

**ТАДЖИКСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМ. В. И. НИКИТИНА
АКАДЕМИИ НАУК РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН**

На правах рукописи

Самандаров Насрулло Юсупович

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
РЯДА ПРОИЗВОДНЫХ ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ**

Специальность 02.00.03 - органическая химия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель: доктор
химических наук, профессор
Кадыров Абдурахмон Хафизович

Научный консультант: академик АН РТ,
доктор медицинских наук, профессор.
Хайдаров Карим Хайдарович

Д у ш а н б е - 2016

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР. ХОЛАНОВЫЕ КИСЛОТЫ И СИНТЕЗЫ НА ИХ ОСНОВЕ.....	10
1.1. Холановые кислоты в реакциях различного характера	10
1.2. Газохроматографическое опеределение содержания холановых кислот в биологических объектах	17
1.3. Биологическая активность и основные области применения важнейших производных холановых кислот	21
ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	25
2.1. Техника эксперимента, растворители, реактивы	25
2.2. Выделение 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты.....	27
2.3. Выделение 3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты.....	28
2.4. Выделение 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты.....	28
2.5. Синтез 3 α -гидрокси-5 β -холановой кислоты.....	28
2.6. Синтез 3 α ,7 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты	29
2.7. Синтез 3 α ,7 α ,12 α -трикетто-5 β -холановой кислоты.....	29
2.8. Синтез метилового эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты.....	30
2.9. Синтез пропилового эфира 3 α , 7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты.....	30
2.10. Синтез метилового эфира 3 α , 7 β - диацетокси-5 β -холановой кислоты.....	31
2.10.1. Синтез натериевой соли 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты.....	31
2. 10.2 Синтез моноглицидного эфира 3 α ,7 α ,12 α – тригидрокси-5 β -холановой кислоты.....	32

2. 10.3. Синтез этилового эфира метилоксиаминопропиловый эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты.....	32
2.10.4. Синтез метилового эфира 3 α ,7 α -тозилокси эфира -12-кето-5 β - холановой кислоты.....	33
2.10.5. Синтез пропан-1,2-дионового эфира 3 α ,7 β -дигидроокси-5 β - холановой кислоты.....	33
2.10.6. Газохроматографический анализ холановых кислот сыворотки крови.....	34
2.10.7. Газохроматографические методы определения высших жирных кислот в сыворотке крови.....	36

**ГЛАВА III. СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ
АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ РЯДА
ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ..... 37**

3.1. Получение некоторых сложных эфиров 3 α ,7 β -дигидр-окси-5 β - холановой кислоты.....	39
3.2. Синтез ацилпроизводных сложных эфиров 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β - холановой кислоты.....	45
3.3. Некоторые реакции глицидного эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидроси -5 β - холановой кислоты.....	50
3.4. Синтез тозилоксиэфиров некоторых производных холановых кислот....	54
3.5. Получение пропан-1,2-диоловых эфиров холановых кислот.....	59
3. 6. Изучение строения некоторых производных 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β - холановой кислоты.....	65

**ГЛАВА IV. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ РЯДА ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ 70**

4.1. Изучение холелитолитических, гипохолестеринемических и желчогенных свойств пропан-1,2-дионового эфира 3 α ,7 β -дигидрокси- 5 β -холановой кислоты	70
--	----

4.2. Противомикробная активность 12 α -тозилоксиэфира 3 α ,7 α - диацетокси-5 β -метилхолановой кислоты	78
4.3. Газохроматографическая оценка сывороточных холановых и высших жирных кислот у больных жировой болезнью печени.....	80
ВЫВОДЫ	90
Список сокращений	92
ЛИТЕРАТУРА	93

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Химия стероидных соединений является одной из перспективных и интенсивно развивающихся областей современной органической химии, что связано со своеобразием их биологической активности и большой практической ценностью. Использование природных соединений будет связано в значительной степени с последующими достижениями химии стероидных соединений.

В настоящее время подробно изучаются химические свойства и биологическая активность холановых кислот на основе широкого круга доступных $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты.

Среди синтезированных стероидов (различных производных холановых кислот) выявлены новые литолитические, гепатопротективные, противовоспалительные, противовирусные, антимикробные, поликатион-ные амфифилы, а также другие практически ценные материалы [1,2,3,4,5,6,7,8,9,10].

Особенность биологического действия производных холановых кислот связано с наличием различных функциональных групп в их молекулах, которые дают возможность провести целенаправленные модификационные синтезы с целью получения веществ с полезными свойствами. Поиск в литературе свидетельствует о том, что сведения в этом направлении незначительны.

Можно сказать, что из многих возможностей модификации структуры холановых кислот, основные направлены на проведение различных реакций, протекающих по гидроксильной, карбоксильной и кетонным группам. С учетом вышесказанного, разработка и использование приемлемых методов синтеза сложных эфиров, ацилпроизводных, пропан-1,2-диолевых эфиров, тозилоксиэфиров и аминзамещенных глицид-производных холановых кислот, и изменение их строения с целью синтеза новых биологически активных веществ, которые считаются одним из важных

вопросов, как в плане увеличения арсенала органических веществ, так и для фармацевтической химии, считается приоритетным направлением.

Газохроматографический анализ холановых кислот в биологических жидкостях играет решающую роль в терапевтической задаче, так как эти результаты можно использовать для дифференциации различной патологии печени и желчного пузыря. Целесообразность синтеза различных производных холановых кислот объясняется также их широкими синтетическими возможностями, доступностью и высокой реакционной способностью.

Цель работы заключается в разработке путей синтеза сложных эфиров, ацилпроизводных, алкилоксиаминопропиловых эфиров, тозилоксиэфиров и пропан-1,2-диоловых эфиров холановых кислот, установлении строения синтезированных продуктов и изучении их биологической активности, а также определении холановых и высших кислот в сыворотке крови больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом методом ГЖХ.

Работа включает следующие конкретные задачи:

- изучение влияния природы алкильных групп в молекуле $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты на выход сложных эфиров соответствующего строения;
- рассмотрение поведения различных сложных эфиров $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты в реакциях ацилирования;
- разработка методов синтеза алкокси-, оксиаминокислотных и дипептидных эфиров $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты;
- исследование поведения сложных эфиров холановых кислот в реакциях тозилирования;
- изучение реакции образования пропан-1,2-диоловых эфиров- 5β -холановых кислот, исходя из соответствующих натриевых солей;

\]-использование результатов газохроматографического исследования по содержанию холановых и жирных кислот для диагностики патологии печени и желчного пузыря;

- поиск путей практического применения полученных результатов.

Научная новизна работы: - разработаны оптимальные условия получения различных сложных эфиров $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты и установлено, что выход сложных эфиров падает с использованием в реакции этирификации высших спиртов;

- изучено поведение гидроксильных групп углерода C- 3α и C- 7β в молекулах сложных эфиров $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты в реакциях ацилирования, а также определены сравнительная реакционная способность ОН-групп в этих положениях и показано, что выход продуктов ацилирования повышается при использовании метилового и этилового эфиров соответствующей кислоты;

- найдены наиболее приемлемые условия взаимодействия глицидного эфира $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты со сложными эфирами различных аминокислот и дипептидов, получен ряд метокси, этокси оксиаминокислотных и дипептидных эфиров $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты;

- разработаны способы направленного синтеза тозилоксиэфиров и пропандиоловых эфиров различных производных холановых кислот;

- впервые установлено содержание холановых и высших жирных кислот в сыворотке крови больных стеатозом печени на различных стадиях, а также стеатогепатитом и выявлено их диагностическое значение.

Практическая значимость работы: синтезированные сложные эфиры $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты можно использовать как исходные соединения для синтеза различных гепатопротекторов, катионных амфифилов, а также в качестве эталонных образцов с целью определения концентрации холановых кислот в биологических жидкостях методом ГЖХ;

- газохроматографические оценки содержания холановых и высших жирных кислот можно использовать в диагностике, а также для эффективного лечения различных заболеваний печени и желчевыделительной системы;

- синтезированные 12 α -тозилоксиэфир-3 α ,7 α -диацетоксиметил-5 β -холановая кислота проявляет низкую токсичность и выраженную антимикробную активности.

-полученный пропан-1,2-диоловый эфир 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты проявляет холелитическое, гипохолестеринемическое, литолитическое и выраженное желчогенное свойство при холелитиазе.

На защиту выносятся: результаты систематических исследований о порядке проведения различных реакций на основе использования–COOH, OH и глицидных групп некоторых холановых кислот, данные по получению сложных эфиров метокси, этоксиоксиаминопропиловых эфиров, ацилпроизводных, тозилокси эфиров и пропан-1,2-диоловых эфиров;

-результаты изучения безвредности тозилоксиэфиров и пропан-1,2-диоловых эфиров холановых кислот и их противомикробная, холелитическая, литолитическая и гипохолестеринемическая активность;

-проведен газохроматографический анализ сывороточных холановых и высших жирных кислот здоровых лиц и больных стеатозом печени на различных стадиях, а также стеатогепатитом.

Личный вклад автора в работу, состоит в поиске, анализе и обобщении научной информации по синтезу новых производных холановых кислот. Соискатель самостоятельно выполнил описанные в диссертации химические и газохроматографические эксперименты, выделил и очистил конечные соединения, установил строение полученных веществ с помощью физико-химических методов анализа, обработал и интерпретировал полученные результаты, осуществил апробацию работы на конференциях и выполнил работу по подготовке публикаций.

Апробация работы. Основные результаты диссертации докладывались и обсуждались на Международной конференции «Химия производных глицерина: синтез, свойства и аспекты их применения», посвященной международному году химии и памяти д.х.н., профессора, член-корреспондента АН РТ Кимсанова Б.Х. (Душанбе, 2012); Республиканской научно-теоретической конференции

профессорско преподавательского состава, сотрудников и студентов ТНУ, посвященной 20-летию XVI сессии Верховного совета Республики Таджикистан (Душанбе, 2012); Республиканской конференции «Координационная химия и ее значение в развитии народного хозяйства» с международным участием, посвященной памяти д.х.н., профессора Юсуфова З. Н. (Душанбе, 2011); Республиканской конференции «Перспективы синтеза в области химии и технологии гетеросоединений», посвященной 20-летию кафедры высокомолекулярных соединений и химической технологии и научно-исследовательской лаборатории «Химия глицерина» (Душанбе, 2012); 61 годичной научно практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино «Вклад медицинских наук в практическое здравоохранение» с международным участием (Душанбе, 2013), 62 годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино «Медицинская наука и образование» с международным участием (Душанбе, 2014). Региональной конференции на тему: «Состояние науки в республике» (Душанбе-2015); Республиканской конференции: «Состояний химической науки и её преподавание в образовательных учреждениях Республики Таджикистан» (Душанбе-2015).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, включенных в список ВАК РФ и получено 6 патентов Республики Таджикистан.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы, включающего 164 источника, изложена на 126 страницах компьютерного набора, содержит 14 рисунков, 12 таблиц.

