形瓶中, 加入磁子, 真空火焰干燥, 氩气保护下, 冷至室温, 迅速加入 472 mg (0.95 mmol)原料 9, 抽气, 通氩气, 加入 5 mL THF 和 2.84 mL 1 mmol/L (2.84 mmol)的 TBAF-THF 溶液. 室温搅拌 6 h. 加入 25 mL 乙酸乙酯, 用 3×25 mL 饱和 NaHCO_3 , 3×25 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 492 mg. 快速柱层析(石油醚: 丙酮/10 : 1)得化合物(10) 337 mg, 收

率 93%. mp: 110.3 ~ 112.1°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ -40.45°(C, 0.515, CHCl_3); MS-EI(m/z): 384(M^+), 369($\text{M}^+ - \text{Me}$), 351 ($\text{M}^+ - \text{Me} - \text{H}_2\text{O}$); IR(KBr) cm^{-1} : 3393(OH)1671(Δ^5); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.68(3H, s, 18-H₃), 0.93 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 21-H₃), 1.00(3H, s, 19-H₃), 1.60(3H, s, 26-H₃), 1.68(3H, s, 27-H₃), 2.28(2H, m, 7-H₂), 3.51 (1H, m, 3 α -H), 5.08(1H, m, Δ^{24} -H), 5.35(1H, d, $J = 5.2$ Hz, 6-H); 元素分析($\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}$): 计算值 C, 84.31%, H, 11.53%; 实测值 C, 84.27%, H, 11.61%.

(vii) 乙酰链甾醇(11). 5 mL 蛋形瓶中, 加入 80 mg 原料 10, 用 1 mL 醋酐和 1 mL 吡啶溶解, 静置 12 h. 加入 5 mL 乙酸乙酯, 用 4×10 mL 水洗涤, 3×5 mL 10% HCl , 3×5 mL 饱和 NaHCO_3 , 3×5 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粒状晶体化合物(11) 85 mg, 收率 96%. mp: 90.5 ~ 91.3°C(91 ~ 93°C^[21]); $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ -40.84°(C, 0.287, CHCl_3)^[21,26].

(viii) Δ^5 -3 β -乙酰氧基-胆甾-24R, 25-二醇(12). 25 mL 蛋形瓶中, 加入磁子, 1.158 g(3.51 mmol) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 484 mg (3.51 mmol) K_2CO_3 , 105 mg (1.13 mmol) MeSO_2NH_2 , 46 mg(5% mol)(DHQD)₂PHAL, 4 mg (1% mol) $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$, 和 12 mL $\text{tBuOH} - \text{H}_2\text{O}$ (1 : 1), 搅拌均匀后, 加入含 500 mg(1.17 mmol)原料 11 的叔丁醇甲醚溶液 7.2 mL, 20 h 后原料基本消失, 冷至 0°C, 加入 1.755 g Na_2SO_3 , 搅拌 2 h. 加入 20 mL 乙酸乙酯, 3×30 mL 2 mol/L KOH , 3×30 mL 10% HCl , 3×30 mL 饱和 NaHCO_3 , 3×30 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥除去溶剂得粗品 623 mg, 快速柱层析(石油醚 : 丙酮/9 : 1 ~ 8 : 1)得化合物(12) 441 mg, 收率 82%, 100% de. mp: 162.4 ~ 163.8°C(158 ~ 159°C^[21]); $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ -25.28°(C, 0.352, CHCl_3); MS-EI(m/z): 400($\text{M}^+ - \text{HOAc}$), 382($\text{M}^+ - \text{HOAc} - \text{H}_2\text{O}$); IR(KBr) cm^{-1} : 3475 (OH), 1733(CH_3CO_2); ^1H NMR(300 MHz, CDCl_3) δ : 0.69(3H, s, 18-H₃), 0.94(3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21-H₃), 1.02(3H, s, 19-H₃), 1.16(3H, s, 26-H₃), 1.22(3H, s, 27- H₃), 2.04 (3H, s, CH_3CO_2), 2.31(2H, d, $J = 7.7$ Hz, 7- H₂), 3.33 (1H, m, 24 α -H), 4.60(1H, m, 3 α -H), 5.38(1H, d, $J = 4.4$ Hz, 6-H); 元素分析($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_4$): 计算值 C, 75.61%, H, 10.50%; 实测值 C, 75.49%, H, 10.71%.