Личный вклад автора в работу состоит в поиске, анализе и обобщении научной информации по синтезу новых производных холановых кислот. Соискатель самостоятельно выполнил описанные в диссертации химические и газохроматографические эксперименты, выделил и очистил конечные соединения, установил строение полученных веществ с помощью физико-химических методов анализа, обработал и интерпретировал полученные результаты, осуществил апробацию работ на конференциях и выполнил работу по подготовке публикаций.

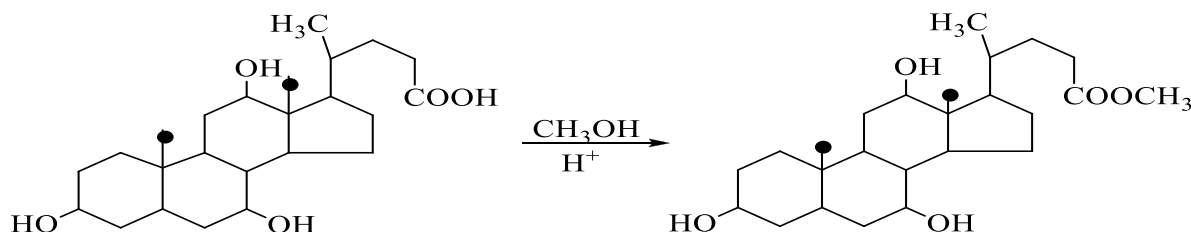
ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР ХОЛАНОВЫЕ КИСЛОТЫ И СИНТЕЗЫ НА ИХ ОСНОВЕ

Стероиды представляют собой одну из наиболее интересных и широко распространенных групп природных соединений и играют важную роль в жизнедеятельности почти всех живых организмов. Стероиды имеют большое значение для всех отраслей химии, биологии, а также для медицины и сельского хозяйства.

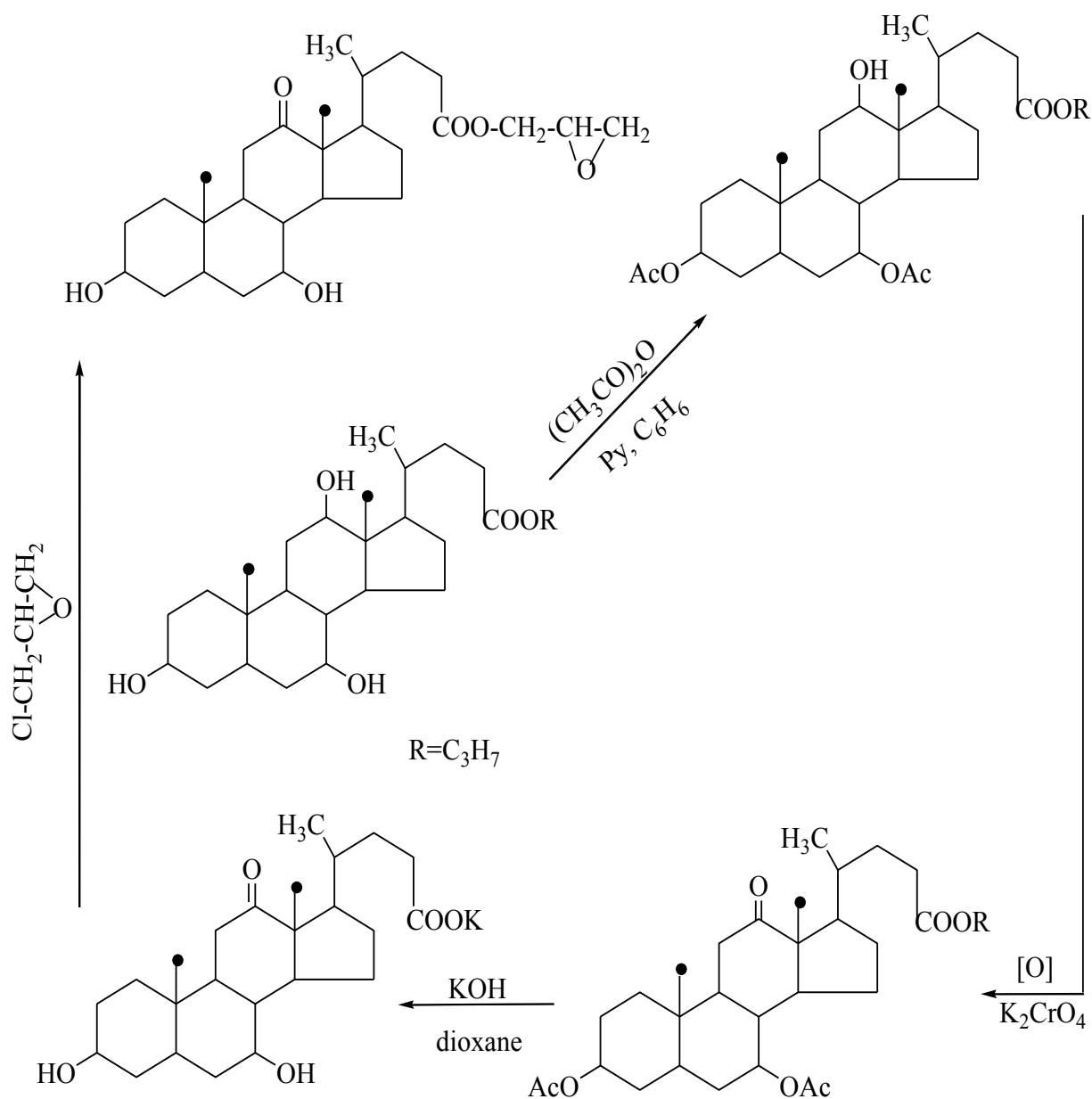
Особое внимание уделяется стероидам, в частности, производным холановых кислот, так как они являются составными компонентами лекарственных препаратов, проявляющих литолитические, антимикробные, противовоспалительные и гепатопротекторные свойства, они используются в полусинтезе некоторых гормонов[11,12,13,14,15]. О получении новых функционал замещенных в литературе встречается мало работ [16,17,18,19,20]. Проанализируем работы по синтезу ряда производных холановых кислот их выделении, а также определении их в биологических объектах.

1.1. Холановые кислоты в реакциях различного характера

Существует несколько подходов к составленным программам целенаправленного синтеза новых производных холановых кислот, а также получению на их основе лекарственных препаратов. Анализ других источников[21], показывает, что сложные эфиры холановых кислот можно получить при кипячении с избытком спиртов при участии минеральных кислот в качестве катализатора:

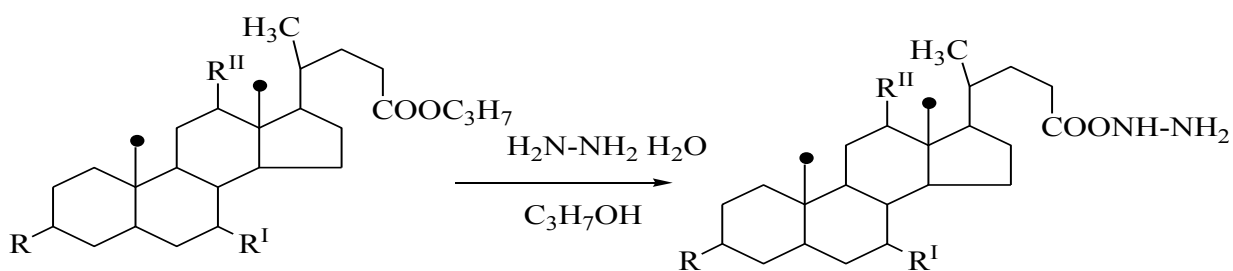


Авторами изучены химические свойства синтезированных сложных эфиров в реакциях различного характера [22], а также было проведено получение ряда других производных холановых кислот [23,24, 25].



Другие исследователи рассматривали поведение ряда сложных эфиров холановых кислот в реакциях гидрозидирования [26].

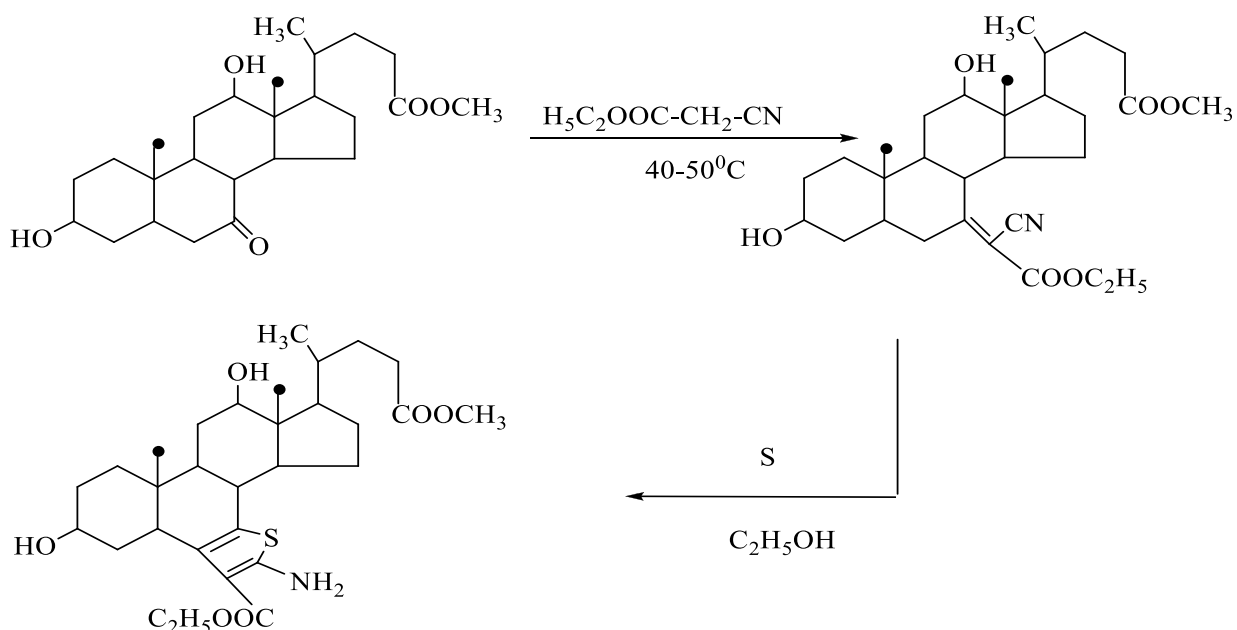
Поиск оптимальных условий таких реакций показал, что сложные эфиры холановых кислот легко подвергаются гидрозидированию в среде пропанола при температуре $90-98^{\circ}C$, с использованием гидразингидрата в качестве агента:



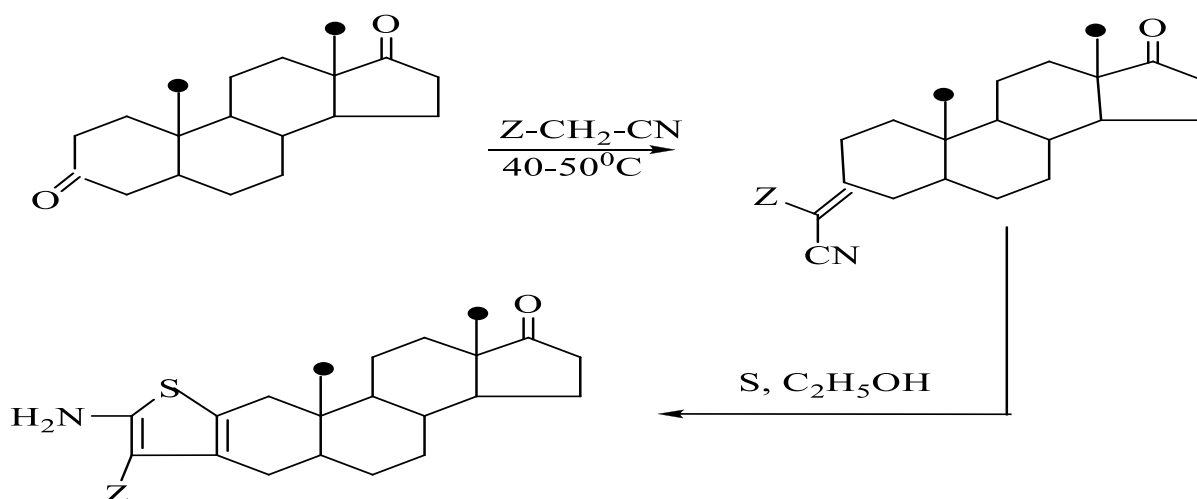
где $R=R^I=R^{II}=H, OH, O$.

Ряд авторов [27,28,29,30,31,32] провели исследования в направлении синтеза производных холановых кислот, имеющих гетероциклические фрагменты, а также проявляющие биологическую активность.

Они осуществили синтез гетероциклических соединений, включающих осататки природных холановых кислот. Подобный процесс проводили по условию реакции Гевальда:

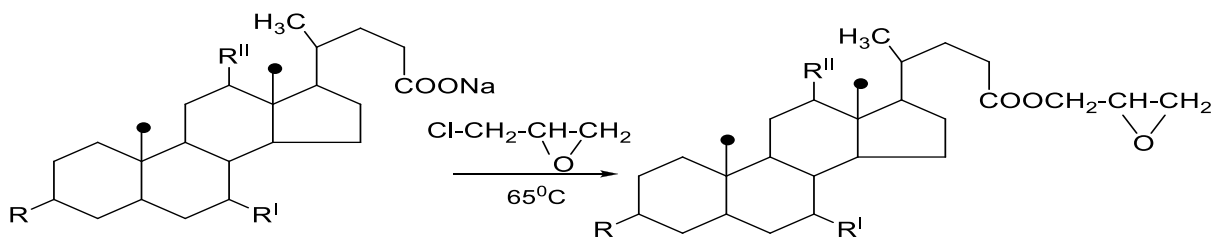


Позднее Шаранин и Гренев [33, 34] воспроизвели эту реакцию и применили ее к некоторым кетостероидам и установили, что при взаимодействии эквимольных количеств кетостероида цианоуксусного эфира и небольшого количества порошкообразной серы в этиловом спирте в присутствии морфолина образуется 2¹-Аминоандрост-2-ено[2,3в]-тиофен-2¹-карбоновой кислоты, температура реакции 50 °С, время 1 час:



где, Z=CN, -COOC₂H₅.

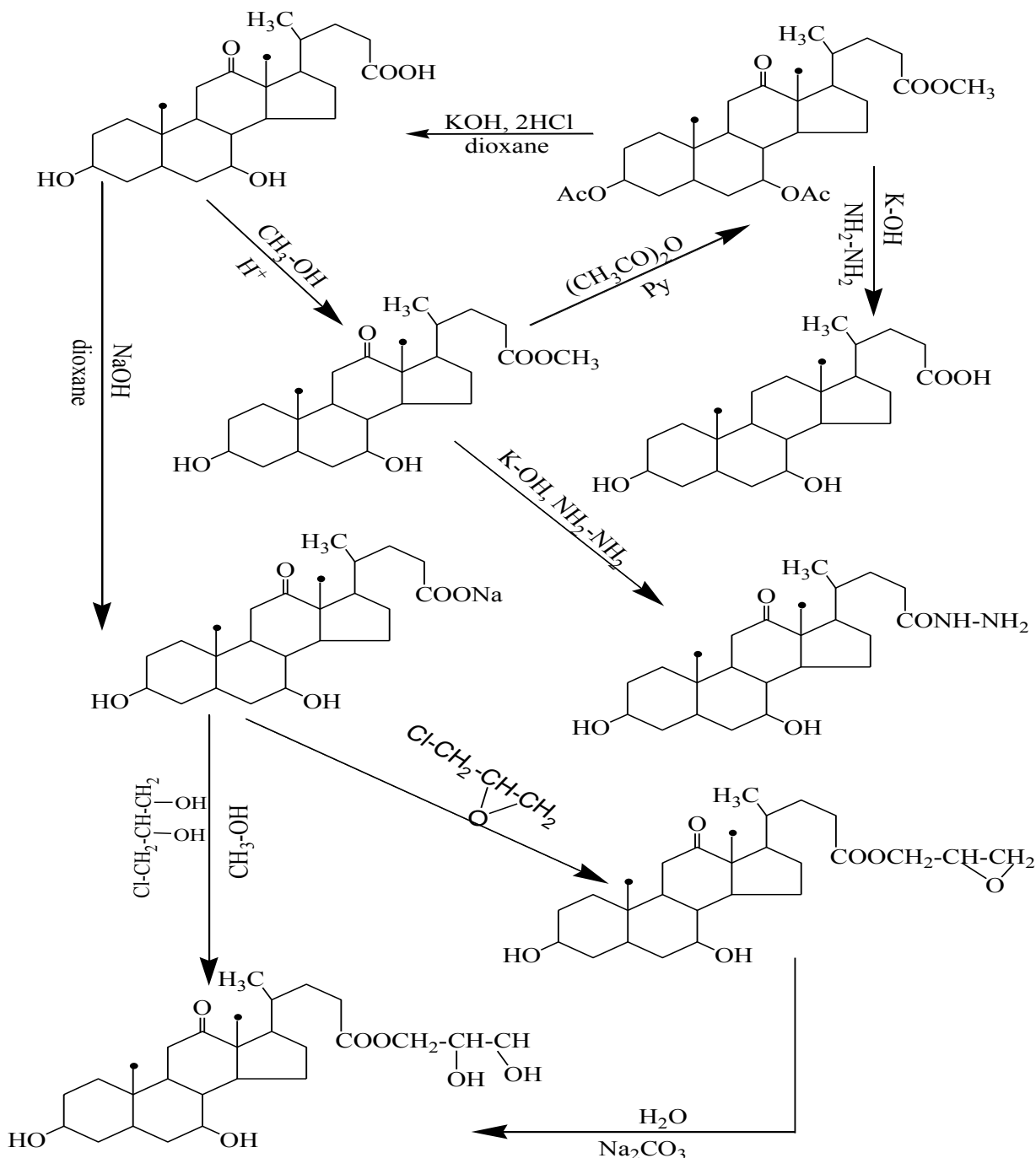
Обширные исследования по синтезу новых производных холановых кислот, обладающих биологической активностью, осуществили ряд исследователей основываясь на реакции получения глицидных эфиров:



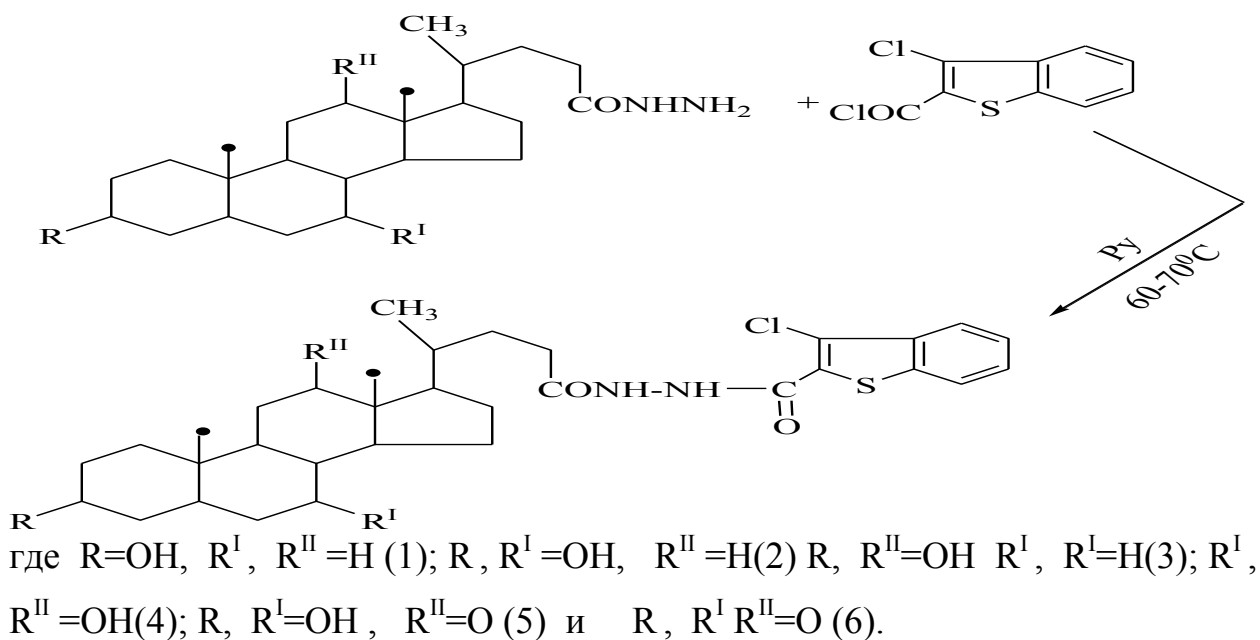
где $R=R^I=R^{II}=\text{OH};$
 $R=\text{OH}; R^I=R^{II}=\text{H};$