(ix) 24S, 25-环氧胆固醇(1) (方法一). 25 mL 蛋形瓶中, 加入磁子, 真空火焰干燥, 氩气保护下, 冷至室温, 迅速加入原料(12) 205 mg, 用 4 mL CH_2Cl_2 溶解, 加入 0.2 mL 吡啶, 冷至 0°C, 滴加 0.07 mL 甲磺酰氯, 搅拌过夜. 加入 25 mL 乙酸乙酯和 3×25 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得

粗品 281 mg, 于粗品中, 加入 12 mL 甲醇, 1.4 mL 水和 0.760 g K_2CO_3 , 室温搅拌 18 h. 加入 20 mL 水, 3×10 mL 乙酸乙酯提取, 合并有机相, 用 2×30 mL 水和 2×30 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 254 mg, 快速柱层析(石油: 乙酸乙酯/6:1)得化合物(1) 160 mg, 收率 90%. mp: 159.5~161.0°C (156 ~ 157°C^[21,22]); $[\alpha]_D^{22}$ -44.11°(C, 0.263, $CHCl_3$) ($[\alpha]_D$ -44°(C, 0.01, $CHCl_3$)^[21]); MS-EI(*m/z*): 400(M^+), 382($M^+ - H_2O$), 367($M^+ - H_2O - Me$), 349($M^+ - 2H_2O - Me$); IR(KBr) cm^{-1} : 3436(OH); 1H NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.69(3H, s, 18- H_3), 0.94 (3H, d, $J = 6.54$ Hz, 21- H_3), 1.01(3H, s, 19- H_3), 1.27(3H, s, 26- H_3), 1.31(3H, s, 27- H_3), 2.27(2H, m, 7- H_2), 2.69(1H, m, 24 β -H), 3.52 (1H, m, 3 α -H), 5.35 (1H, d, $J = 5.20$ Hz, 6-H); 元素分析($C_{27}H_{44}O_2$): 计算值 C, 80.94%, H, 11.07%; 实测值 C, 80.49%, H, 10.86%.

(x) Δ^5 -3 β -二甲基-叔丁基硅氧基胆甾-24R,25-二醇(13). 25 mL 蛋形瓶中, 加入磁子, 495 mg $K_3Fe(CN)_6$, 207 mg K_2CO_3 , 48 mg $MeSO_2NH_2$, 24 mg (5% 摩尔分数)(DHQD)₂-PHAL, 4 mg $K_2OsO_2(OH)_4$, 和 10 mL $tBuOH-H_2O$ (1:1), 搅拌均匀后, 加入含 249 mg 原料 9 的叔丁醇甲醚溶液 10 mL, 反应 56 h, 冷至 0°C, 加入 Na_2SO_3 搅拌 0.5 h 后, 加入 25 mL 乙酸乙酯, 用 3×25 mL 2 mol/L KOH, 3×25 mL 10% HCl, 3×25 mL 饱和 $NaHCO_3$, 3×25 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂, 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯/4:1)得化合物(13) 94 mg, 收率 35%. mp: 186.0 ~ 187.2°C; $[\alpha]_D^{22}$ -9.14°(C, 0.504, $CHCl_3$); MS-EI(*m/z*): 532(M^+), 517($M^+ - Me$), 475($M^+ - tBu$), 458($M^+ + 1 - H_2O - tBu$), 440($M^+ + 1 - tBu - 2H_2O$); IR(KBr) cm^{-1} : 3420, 1254 (Si- CH_3), 1096(Si-O); 1H NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.05(6H, s, Si(CH_3)₂), 0.68(3H, s, 18- H_3), 0.88(9H, s, SiC(CH_3)₃), 0.93 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21- H_3), 0.99(3H, s, 19- H_3), 1.12(3H, s, 26- H_3), 1.16(3H, s, 27- H_3), 3.33(1H, t, $J = 6.4$ Hz, 24 α -H), 3.47(1H, m, 3 α -H), 5.31(1H, d, $J = 5.1$ Hz, 6-H); 元素分析($C_{33}H_{60}O_3Si$): 计算值 C, 74.38%, H, 11.35%; 实测值 C, 74.03%, H, 11.51%.