$R=R^I=\text{OH}; R^{II}=\text{H};$
 $R=R^{II}=\text{OH}; R^I=\text{H}.$

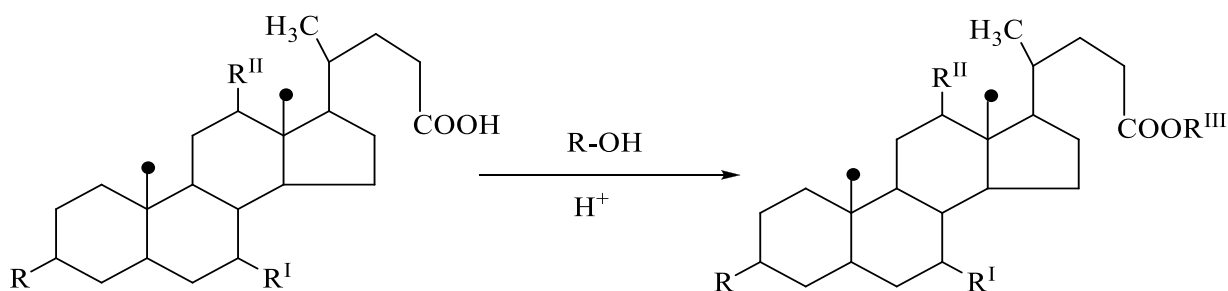
С этой целью были разработаны оптимальные условия взаимодействия реагирующих веществ, так как возможно было бы повысить выход моноглицидных эфиров холановых кислот, если реакцию проводить при 60-65⁰С в запаянной ампуле, в которую помещают натриевую соль холановых кислот и 6-кратное (по объему) количество метанола и этанола в соотношении 1:1. Реакция протекает за 6 часов[35, 36]: Особое значение имеют исследования, посвященные синтезу и изучению свойств некоторых производных холановых кислот, таких как 3 α ,7 α ,-дигидрокси-5 β -12-кетохолановой кислоты. Эти соединения могут быть использованы как полупродукты для синтеза новых лекарственных препаратов, применяемых



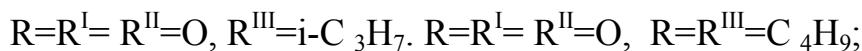
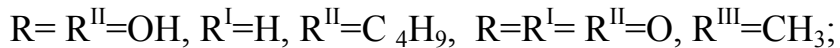
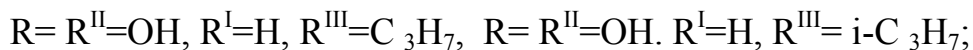
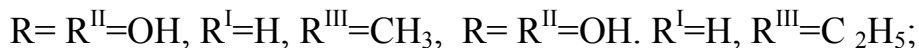
Другие исследователи, продолжая поиск по изысканию новых биологически активных веществ в ряде функциональных производных холановых кислот, провели исследования по разработке препаративных методов синтеза новых стероидов, имеющих фрагмент гетероциклических соединений [38]. В этом плане представлялись интересными исследования поведения гидразидов холановых кислот в реакциях нуклеофильного замещения с хлорангидридом-3-хлорбензо/в/тиофен-2-карбоновой кислоты:



Рядом исследователей был осуществлен синтез сложных эфиров $3\alpha, 12\alpha$ -дигидрокси- и $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ -трикето- 5β -холановой кислоты с целью обеспечения, защиты карбоксильной группы, необходимой для проведения последующих превращений [39].



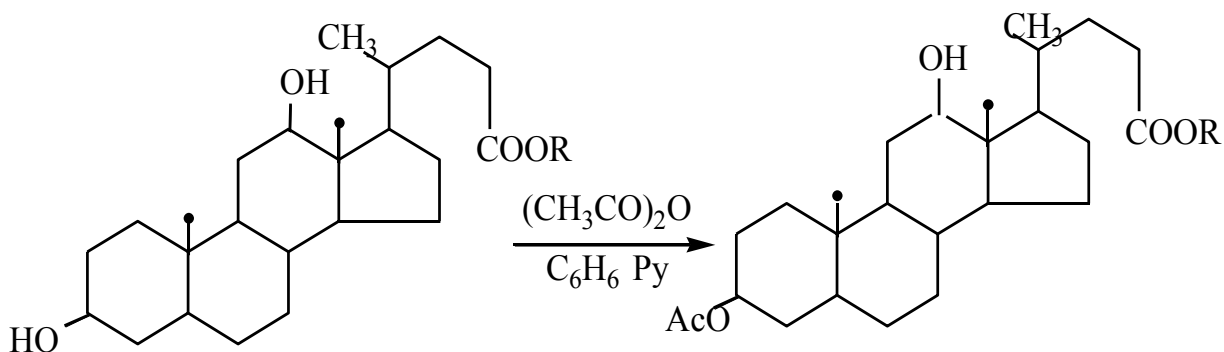
где R, R^I, R^{II}, R^{III} – соответственно:



Выход сложных эфиров $3\alpha, 12\alpha$ -дигидрокси- и $3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ -трикетохолановой кислоты колеблется в пределах 84-96 %.

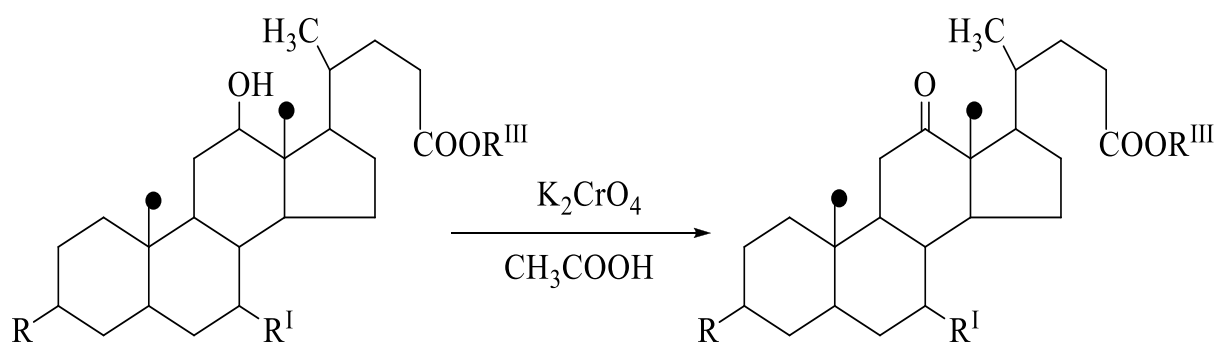
Исследование реакции ацилирования в сложных эфирах $3\alpha, 12\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты авторы [40], проводили с позиции

увеличения арсенала новых производных холановых кислот, а также защиты гидроксильной группы в положении С-3 и проведения различных модификационных синтезов по гидроксилу в положении С-12 части стероида:



где R= -CH₃, -C₂ H₅, -C₃ H₇, -C₄ H₉.

Ряд работ, посвященных изучению реакции окисления, протекающей по гидроксильной группе, были направлены на выяснение реакционной способности гидроксильной группы в положении С-12 холановых кислот [41]. Авторы подтверждают, что рассчитанное количество раствора хромата калия в уксусной кислоте при 25 °С окисляет гидроксильную группу в положении С-12 в молекулах стероидов в течение 13-14 часов:

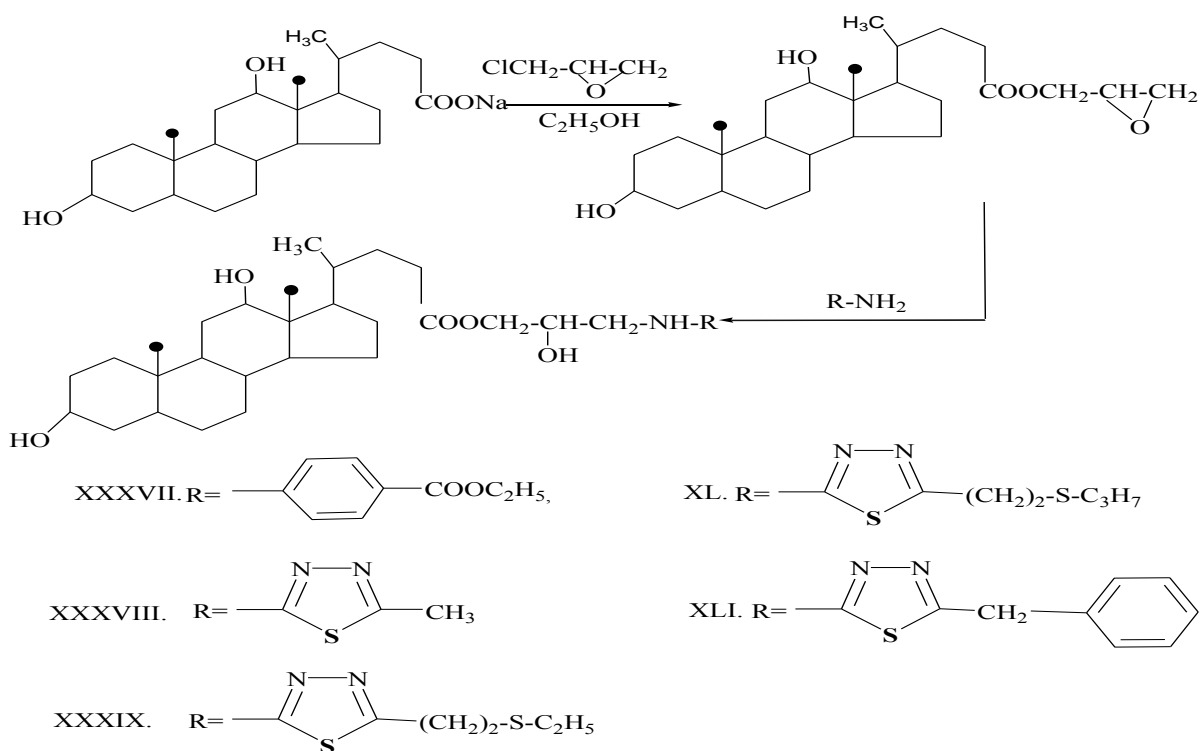


где R=OAc, R^I=H, R^{II}=O, R^{II}=CH₃, R=OAc, R^I=H, R^{II}=O, R^{II}=C₂H₅;

R=OAc, R^I=H, R^{II}=O, R^{III}=C₃H₇, R=OAc, R^I=H, R^{II}=O;

R^{III}=i-C₃H₇, R=OAc, R^I=H, R^{II}=O, R^{III}=C₄H₉, R=R^I=OAc;

R^{II}=O, R^{III}=CH₃, R=R^I=OAc, R^{II}=O, R^{III}=C₃H₇;



Есть сведения о синтезе холелитических препаратов в ряду с функциональными производными 3 α , 12 α , -дигидрокси-5 β -холановой кислоты. Проведены исследования по разработке препаративных методов синтеза оксиаминопропиловых эфиров 3 α , 12 α , -дигидрокси-5 β -холановой кислоты, исходя из глицидного эфира соответствующей кислоты [42].

Приведенными сведениями исчерпываются имеющиеся в литературе данные по реакциям различного характера и синтезу, свойствам холановых кислот. Проведенные целенаправленные реакции, протекающие по карбоксильным, гидроксильным и кетонным группам, изучены весьма ограничено.

1.2. Газохроматографическое определение содержания холановых кислот в биологических объектах

Количественный анализ стероидов в разнообразных объектах чрезвычайно сложный, но практически достаточно важная область, имеющая свои особенности. Большая часть холановых кислот в организме присутствуют в виде водорастворимых натриевых солей, гликохолатов или

таурохолатов, ацилированных $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты. В желчи содержится большое количество холановых кислот (порядка 1-2 %), в крови их содержание примерно на четыре порядка ниже. Газохроматографическая оценка холановых кислот в биологических жидкостях считается основной проблемой терапевтического анализа, так как эти результаты можно использовать для диагностики многих заболеваний гепатобилиарной системы, а также их эффективного лечения.