(xi) 24S,25-环氧胆固醇(1) (方法二). 25 mL 蛋形瓶中, 加入磁子, 真空火焰干燥, 氩气保护下, 冷至室温, 迅速加入原料(13) 100 mg (0.188 mmol), 用 3 mL CH_2Cl_2 溶解, 加入 0.5 mL 吡啶, 冷至 0°C 后, 滴加 0.03 mL (0.891 mmol) 甲磺酰氯, 搅拌 12 h. 加入 25 mL 乙酸乙酯和 3×30 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 115 mg. 于粗品中,

加入 2 mL 甲醇, 0.2 mL 水和 130 mg K_2CO_3 , 室温搅拌 24 h. 加入 20 mL 水, 25 mL 乙酸乙酯提取, 合并有机相, 2×25 mL 水, 2×25 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 78 mg. 粗品用 5 mL THF 溶解加入 0.46 mL 1 mol/L 的 TBAF-THF 溶液室温搅拌 5 h. 加入 25 mL EtOAc, 2×25 mL 水, 2×25 mL 饱和 $NaHCO_3$, 再用 2×25 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 77 mg. 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯/9:1~6:1)得化合物(1) 63 mg, 收率 84%. mp: 158.4 ~ 159.6°C. 其他数据同前.

(xii) 5 α , 6 α : 24S,25-双环氧胆固醇(2). 25 mL 蛋形瓶中, 加入原料(1) 223 mg(0.558 mmol)用 6 mL $CHCl_3$ 溶解, 冷至 -15°C, 于加入 146 mg (80%, 0.677 mmol) MCPBA, 搅拌过夜, 升至室温. 加入亚硫酸钠 832 mg, 搅拌半小时. 加入 10 mL EtOAc 后, 用 2×10 mL 饱和 $NaHCO_3$, 2×15 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 250 mg. 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯/10:1)得化合物(2) 145 mg, 收率 62.5%. mp: 136~138°C; $[\alpha]_D^{20}$ -56°(C, 0.11, $CHCl_3$); MS-EI (*m/z*): 416(M^+), 398($M^+ - H_2O$); IR(KBr) cm^{-1} : 3446(OH); 1H NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.61(3H, s, 18- H_3), 0.91(3H, d, $J = 6.52$ Hz, 21- H_3), 1.07(3H, s, 19- H_3), 1.26(3H, s, 26- H_3), 1.32(3H, s, 27- H_3), 2.67(1H, m, 24 β -H), 2.90(1H, m, 6 β -H), 3.91(1H, m, 3 α -H); HRMS($C_{27}H_{44}O_3$)计算值 416.3290; 实测值 416.3291.

(xiii) 24S,25-环氧胆固醇-3 β -醋酸酯(14). 25 mL 蛋形瓶中, 加入 205 mg 原料 1, 用 2 mL 醋酐和 2 mL 吡啶溶解, 静置 6 h. 加入 10 mL 乙酸乙酯, 用 5×10 mL 水洗涤, 再用 3×10 mL 5% HCl, 3×10 mL 饱和 $NaHCO_3$, 3×10 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 267 mg. 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯/25:1)得化合物(14) 139 mg, 收率 61%. mp: 103~105°C(114.5 ~ 116.5°C^[23]); $[\alpha]_D^{20}$ -46°(C, 0.3, $CHCl_3$); MS-EI(*m/z*): 382($M^+ - HOAc$); IR(KBr) cm^{-1} : 1730, 1668; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.69(3H, s, 18- H_3), 0.94 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, 21- H_3), 1.27(3H, s, 26- H_3), 1.31(3H, s, 26- H_3), 1.99(3H, s, -OCOCH₃), 2.31(1H, m, 7- H_2), 2.68(1H, m, 24 β -H), 4.60(1H, m, 3 α -H), 5.38(1H, d, $J = 4.5$ Hz, Δ^5 -H); HRMS ($C_{27}H_{43}O$, M-OAc): 计算值 383.3314; 实测值 383.3298.