Из двух функциональных групп холановых кислот, по крайней мере по карбоксильной группе, можно получить достаточно высоколетучее производное, пригодное для газохроматографического анализа. Для этой цели применяют почти исключительно метиловые эфиры. В качестве этерифицирующего реагента чаще всего используют только что, полученный, свежеперегнанный диазометан [43, 44].

Некоторые исследователи [45,46,47] использовали этерификацию метанолом, катализируемую соляной кислотой. Такой метод, однако, позволяет получить чистые метиловые эфиры, тогда как при дериватизации с помощью диазометана образуются смесь продуктов. [48, 49].

С целью проведения биологических исследований по изучению литолитических свойств некоторых производных холановых кислот, необходимо было уточнить содержание холановых кислот в желчи и сыворотке крови методом ГЖХ, т.к. их анализ раскрывает более подходящее мнение о степени заболеваемости печени и желчевыводящей системы [50,51,52,53,54,55].

Известны [56,57,58] трудности количественного определения основных холановых кислот в биологической жидкости из-за присутствия в ее составе гидроксильных и кетонных групп. Между тем, самым приемлемым методом определения холановых кислот считается метод газовой хроматографии.

В ряде работ [59,60,61], кроме ГЖХ, применяли также метод тонкослойной хроматографии. Прежде всего, авторы добились разделения

холановых кислот от фосфолипидов и подвергли их этирификации. В желчном пузыре у здоровых лиц методом ГЖХ [62,63,64] было определено количество 3 α ,7 α -дигидрокси-, 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановых кислот.

Анализ результатов, полученных при исследовании состава холановых кислот в желчи у больных калькулезным холециститом показывает уменьшение суммарного содержания холановых кислот при одновременном увеличении 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты на 3-4% по сравнению с контрольной группой и 3 α ,7 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты. Соотношение их составляет 0,48 : 0,69 : 1 : 0,39 (ДХК: ХДХК: ХК: ДегХК) [65,66,67,68].

Другими авторами [69,70,71] были разработаны методики определения содержания холановых кислот, их деконъюгированных форм в сыворотке крови методом ГЖХ. Они считали, что полученные результаты этого метода можно использовать в клинических условиях. Авторы вышеперчисленных в качестве внутреннего стандарта использовали 3 α ,7 α -дигидрокси-12-кето-5 β -холановую кислоту. В качестве исходного материала исследованна желчь порции «В» у 15 здоровых лиц.

В результате газохроматографического анализа авторами работа [72] в составе желчи 15 здоровых лиц были найдены содержание 3 α -гидрокси-; 3 α ,12 α дигидрокси-; 3 α ,7 α 12 α тригидрокси-; 3 α ,7 α ,12 α трикето-5 β -холановой кислоты, которое в среднем составляет 0,50; 1,25; 3, 80; 2,6; 0,22 мг/мл. Другими авторами разработаны способы анализа концентрации холестерина в составе крови здоровых лиц и больных желчнокаменной болезнью методом ГЖХ [73]. Определена зависимость концентрации холестерина у больных на различных этапах литогенеза, при хроническом активном гепатите, хроническом персистирующем гепатите и циррозе печени.

Известны и другие работы [74], в которых газохроматографическим способом определялось содержание холановых кислот в сыворотке крови. Вышеперчисленными авторами были изучены уровни метаболизации

холановых кислот и холестерина в плазме крови больных циррозом печени, которые отражают функциональное состояние гепатоцитов и усиливается при клеточно-печеночной недостаточности. Определено, что в большом количестве в случае цирроза печени уменьшается содержание $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты по сравнению с другими холановыми кислотами [75].

До настоящего время недостаточно изученными остаются вопросы газохроматографического исследования желчнокислотного обмена больных метаболическим синдромом под влиянием различных препаратов. В задачу ряда авторов входило изучение влияния $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты и сиафора на характер изменения содержания холановых кислот при метаболическом синдроме [76].

Газохроматографическое исследование содержания холановых кислот в сыворотке крови больных метаболическим синдромом на фоне терапии $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты плюс сиафор, обнаружено уменьшение концентрации всех холановых кислот в сторону нормального значения, которое свидетельствует о восстановлении желчнокислотного метаболизма. Есть сведения об использовании газохроматографических результатов для оценки концентрации холановых кислот в сыворотке крови с целью диагностики и эффективного лечения жировой болезни печени [78].

Преимущество данного подхода к диагностике жировой болезни печени заключается в том, что сдвиги в содержании холановых кислот в сыворотке крови у больных жировой болезнью печени наступают раньше, чем другие показатели изменения функционального показатели печени, в связи, с чем они являются более чувствительными к тестам. В литературных источниках отсутствует информация о характере изменения содержания холановых кислот больных стеатозом на различных стадиях и стеатогепатитом. Существует только одна работа о систематическом определении содержания холановых кислот в сыворотке крови здоровых лиц и больных со стеатозом печени и стеатогепатитом, где приведена

сравнительная оценка полученных результатов с целью повышения эффективности лечения [77].

1.3. Биологическая активность и основные области применения важнейших производных холановых кислот

Холановые кислоты были открыты Штрекеером в 1848 г. По своей химической структуре они принадлежат группе стероидов и являются производными холановой кислоты. Первичные холановые кислоты образуются из холестерина в гепатоцитах. Известно, что при патологии нарушается метаболический процесс холестерина, заодно подвергается трансформации синтез холановых кислот из холестерина в печени [79].

Есть сведения о том, что $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановые кислоты защищают клетки печени путем укрепления мембран ее клеток и снижения насыщенных жирных кислот, при этом ускоряется процесс разрушения клеток печени [80].

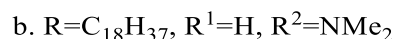
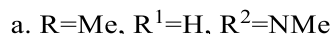
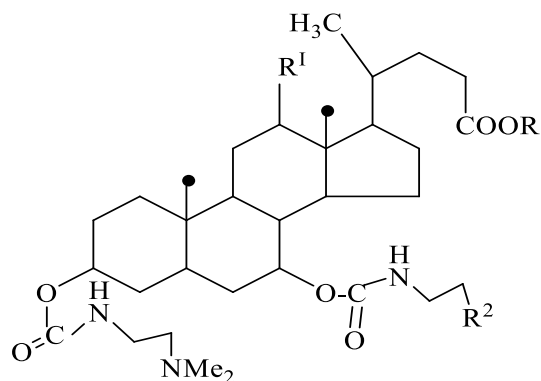
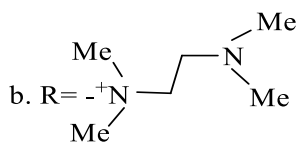
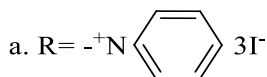
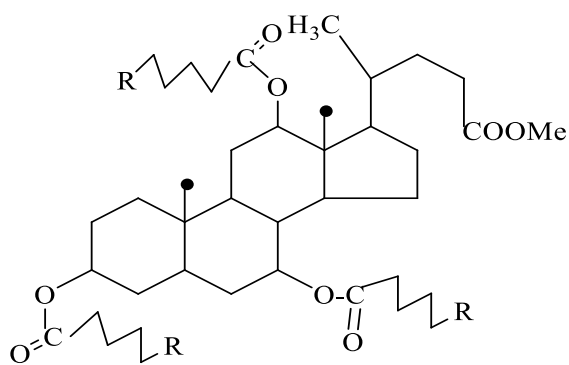
Вышеназванные кислоты используют для литозирования холестериновых камней. Если в желчных каналах и желчном пузыре начнется процесс образования холестериновых камней, то при использовании $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановых кислот они литолитизируются за счет того, что $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановые кислоты подавляют образование холестерина в печени всасыванием его из пищи в кишечнике. При этом, в крови и желчи, в том числе, растворяется холестерол, входящий в состав холестериновых камней. Желчегонное действие $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты завершает процесс введения холестерина из организма, уменьшая, таким образом, склонность желчи к образованию камней [81].

Другие исследователи утверждают, что $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановые кислоты уменьшают аутоиммунные реакции против клеток печени и желчных путей и подавляют аутоиммунные заболевания [82]. Уменьшают экспрессию антигенов чистой вместимости: HLA-2 на холаногоцитах. Уменьшая образование сенсбилизированных к печеночной ткани цитотоксичных Т-лимфоцитов, снижают «атаку» иммунокомпетентных Lg

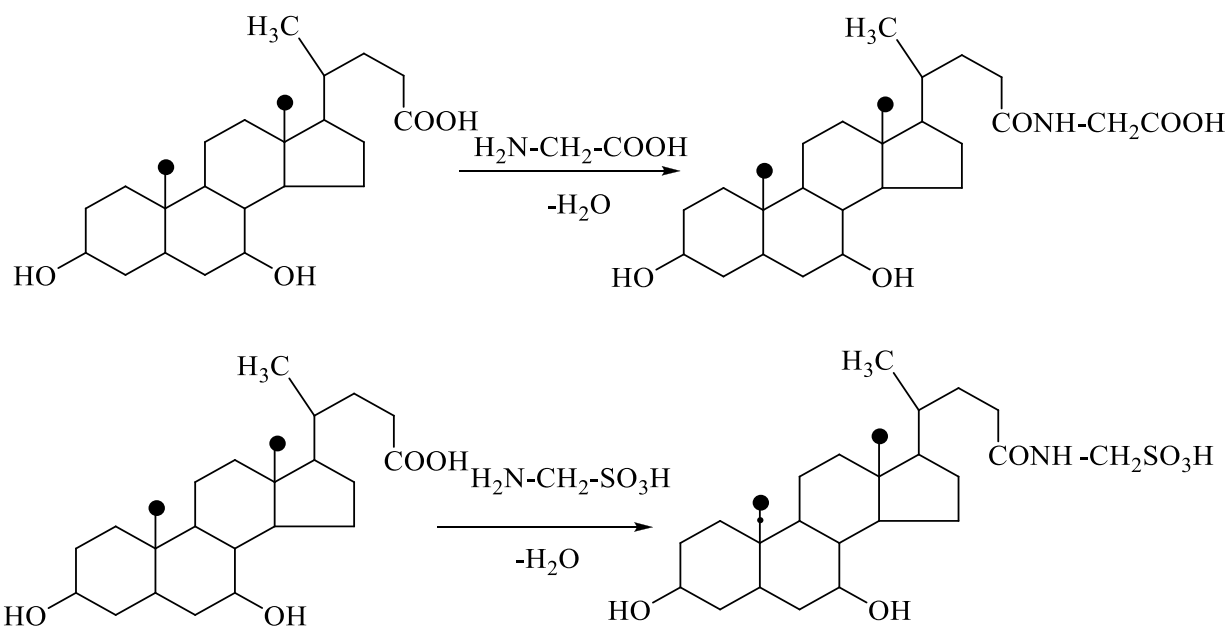
(d, первую очередь, LgM) клеток печени, снижают продукцию провоспалительных цитокинов.