(xiv) 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇-3 β -醋酸酯(15). 25 mL 蛋形瓶中, 加入事先由研磨成的细粉末的含 430 mg (2.722 mmol) $KMnO_4$ 和 215 mg $Fe_2(SO_4)_3$.

$n\text{H}_2\text{O}$ 的混合物, 加入 0.022 mL 水, 0.108 mL 叔丁醇, 搅拌均匀后, 加入含 95 mg (0.215 mmol) 原料 **14** 的 CH_2Cl_2 溶液 1.075 mL, 室温下搅拌 2 h. TLC 表明, 原料消失. 加入无水乙醚 2.15 mL, 剧烈搅拌 15 min, 过滤, 5 mL 无水乙醚洗涤. 有机相用 10 mL 去离子水, 2×10 mL 饱和食盐水洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 100 mg, 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯 12: 1)得化合物 (**15**) 76 mg, 收率 78%. mp: 70 ~ 72 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -11° (C, 0.25, CHCl_3); MS-EI (m/z): 398 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$); IR (KBr) cm^{-1} : 1733 (OAc); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.65 (3H, s, 18- H_3), 0.91 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, 21- H_3), 1.00 (3H, s, 19- H_3), 1.26 (3H, s, 26- H_3), 1.30 (3H, s, 27- H_3), 2.11 (1H, m, CH_3COO), 2.69 (1H, m, 24 β -H), 3.08 (1H, m, 6 α -H), 4.75 (1H, m, 3 α -H); HRMS ($\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{O}_2$, M-OAc): 计算值 399.3263; 实测值: 399.3260

(XV) 5 β , 6 β : 24S,25-双环氧胆固醇 (**3**). 25 mL 蛋形瓶中, 加入 52 mg (0.114 mmol) 原料 **15**, 1.87 mL 甲醇, 0.14 mL 水和 78 mg K_2CO_3 (0.565 mmol), 室温搅拌 50 min. 除去甲醇, 5 mL 乙酸乙酯提取, 3×5 mL 饱和 NaCl 洗涤, 无水 Na_2SO_4 干燥, 除去溶剂得粗品 54 mg, 快速柱层析(石油醚: 乙酸乙酯/6: 1)得化合物 (**3**) 34 mg, 收率 72%. mp: 131~133 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -4°

(C, 0.3, CHCl_3); MS-EI (m/z): 416 (M^+), 398 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$); IR (KBr) cm^{-1} : 3368 (OH); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.65 (3H, s, 18- H_3), 0.92 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, 21- H_3), 0.99 (3H, s, 19- H_3), 1.26 (3H, s, 26- H_3), 1.30 (3H, s, 27- H_3), 2.67 (1H, m, 24 β -H), 3.06 (1H, m, 6 α -H), 3.70 (1H, m, 3 α -H); HRMS ($\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$): 计算值 416.3290; 实测值 416.3273.

2 结果与讨论

由于 24S,25-环氧胆固醇在人体内的含量极微, 高立体选择性的合成便成为此类研究的首要目标. 以往的合成是以苯甲酰链甾醇经环氧化试剂——间氯过氧苯甲酸 (MCPBA) 直接环氧化得 24S, 25-和 24R, 25-环氧的混合物, 再经柱层析分离而得 24S,25-环氧胆固醇^[22]. 最近的报道则是以大豆甾醇或大豆甾醇降解产物为原料来合成关键中间体链甾醇或乙酰链甾醇, 再由链甾醇或乙酰链甾醇来合成 24S,25-环氧胆固醇^[23~25].