В последние годы появились такие гипохолестеринимические и желчегонные средства, которые влияют на литогенность желчи при желчекаменной болезни а также проявляют антимикробную активности [83,84,157]. Разработка наиболее приемлемых способов получения производных стероидов, типа холановых кислот, а также высших жирных кислот на основе использования их $-COOH$, $>C=O$, гидроксильных и эфирных групп открывает новое направление в химии и фармако-биохимической области, которые позволяют направленно создавать новые препараты для генной терапии, а также гематологии. Ряд исследователей изучали реакции гидролиза эпоксидной группы в молекуле глицидного эфира $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты. Установлено, что при обработке 20% раствором карбоната натрия последнее соединение при температуре 30-40 °C превращается в пропан-1,2-диоловый эфир $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты. Авторами, исходя из 45 % пропан-1,2-дионового эфира пеларгоновой кислоты, 45 % пропан -1,2-диоловый эфира октановой кислоты и 10 % пропан -1,2-дионового эфира $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты получен комплексный препарат, который назвали «Триоин»[85,86,87,88,89,90]. После чего эти смеси использовали с целью изучения его способности растворять холестериновые камни. Раствор «Триоин»-а (in vivo) и (in vitro) лучше проявляет литолитическую активность по сравнению с известным монооктаноином.

В ряде работ получены производные $3\alpha,12\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты, в которых полярные головки представлены N- (N^i, N^i, N^i -триметиламмонийэтил) карбаминовой, E-аминокапроновой и E-(N- пиридино) капроновой кислотой, присоединенные к 3α -, 12α -гидрок-силами стероида со сложноэфирными связями. Встраивание полученных соединений в липосомы позволяет использовать их для доставки генетического материала в клетки [91,92,93,94]:



Например, катионные амфилилы на основе $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты используются для трансфекции эукариотических клеток, при этом присутствие аминогруппы на стероидной основе способствует проникновению нуклеиновых кислот в клетку [95, 96]. Другие авторы [97] подтверждают, что насыщение желчи $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислотой сразу уменьшает ее литогенность. Известно, что терапия $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислотой, способствует процессу конъюгации других холановых кислот и одновременно увеличивает их концентрацию. В печени холановые кислоты полностью конъюгируются с глицином или таурином и образуют глико- и таурохолаты, участвуют в энтерогепатической циркуляции. Надо отметить, что в этом случае процесс энтерогепатической циркуляции всех конъюгантов усиливается [98]. Установлено, что $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановая кислота при длительном лечении способна подавлять активность ГМГ-КоА-редуктазы, что приводит к уменьшению синтеза холестерина. К сожалению терапия $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислотой не приводит к существенной коррекции триглицеридов и жировой болезни печени, вызванных ожирением и инсулино-резистентностью [99,100,101].



Терапия урсодезоксихолевой кислотой, кроме холевой и дезоксихолевой кислот, несколько снижает синтез эндогенной хенодесоксихолевой кислоты [102]. Многообещающие перспективы по коррекции «липидного квартета» открывает появление нового класса препаратов – конъюгантов жирных и желчных кислот. Одним из первых конъюгантов, предложенным для увеличения солюбилизации холестерина в желчи и растворения желчных камней были арахидиламидохолановые кислоты, представляющие собой новую молекулу, которая получена из холановых и высших жирных кислот. Этот созданный новый препарат в течении 2 месяцев полностью подвергает к растворению холестериновые желчные камни [103,104,105,106,107,108,109].

Обобщая литературные данные по синтезу, определению и биологической активности, а также сфер применения важнейших производных холановых кислот можно сказать, что проблема поиска новых биологически активных веществ на основе холановых кислот остаётся по-прежнему одной из важнейших задач, стоящих перед учеными, проводящими исследования в данной области.

ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Техника эксперимента, растворы, реактивы

ИК-спектры снимались на инфракрасном спектрометре ВЕГ-40 в области призм: BaCl_2 ($2000\text{-}700\text{ см}^{-1}$) и KBr ($700\text{-}400\text{ см}^{-1}$). Спектры кристаллических образцов снимались в виде таблеток по методике прессования с KBr . Концентрация -1,5/220 мг KBr . Спектры жидких веществ снимались в виде тонких слоев, получаемых путем зажатия капли жидкости между пластинками из KBr . Толщина слоя 0,015 мм (15 м).

ЯМР-спектры снимались на приборе BRUCER AM-300 с рабочей частотой 300, 400, 500 и 600 МГц.

Условия работы: растворитель-дейтерированный хлороформ с использованием эталона ГМДС при $26\text{ }^\circ\text{C}$.

а) Аналитическая тонкослойная хроматография.

Тонкослойная хроматография проведена для проверки индивидуальности чистоты синтезированных соединений и контроля прохождения химических реакций.

Условия хроматографирования при анализе холановых кислот и их сложных эфиров

Для разделения метиловых, изопропиловых, изобутиловых, пропиловых эфиров холановых кислот, использовали систему, состоящую из $\text{CHCl}_3\text{:C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 9:2. Анализ проводился на пластинках «Silufol», а в качестве проявителя использовался пары йода.

Для разделения холановых кислот использовали систему, состоящую из $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}:\text{CH}_3\text{-COOH}:\text{H}_2\text{O}$ (10: 1:1). Для разделения тозил-оксиэфиров холановых кислот использовали систему, состоящую из $\text{CHCl}_3\text{:C}_2\text{H}_5\text{OH}:(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ в соотношении (6,5:1:1).

Для анализа продуктов синтеза сложных эфиров использовали систему $\text{CHCl}_3\text{:CH}_3\text{OH}$ в соотношении (8:2).

Температуры плавления определены на микронагревательном столике Voetius.

б) Газожидкостная хроматография.

Газохроматографический анализ метиловых, пропиловых изопропил-овых, изобутиловых эфиров и 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты и некоторых её других производных проводили на хроматографе «Хром-5» (Чехия).

Колонку длиной 1,26 м с внутренним диаметром 0,3 см заполняли фазой: хроматон N-AW зернения 0,160-0,200 мм, содержащий 3 % SE-30. Температура хроматографической колонки – 250 °С, испарителя – 290 °С, детектора – 270 °С. Скорость газоносителя азота – 40 мл/мин., скорость водорода 30 мл/мин., продолжительность анализа 35 мин. Анализ проводили в режиме линейного программирования при скорости поднятия температуры 0,5 °С/мин. Полученные хроматограммы оценивали методом внутреннего стандарта [151].

Разделение метиловых эфиров основных высших жирных кислот осуществляли на газовом хроматографе марки «Хром-5» с пламенно-ионизационным детектором. Стеклообразную колонку длиной 1,26 м диаметром 0,3 см заполняли хроматоном N-AW. DMDS (0.160 - 0.200 мм) пропитанным 3% SE-30, температура детектора 260 °С, программируемая температура 146 – 250 °С с градуированием 3 °С/мин. Для идентификации метиловых эфиров жирных кислот использовали химически чистые препараты пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой, арахидоновой и других кислот. Количественную оценку хроматограммы проводили путем измерения площадей пиков.

Для проведения экспериментальных работ по синтезу исходных конечных продуктов реакции использовали следующие реагенты: HCl,

H₂SO₄ марки «х.ч.», NaOH, KOH, CH₃COOH, AlCl₃, N₂, H₂, CO₂, CaCl₂, Na₂SO₄, MgSO₄, K₂Cr₂O₄, C₅H₅N, C₆H₆, SOCl₂, POCl₃, C₆H₁₂, CH₃COCH₃.

Все органические растворители, использованные при работе (бутиловый, октиловый, изопропиловый, изобутиловый, пропиловый, этиловый метиловые спирты, CHCl_3 , C_6H_6 , пиридин, гексан, толуол, диэтиловый эфир, диоксан, петролейный эфир и др.), очишали и обезвоживали по известной в литературе методике [152].

Содержание углерода и водорода определяли сжиганием навески вещества в токе кислорода [153].

2.2. Выделение 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты-(IV).

К 4 л свежей бычьей желчи прибавляют 400 г едкого натрия, смесь кипятят в кварцевом сосуде в течение 18-20 часов, для омыления спаренных кислот. При подкислении охлажденного щелочного раствора концентрированной соляной кислотой выпадает зеленая вязкая масса, которая медленно твердеет, становится хрупкой и кристаллизуется.

Измельченную массу отделяют и промывают теплой дистиллированной водой, затем растирают в чашке с чистой водой. После чего массу держат в эксикаторе над серной кислотой в течение 6-8 дней до тех пор, пока она не станет рассыпаться в мелкий порошок. Затем, порошок смешивают с абсолютным этиловым спиртом в количестве равным по массе. Через 2 дня смесь фильтруют при помощи водоструйного насоса. Твердый порошок кипятят с 800 мл метанола, и оставляют на некоторое время до появления осадка. После чего отделяют осадок, а фильтрат оставляют для выделения 3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты. Осадок отделяют и повторно перекристаллизовывают из метанола. Затем, кристаллическое вещество отделяют, высушивают.

Выход: 50 г. Т.пл. 198-199 °С.

Найдено, %: С 70,49; Н - 9,84

Вычислено для $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5$, %: С-70,54; Н-9,79.

2.3. Выделение 3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты (II).

Выделенный метанольный маточный раствор из предыдущего опыта выпаривают до половинного объема, выпавший осадок отфильтровывают и многократно перекристаллизовывают из метанола [153]. Полученный белый кристаллический порошок высушивают над хлоридом кальция.

Выход: 15 г. (74 %) Т.пл. 177-178 °С.

Найдено, %: С-73,63; Н-10,11

Вычислено для C₂₄H₄₀O₄, %: С -73,36; Н -10, 18

2.4. Выделение 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты (VI).

В круглодонную колбу на 1 л помещали содержимое 100 капсул 25 г препарата холудексана и заливали 500 мл абсолютного этилового спирта. Смесь кипятили на водяной бане в течение 1-1,5 часов. После чего оставляли на ночь и затем фильтровали. После отделения наполнителя спирт полностью отгоняли на ротаторном испарителе. Выпавший осадок 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты один раз перекристаллизовывали из этилового спирта.

Выход: 27 г. (90 %), Т. пл. 203-204 °С.

Найдено , %: С-73,28; Н-10, 11

Вычалоно для C₂₄H₄₀ O₄ , %: С-73,36; Н-10,18.

2.5. Синтез 3 α -гидрокси-5 β -холановой кислоты-(I).

Смешивают 10 г 3 α -гидрокси-12-кетохолановой кислоты с 3,5 г гидразингидрата (85 %), прибавляют 5,6 г растворенного едкого калия в 27 мл этиленгликоля. Смесь кипятят в течение 2 часов с обратным холодильником. Затем, соединяют колбу с нисходящим холодильником и медленно отгоняют смесь гидразингидрата и воды, пока температура реакционной смеси не поднимется до 195°С. Температуру поддерживают до прекращения выделения азота.