我们已报道从猪去氧胆酸甲酯 **4** 出发, 合成 LXRs 的另一配体——脑甾醇^[26].

本文中, 我们以猪去氧胆酸甲酯 **4** 为原料, 合成 24S,25-环氧胆固醇的路线如图 2 所示.

图 2

反应和条件: a, TsCl , Py, 0 °C. KOAc, DMF- H_2O , 105 °C. 2% KOH- H_2O , 94%; b, TBSCl, DMF, rt, 100%; c, LiAlH_4 , THF, 98%; d, $(\text{COCl})_2$, DMSO, Et_3N , -78 °C, 100%; e, $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{I}^-$, THF, rt, 92%; f, TBAF, THF, rt, 93%; g, Ac_2O , Py, 96%; h, $(\text{DHQD})_2\text{PHAL}$, $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, K_2CO_3 , $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{NH}_2$, t-Butanol-TBME- H_2O (2.5 : 3 : 2.5), 82%; i, $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, Py, Then, K_2CO_3 , MeOH- H_2O , 90%

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2002-47-24-1868>

将工业上所用的猪去氧胆酸粗品,经纯化后甲酯化形成猪去氧胆酸甲酯 **4**, **4** 于 0℃ 下在吡啶溶液中与对甲苯磺酰氯反应生成 3 α ,6 α -二对甲苯磺酸酯粗品,将此粗品于 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)和水的混合溶液中与醋酸钾在 105℃ 反应 5 h 后处理,粗品于室温下用 2% 的氢氧化钾选择性水解 3 β -乙酰基得 Δ^5 -3 β -羟基胆烷酸甲酯 **5**,三步一锅炒,收率 94%^[20,26]. **5** 经二甲基叔丁基氯硅烷(TBSCl)保护 3 β -羟基以 100% 收率得化合物 **6**,化合物 **6** 在室温下用锂铝氢还原以 98% 的收率得 24-醇化合物 **7**,化合物 **7** 经 Swern 氧化以 100% 的收率得 24-醛化合物 **8**,化合物 **8** 经 Wittig 反应烯化,以 92% 的收率得 24-烯化合物 **9**. 化合物 **9** 用四丁基氟化铵(TBAF)除去硅烷保护,以 93% 收率得链甾醇化合物 **10**,化合物 **10** 用醋酐-吡啶乙酰化以 96% 的收率得关键中间体乙酰链甾醇 **11**^[26].

获得关键中间体乙酰链甾醇 **11** 后,合成 24S, 25-环氧胆固醇 **1** 的关键步骤是对乙酰链甾醇 **11** 进行 Sharpless 不对称双羟化反应^[27]. 我们在对 Δ^{24} -甾醇的 Sharpless 不对称双羟化反应的系统研究中发现¹⁾: 影响甾体化合物 Sharpless 不对称双羟化反应效率的关键因素是甾体化合物在 Sharpless 不对称双羟化反应溶剂体系(叔丁醇-水/1 : 1)中的溶解度. Corey 曾报道用链甾醇作底物, (DHQD)₂DYDZ 作配体的 Sharpless 不对称双羟化反应,由于链甾醇在叔丁醇-水(1.5 : 1)中的溶解度较差,反应 56 h 后,以 83% 的收率, 92% de 得到双羟化产物^[24]. 由于乙酰链甾醇 **11** 在叔丁醇-水中的溶解度较链甾醇大,因此,我们用乙酰链甾醇作底物的目的是提高底物在反应溶剂体系中的溶解度,以提高 Sharpless 不对称双羟化反应的效率. 由于 Δ^{24} -乙酰链甾醇在叔丁醇-水中的溶解度仍较低^[21],我们发现增加溶剂体积和加入恰当的辅助溶剂(叔丁醇甲醚)可提高 Sharpless 不对称双羟化反应效率,即提高非对映选择性和缩短反应时间^[28].

用改进的 Sharpless 不对称双羟化反应^[28],即以 (DHQD)₂PHAL 为手性配体,对 **11** 进行不对称双羟化;在 3 mol K₃Fe(CN)₆, 3 mol K₂CO₃, 1 mol CH₃SO₂NH₂ 和催化量 K₂OsO₂(OH)₄ 的叔丁醇-叔丁醇甲醚-水(2.5 : 3 : 2.5)溶液中,于 0℃ 加入乙酰链甾醇 **11**, 20 h 后,经后处理,快速柱层析分离,以 82% 的收率和

100% de 得 24R, 25-二羟基化合物 **12**,反应时间较文献为短, de% 值比文献为高^[24,27]. 化合物 **12** 经甲磺酰氯和吡啶作用,选择性进行 24-甲磺酰化,所得粗品在碳酸钾-甲醇碱性条件下,发生分子内 S_N2 反应,形成环氧,两步一锅炒以 90% 的收率得目标分子 24S, 25-环氧胆固醇 **1**, mp: 159.5 ~ 161.0℃ (文献值^[21,22]: 156 ~ 157℃); [α]_D²²-44.11° (C, 0.263, CHCl₃) (文献值^[21]: [α]_D-44° (C, 0.01, CHCl₃)), 经 ¹H NMR, MS-EI 和 IR 证实其结构.

至此,我们从猪去氧胆酸甲酯 **4** 出发,经 9 步反应,以 56% 的总收率和 100% de 合成了目标分子 24S, 25-环氧胆固醇 **1**,以上各步反应所得产物均为固体,极易重结晶,易于放大.无论在立体选择性上,还是合成效率上均优于 Corey^[24] (大豆固醇降解产物作原料, 10 步反应,总收率 20%, 92% de) 和 Tomkinson (大豆固醇为原料, 12 步反应,总收率 16%^[21], 21%^[25], de% 值未见报道) 的合成路线.

用合成乙酰链甾醇的前体 3 β -羟基 TBS 保护的链甾醇化合物 **9**,用以上改进的 Sharpless 不对称双羟化反应条件,用手性配体 (DHQD)₂PHAL 进行不对称双羟化,由于化合物 **9** 中的 3-TBS 基团的影响,使化合物 **9** 在叔丁醇-叔丁醇甲醚-水(2.5 : 3 : 2.5)反应体系中的溶解度极低,导致反应收率降低,反应 56 h 后,仅以 35% 的收率得产物 24R, 25-二羟基化合物 **13**,大部分回收原料.增加叔丁醇的用量和加入辅助溶剂叔丁醇甲醚,反应 2 和 6 d,收率为 45% 和 67%,反应仍不能进行完全.由于化合物 **13** 的溶解度极低,HPLC 未能检测出反应的 de% 值.这从另一方面证明 Δ^{24} -链甾醇在 Sharpless 不对称双羟化反应体系中的溶解度是影响 Sharpless 不对称双羟化反应效率的关键.

化合物 **13** 经甲磺酰化,碳酸钾-甲醇-水水解和 TBAF-THF 脱 TBS 保护三步一锅炒,以 84% 的收率同样获得 24S, 25-环氧胆固醇 **1** (图 3).

在合成 **1** 的基础上,将 **1** 在 -15℃ ~ 室温下与 MCPBA (间氯过氧苯甲酸)反应过夜,以 62.5% 的收率获得了目标化合物——LXR α 亚型选择性激动剂 5 α , 6 α : 24S, 25-双环氧胆固醇 **2**^[18] (图 4),经 ¹H NMR, MS-EI 和 IR 证实其结构.¹H NMR 谱上仅有积分为一

1) 周向东. 一些具有生理活性的甾体化合物的合成研究. 中国科学院上海有机化学研究所博士论文. 1999

图 3

反应和条件: j, (DHQD)₂PHAL, K₂O₈O₂(OH)₄, K₃Fe(CN)₆, K₂CO₃, CH₃SO₂NH₂, t-Butanol-TBME-H₂O(1:2:1), 56 h, 35%; k, CH₃SO₂Cl, Py; K₂CO₃, MeOH-H₂O; f. TBAF-THF, rt, 3 steps, 84%