После охлаждения реакционную смесь разбавляют равным объёмом воды и подкисляют концентрированной соляной кислотой до рН=3. После чего несколько раз экстрагируют бензолом или этилацетатом. Растворитель

промывают и сушат сульфатом натрия. После отгонки растворителя осадок перекристаллизовывают из этилового спирта.

Выход: 9,5 г (89 %). Т.пл. 184-185 °С.

Найдено, % : С-78,30; Н-10,59

Вычислено для $C_{24}H_{40}O_3$, %: С-73,46; Н-10,68

2.6. Синтез 3 α ,7 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты-(III).

В круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником, помещают 20г (0,047моль) 3 α ,7 α -диацетокси-12-кетометилхолата с 7 г гидразингидрата, прибавляют 11,2 г (0,2 моль) растворенного едкого калия в 55 мл этиленгликоля. Смесь кипятят в течение 2,5 часов с обратным холодильником. Затем, соединяют колбу с нисходящим холодильником и медленно отгоняют смесь гидразина и воды, пока температура реакционной смеси не поднимется до 195°С. Температуру поддерживают до прекращения выделения азота. После охлаждения реакционную смесь разбавляют равным объёмом воды и подкисляют концентрированной соляной кислотой до рН=3. Затем, несколько раз экстрагируют этилацетатом. Экстракт промывают водой и сушат сульфатом натрия. После удаления растворителя осадок многократно перекристаллизовывают из этилового спирта.

Выход: 12 г (68 %). Т. пл. 140-141 °С.

Найдено, %: С -73,50; Н-10,11.

Вычислено для $C_{24}H_{40}O_4$, %: С-73,36; Н -10,22

2.7. Синтез 3 α ,7 α ,12 α -трикетто-5 β -холановой кислоты-(V).

5г (0,012 моль) 3 α ,7 α ,12 α -тригидроксихолановой кислоты растворяют в 200 мл уксусной кислоты, добавляют 28,5г (0,14 моля) хромата калия в 90 мл дистиллированной воды и оставляют при 25°С на 24 часа. После чего реакционную массу разбавляют до помутнения водой, образовавшийся осадок отфильтруют и промывают водой до нейтральной реакции (рН=7). Полученный осадок перекристаллизовывают из этилового спирта.

Выход: 4,1 г (98 %) Т.пл. 237 – 238 °С.

Найдено, %: С - 71,60; Н - 8,31

Вычислено для $C_{24}H_{34}O_5$, %: С-71,64; Н-8,45

2.8. Синтез метилового эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты (10).

В круглодонную колбу помещают 50 г (0,12 моля) 3 α ,7 α ,12 α -тригидроксихолановой кислоты и растворяют в 300 мл метанола. Затем, добавляют 4 мл концентрированной соляной кислоты, смесь кипятят с обратным холодильником, снабженным хлоркальциевой трубкой в течение 20 минут. Реакционную колбу оставляют на ночь, затем фильтруют и сушат при 100 °С в термостате. Продукт перекристаллизовывают из метанола.

Выход: 47 г (93%). Т. пл. 156-157 °С.

Найдено, %: С -71,00; Н -9,88,

Вычислено для $C_{24}H_{42}O_5$, %: С-71,10; Н-9,94.

Аналогичным образом были синтезированы метиловые эфиры других холановых кислот (6, 7, 8, 9, 10) .

2.9. Синтез метилового эфира 3 α , 7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты (13).

В круглодонную колбу емкостью 50 мл добавляют 0.1г (0,0025моля) 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты, 35 мл абсолютного метанола и 0,1мл концентрированной серной кислоты. Смесь кипятят в течение 2,5-3 часов. После охлаждения трижды экстрагируют по 50 мл эфира. Эфирные экстракты объединяют, промывают водой до рН=7 и сушат над сульфатом натрия. После фильтрования упаривают растворитель.

Выход: 0.9 г (87 %). Т.пл. 149-150 °С.

Найдено, %: С-73,76; Н-10,29.

Вычислено для $C_{25}H_{42}O_4$, %: С-73,89; Н-10,34.

Аналогичным образом были получены этиловый, пропиловый, изопропиловый, бутиловый, изобутиловый эфиры 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты (13, 14, 15, 16).

2.10. Синтез метилового эфира 3 α , 7 β -диацетокси-5 β -холановой кислоты (22).

В коническую колбу емкостью 250 мл, помещают 2 г (0,0049 моль) метилового эфира 3 α , 7 β -дигирокси-5 β -холановой кислоты растворяют в 53мл сухого бензола и 0,22 мл пиридина. После чего медленно добавляют 22 мл (0,021 моль) уксусного ангидрида. Реакционную смесь оставляют при температуре 30 °С в течение 24 часов. Затем, реакционную смесь разбавляют холодной водой, и отделяют бензольный слой, промывают водой и сушат над безводным сульфатом натрия. После удаления растворителя образовавшийся метиловый эфир 3 α ,7 β -диацетохолановой кислоты дважды перекристализовывают из смеси водным метанолом в соотношении 3:1. Выход: 2,2 г (88%). Т.пл. 71-72⁰С.

Найдено, %: С-70,84; Н-9,22

Вычислено для C₂₇H₄₄O₅, %: С - 71,03; Н-9,38.

Аналогичным образом были получены другие ацилпроизводные эфиры 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты (21, 22, 23, 24, 25).

2.10.1. Синтез натриевой соли 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты (39).

В коническую колбу, снабженную магнитной мешалкой, помещают 3 г (0,0075 моль) 3 α , 7 β -дигирокси-5 β -холановой кислоты, растворенной в 20 мл диоксана. При перемешивании и комнатной температуре по каплям прикапывают 0,3г (0,0075моль) едкого натрия в 0,5 мл дистиллированной воды. Затем, содержимое колбы перемешивают в течение 2 часов до полного протекания реакции. Полученные кристаллы натриевой соли 3 α ,7 β -дигирокси-5 β -холановой кислоты отфильтровывают, промывают 20 мл холодного эфира и перекристаллизовывают из этилового спирта.

Выход: 2,96 г (93 %). Т.пл. 222-224 °С.

Найдено, %: С-70,02; Н-9,10.

Вычислено для C₂₄H₃₈O₄Na, %: С-69,70; Н-9,22.

Аналогичным образом были синтезированы другие соли холановой кислоты (37-40). В описанных условиях были синтезированы натриевые соли 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси- (39), 3 α ,7 α -дигидрокси-(37), 3 α ,12 α -дигидрокси- (38) 3 α ,7 α ,-дигидрокси-12-кето-5 β -холановой кислоты (40).

2. 10.2 Синтез моноглицидного эфира 3 α ,7 α ,12 α – тригидрокси-5 β -холановой кислоты.

Растворяют 0,85 г (0,002 моль) натриевой соли 3 α ,7 α ,12 α –тригидрокси-5 β -холевой кислоты в 20 мл метанола. Затем, при перемешивании добавляют 0,4 мл (0,005 моля) эпихлоргидрина. Раствор кипятят, перемешивая в течение 5 часов при 65 °С [28].

По окончании реакции растворитель отфильтровывают и отгоняют на ротонном-испарителе. Остаток разбавляют эфиром, эфирные втяжки промывают водой, сушат над сульфатом натрия, эфир отгоняют, остаток перекристаллизовывают из водного метанола (в соотношение 3:1).

Выход: 1,3 г (86 %). Т.пл. 147 – 148 °С.

Найдено, %: С - 70,69; Н - 8,33

Вычислено для C₂₇H₄₄O₆, %: С - 70,71; Н - 8,40.

2. 10. 3. Синтез этилового эфира метилоксиаминопропилового эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты (31)

В трехгорлую колбу, снабженную капельной воронкой, механической мешалкой и обратным холодильником помещают 0,5 гр (0,010 моль) глицидного эфира 3 α ,7 α ,12 α -гидрокси-5 β -холановой кислоты и 89 мг (0,0089 моль) этилглицина. Для полного растворения вещества добавляют 35 мл диоксана. Затем, реакцию смесь перемешивают при температуре 25–30 °С в течение 1,5 часов. После чего реакцию массу оставляют на ночь. Из смеси отгонят избыток растворителя при низком давлении и остаток после удаленного растворителя перекристаллизовывают из спирта.

Выход: 0,36 г (80 %). Т.пл.140 – 141 °С.

Найдено, % : С - 67,50; Н - 9, 61

Вычислено для C₃₂H₆₁NO₈, %: С - 67,42; Н – 9,54

Аналогичным образом были получены соединения (26, 27, 28, 29, 30, 31).

2.10.4. Синтез метилового эфира 3 α ,7 α -тозилокси эфира -12- кето-5 β -холановой кислоты (33).

В трехгорлую колбу, снабженную механической мешалкой, обратным холодильником и капельной воронкой, помещали 0,61 г (0,0014 моль) метилового эфира 3 α ,7 α -дигидрокси-12-кетохолановой кислоты и 5 мл сухого пиридина. При перемешивании и нагревании до 65-75 °С медленно прибавляли 0,55 г (0,0028 моль) п-толуолсульфохлорида и 3 мл пиридина. Смесь перемещивалась еще в течение 5 часов. Затем, ее выливали в стакан с 40 г льда. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили на воздухе и перекристаллизовывали из этилового спирта.

Выход: 0,97 г (88 %). Т. пл. 181-182 °С.

Найдено, %: С-64,24; Н-6,97.

Вычислено для C₃₉H₅₂O₉S₂, % : С - 64,10; Н - 7,11.

Аналогично были синтезированы и другие тозилоксиэфиры холановых кислот (32-36), свойства которых приведены в таблице 5.

2.10.5. Синтез пропан-1,2-дионового эфира 3 α ,7 β -дигидроокси-5 β - холановой кислоты(43)

В круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником, помещают 3 г (0,0072 моль) натриевой соли 3 α ,7 β -дигидроокси-5 β -холановой кислоты, 1,6 г (0,014 моль) α -монохлоргидрина глицерина, смесь растворяют в 30 мл метанола. Реакционную массу кипятят в течение 6-7 часов. После завершения реакции содержимое колбы отфильтровывают и отгоняют избыток метанола в роторном испарителе. Затем, выпавший осадок промывают водой, сушат в воздухе и многократно перекристаллизовывают из этилового спирта. Аналогичным образом синтезированы другие пропан-1,2-диоловые эфиры холановых кислот (41, 42, 43, 44, 45).

Выход: 3,1 г (90 %). Т. пл. 210 – 211 °С.

Найдено, %: С-69,27; Н-9,96

Вычислено для C₂₇H₄₇O₆, %: С-69,39; Н-10,05.

2.10.6. Газохроматографический метод анализа эфиров холяновых кислот в сыворотке крови.

а) Определение содержания жирных кислот в сыворотке крови.

Сыворотку в объёме 0,5 мл экстрагировали встряхиванием с 10 мл хлороформ – метанольной смеси (2:1) в течение 10 минут. Фильтровали и для расслоения фаз к смеси добавляли 2 мл бидистиллированной воды и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 минут. Верхний водный слой содержит водорастворимые нелипидные вещества. Нижний слой хлороформа содержит липиды.