图 4

反应和条件: l, MCPBA, CH₂Cl₂, -15℃~室温, 过夜, 62.5%; m, Ac₂O, Py, 61%; n, KMnO₄, Fe₂(SO₄)₃ · xH₂O, H₂O-ButOH-CH₂Cl₂, 2h, 78%; o, K₂CO₃, MeOH-H₂O, 室温, 72%

个 H 的化学位移 δ 为 2.90 的多重峰, 应为 6 β -H^[29], 而没有 $\delta > 3.00$ 的峰(6 α -H). 由此表明: 该化合物为单纯的 5 α , 6 α : 24S, 25-双环氧胆固醇, 而没有其 5 β , 6 β -环氧异构体存在.

将 **1** 在醋酐-吡啶中乙酰化, 以 61% 的收率得乙酰化产物 **14**. 按文献, 将化合物 **14** 在 KMnO₄-Fe₂(SO₄)₃ · xH₂O 反应体系中^[29], 于室温下反应 2 h, 以 78% 的收率得新化合物, 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇-3 β -醋酸酯 **15**, 经 ¹H NMR, MS-EI 和 IR 证实其结构. ¹H NMR 图谱中仅有 δ 为 3.08 的 6 α -H 存在, 由此表明: 该化合物为单纯的 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇-3 β -醋酸酯(**15**), 而没有其 5 α , 6 α -环氧异构体存在. 将化合物 **15** 在甲醇-水-碳酸钾下水解, 以 72% 的收率得目标化合物: 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇 **3**,

经 ¹H NMR, MS-EI 和 IR 证实其结构. ¹H NMR 图谱中仅有 δ 为 3.06 的 6 α -H 存在^[29], 由此表明: 该化合物为单纯的 5 β , 6 β : 24S, 25-双环氧胆固醇(**3**), 而没有其 5 α , 6 α -环氧异构体存在. 从 **1** 到 **3**, 4 步总收率为 34%. 其中化合物 **15** 和 **3** 的合成未见报道.

化合物 **1**, **2**, **3**, **14** 和 **15** 的生物测试工作正在进行之中.

致谢 感谢沈季铭先生提供足够的原料, 夏立均先生所作的 HPLC 检测. 本工作作为国家自然科学基金(批准号: 20072047)、中国科学院上海有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室基金、第三军医大学科研基金资助项目和重庆市攻关项目(批准号: 6617).

参 考 文 献

1 吴葆杰. 抗动脉粥样硬化药的进展情况. 见: 金正均, 汪永铭,

- 苏定冯主编. 药理学进展. 北京: 科学出版社, 1998. 96 ~ 99
- 2 Ferber D. Possible new way to lower cholesterol. *Science*, 2000, 289: 1446 ~ 1447
- 3 Kliewer S A, Lehmann J M, Willson T M. Orphan nuclear receptors: Shifting endocrinology into reverse. *Science*, 1999, 284: 757 ~ 760
- 4 Apfel R, Benbrook D, Lernhardt E, et al. A novel orphan receptor specific for a subset of thyroid hormone-responsive elements and its interaction with the retinoid/thyroid hormone receptor subfamily. *Mol Cell Biol*, 1994, 14: 7025 ~ 7035
- 5 Willy P J, Umesono K, Ong E S, et al. LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway. *Genes Dev*, 1995, 9: 1033 ~ 1045
- 6 Song C, Hiipakka R A, Kokontis J M, et al. Ubiquitous receptor: structures, immunocytochemical localization, and modulation of gene activation by receptors for retinoic acids and thyroid hormones. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, 761: 38 ~ 49
- 7 Lehman J M, Kliewer S A, Moore L B, et al. Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols defines a new hormone response pathway. *J Biol Chem*, 1997, 272: 3137 ~ 3140
- 8 Peet D J, Turley D, Ma W, et al. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Cell*, 1998, 93: 693 ~ 704
- 9 Luo Y, Tall A R. Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest*, 2000, 105(4): 513 ~ 520
- 10 Repa J J, Turley S D, Lobaccaro J -M A, et al. Regulation of absorption and ABC1-Mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*, 2000, 289: 1524~1529
- 11 Venkateswaran A, Laffitte B A, Joseph S B, et al. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(22): 12097 ~ 12102
- 12 Costet P, Luo Y, Wang N, et al. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem*, 2000, 275: 28240 ~ 28245
- 13 Venkateswaran A, Repa J J, Lobaccaro J -M A, et al. Human white/murine ABC8 mRNA levels are highly induced in lipid-loaded macrophages. A transcriptional role for specific oxysterols. *J Biol Chem*, 2000, 275: 14700 ~ 14707
- 14 Laffitte B A, Repa J J, Joseph S B, et al. LXRs control lipid-inducible expression of the apolipoprotein E gene in macrophages and adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 507 ~ 512
- 15 Claudel T, Leibowitz M D, Fievet C, et al. Reduction of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice by activation of the retinoid X receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 2610 ~ 2616
- 16 Chawla A, Saez E, Evans R M. Don't know much bile-ology. *Cell*, 2000, 103: 1 ~ 4
- 17 Janowski B A, Willy P J, Devi T R, et al. An oxysterol signaling pathway mediated by the nuclear receptor LXR α . *Nature* 1996, 383: 728 ~ 731
- 18 Janowski B A, Grogan M J, Jones S A, et al. Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXR α and LXR β . *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 266 ~ 271
- 19 Spencer T A, Li D, Russel J S, et al. Pharmacophore analysis of the nuclear oxysterol receptor LXR. *J Med Chem*, 2001, 44(6): 886 ~ 897
- 20 Buarucha K R, Buckley G C, Cross C K, et al. The conversion of hydoxycholeic acid to progesterone. *Can J Chem*, 1956, 34: 982 ~ 989
- 21 Tomkinson N C O, Willson T M, Russel J S, et al. Efficient, stereoselective synthesis of 24(S),25-epoxycholesterol. *J Org Chem*, 1998, 63: 9919 ~ 9923
- 22 Nelson J A, Steckbeck S R, Spencer T A. Biosynthesis of 24,25-epoxycholesterol from Squalene 2, 3: 22,23-dioxide. *J Biol Chem*, 1981, 256: 1067 ~ 1068
- 23 Emmons G T, Wilson W K, Schroepfer Jr G J. 24S,25-epoxycholesterol. Differentiation of 24R and 24S epimers by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Lipid Reseach*, 1989, 30: 133 ~ 138
- 24 Corey E J, Grogan M J. Stereocontrolled syntheses of 24(S), 25-epoxycholesterol and related oxysterols for studies on the activation of LXR receptors. *Tetrahedon Lett*, 1998, 39: 9351 ~ 9354
- 25 Spencer T A, Li D -S, Russel J S. Further studies on the synthesis of 24(S),25-epoxycholesterol. A new, efficient preparation of desmosterol. *J Org Chem*, 2000, 65: 1919 ~ 1923
- 26 Zhou Xiangdong, Zhou Weishan. A new highly stereoselective synthesis of cerebrosterol, an agonist of the nuclear receptor LXRs. *Tetrahedron*, 2001, 57(39): 8291 ~ 8296
- 27 Kolb H C, Van Nieuwenhze M S, Sharpless K B. Catalytic asymmetric dihydroxylation. *Chem Rev*, 1994, 94: 2483 ~ 2547
- 28 周向东, 周维善. 中国专利, ZL99124007.3, 1999-11-12
- 29 Salvador J A R, Melo M L, Campos N A S. Oxidation with potassium permanganate-metal sulphates and nitrates. β -selective epoxidation of Δ^5 -unsaturated steroids. *Tetrahedon Lett*, 1996, 37: 687 ~ 690