Экстрагированные липидные компоненты концентрировали пропусканием азота при температуре 80-85 °С до объёма 0,1 мл. В колбу с остатком 0,1 мл экстракта добавляли 5-6 мл метанола и одну каплю концентрированной серной кислоты. Гидролиз и одновременно метилирование осуществлялось нагреванием при температуре 80°С в течение 30 минут. После охлаждения продукты гидролиза двукратно экстрагировали смесью гексана с эфиром. После объединения экстрактов промывали водой до рН=7 и сушили над сульфатом натрия. К концентрированному экстракту добавляли 0,1 мл смеси гексана со спиртом для введения в хроматограф.

б) Определение содержания желчных кислот в желчи.

Определение содержания желчных кислот в желчи проводили методом ГЖХ с использованием газового хроматографа «Хром-5» производства Чехословакии с пламенно-ионизационным детектором при программировании температуры в интервале 250-265 °С, при 1°С/0,5 минут.

В круглодонную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл желчи, отобранной при дуоденальном зондировании, добавляли 20 мл этанола и 3 мг/мл растворённого внутреннего стандарта 3 α , 7 α – дигидрокси – 12-кетохолевой кислоты и в течение 15 минут кипятили с обратным холодильником на водяной бане. Затем, после охлаждения фильтровали и выпаривали спирт досуха на водяной бане без доступа воздуха в токе азота. К сухому остатку добавляли 2 мл бидистиллированной воды, 1 мл

этиленгликоля и 1 мл 4N раствора NaOH, гидролизовали в течение 1,5 часа при температуре 140-145⁰C на песочной бане. После охлаждения и разбавления удаляли все липиды путём двукратного экстрагирования диэтиловым эфиром. Затем, подкисляли водный слой 10 % раствором соляной кислоты и двукратно экстрагивали желчные кислоты эфиром. Эфирные экстракты объединяли, промывали водой до нейтральной реакции и сушили над сульфатом натрия. После чего полностью отгоняли эфир и для преодоления сильной полярности желчных кислот метилировали в среде 10 мл метилового спирта в присутствии следов концентрированной серной кислоты в течение 1,5 часа. После охлаждения колбы с полученными метиловыми эфирами кислот экстрагировали дважды эфиром. Эфирный экстракт промывали и сушили над сульфатом натрия. После отгонки растворителя метиловые эфиры желчных кислот переносили во флакон путём растворения их в 0,3 мл этанола с целью введения в хроматограф.

Условия хроматографирования. Колонку длиной 1,26 м с внутренним диаметром 0,3 см заполняли фазой: хроматон N-AW зернения 0,160 – 0,260 мм, нанесённый 3 % SE – 30.

Температура термостата (хроматографической колонки) – 250 °C, температура испарителя - 290 °C, детектора - 270 °C, скорость газ-носителя (азот) - 40 мл/мин, скорость водорода - 30 мл/мин, скорость движения ленты самописца-0,3 см/мин, продолжительность анализа - 30 мин. Для идентификации пиков использовались хроматографически чистые эталоны метиловых эфиров желчных кислот (ХК, ХДХК, ДХК, ДегХК, ХК) фирмы P-Z, Biochemical, YNC, США.

Все полученные хроматограммы оценивали методом внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали 3 α , 7 α – дигидрокси-12-кетохолево́й кислоты.

2.10.7. Газохроматографический метод анализа высших жирных кислот в сыворотке крови.

К сыворотке объёмом 1 мл добавляли 3 мг/мл раствора внутреннего стандарта 3 α , 7 α -дигидроксис-12-кетохолоевой кислоты и экстрагировали 15 мл хлороформ-метанольной смеси (2:1) в течение 10 минут. После чего фильтровали. Для расслоения фаз в смесь добавляли 5 мл бидистиллированной воды и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут. Верхний водный слой, содержащий желчные кислоты, осторожно отсасывали при помощи водоструйного насоса и выпаривали досуха на песочной бане без доступа влаги. Затем к содержимому колбы добавляли 5 мл воды, 1 мл этиленгликоля, 1 мл 4 н. раствора NaOH и гидролизovali в течение 1,5 часа при 140-145 °С. Далее, завершили методику аналогично пункту (2.5 а).

ГЛАВА III.

СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ РЯДА ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)

На современном этапе развития науки во всем мире изыскиваются пути и методы синтеза новых эффективных лекарственных средств. В связи с этим целенаправленный синтез новых классов стероидных соединений, обладающих биологически активными свойствами, является актуальной задачей для ученых-химиков, фармацевтов, фармакологов и биохимиков. В связи со сложностью их синтезов в литературе имеется ограниченное число исследований, направленных на изыскание полезных соединений на основе полифункциональности холановых кислот. Среди синтезированных производных холановых кислот выявлены новые литолитические, противовоспалительные, антимикробные, поликатионные амфифилы и другие практически ценные материалы. Особый интерес представляют производные холановых кислот, имеющие различные функциональные группы, которые способствуют получению на их основе ряда других соединений с заданными биологическими свойствами.

Для получения достаточно полной информации о поведении холановых кислот в изучаемых реакциях, о влиянии природы гидроксильных, карбоксильных групп при различных реакциях замещения, а так же для их осуществления в других модификациях с использованием исходных соединений высокой чистоты, исследована возможность применения различных методов очистки холановых кислот и их метиловых эфиров, характеристика которых приведена в таблице 1. Следует отметить, что поведение холановых кислот и их соответствующих метиловых эфиров исследовалась нами, в основном, с позиции изучения их поведения в реакциях различного характера. При этом, особое внимание было уделено выявлению условий синтеза биологически активных соединений.

Характеристика холановых кислот и соответствующих метиловых эфиров

№ п/п	Холановые кислоты и их метиловые эфиры	R	R ^I	R ^{II}	R ^{III}	Выход, %	Т.пл. °С	С % Найдено Вычислено	Н % Найдено Вычислено	Брутто-формула
1	3α-гидрокси-	ОН	Н	Н	Н	89	184-185	<u>76.39</u> 76.46	<u>10.56</u> 10.68	C ₂₄ H ₄₀ O ₃
2	3α, 12α-дигидрокси-	ОН	Н	ОН	Н	74	177-178	<u>73.31</u> 73.36	<u>10.11</u> 10.18	C ₂₄ H ₄₀ O ₄
3	3α, 7α-дигидрокси-	ОН	ОН	Н	Н	64	140-141	<u>73.40</u> 73.36	<u>10.13</u> 10.18	C ₂₄ H ₄₀ O ₄
4	3α, 7α, 12α-тригидрокси-	ОН	ОН	ОН	Н	87	198-199	<u>70.48</u> 70.54	<u>9.71</u> 9.79	C ₂₄ H ₄₀ O ₅
5	3α, 7α, 12α-трикето-	О	О	О	Н	98	237-238	<u>71.57</u> 71.64	<u>8.39</u> 8.45	C ₂₄ H ₃₄ O ₅
6	3α, 7β-дигидрокси-	ОН	ОН	Н	Н	88	203-204	<u>73.22</u> 73.36	<u>10.09</u> 10.18	C ₂₄ H ₄₀ O ₄
7	Метиловый эфир 3α-гидрокси-	ОН	Н	Н	CH ₃	96	129-130	<u>76.71</u> 76.78	<u>10.78</u> 10.83	C ₂₅ H ₄₂ O ₃
8	Метиловый эфир 3α,12α-дигидрокси-	ОН	Н	ОН	CH ₃	96	75-76	<u>73.79</u> 73.95	<u>10.25</u> 10.34	C ₂₅ H ₄₂ O ₄
9	Метиловый эфир 3α,7α-дигидрокси-	ОН	ОН	Н	CH ₃	91	42-43	<u>73.86</u> 73.95	<u>10.40</u> 10.34	C ₂₅ H ₄₂ O ₄
10	Метиловый эфир 3α,7α12α,-тригидрокси-	ОН	ОН	ОН	CH ₃	93	156-157	<u>71.08</u> 71.10	<u>9.80</u> 9.94	C ₂₅ H ₄₂ O ₅
11	Метиловый эфир 3α,7α12α,-трикето-	О	О	О	CH ₃	97	241-242	<u>72.21</u> 72.29	<u>8.50</u> 8.65	C ₂₅ H ₃₆ O ₅
12	Этиловый эфир 3α, 12α-дигидрокси-	ОН	Н	ОН	C ₂ H ₅	92	81-82	<u>73.94</u> 73.89	<u>10.80</u> 10.72	C ₂₆ H ₄₅ O ₄

3.1. ПОЛУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ 3 α , 7 β -ДИГИДРОКСИ-5 β -ХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ

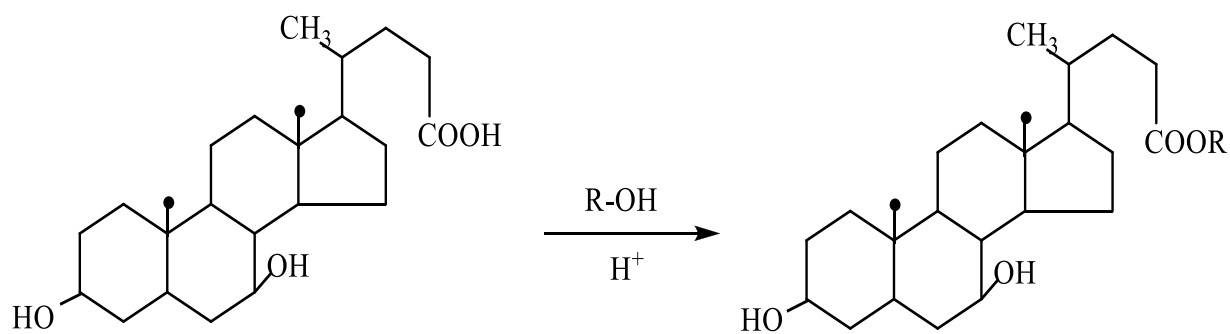
Химическая модификации гидроксильных и карбоксильных групп холановых кислот позволяет получить производные с широким спектром биологической активности [110, 111]. Цель данной работы заключается в изучении поведения 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты в реакциях этерификации, протекающих по карбоксильной группе, синтезе сложных эфиров, установлении строения образующихся продуктов.

Синтезированные новые сложные эфиры 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты можно использовать в качестве эталонных образцов для определения содержания ряда стероидов типа холановых кислот в биологических объектах, а также полупродуктов для синтеза литолитических, противовоспалительных, антибактериальных препаратов и для синтеза катионных амфифилов. В этом плане проведение данных исследований намечает создание новых литолитических, гипохолестринимических а также гепатопротективных средства на основе некоторых стероидов типа холановых кислот.

Приступая к поиску более эффективного метилирующего, этилирующего, пропилирующего, изопропилирующего и изобутилирующего агента для 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты в нашей работе, мы использовали метод Фишера [112,113,161].

При проведении данной реакции этерификации, исходя из вышеназванных спиртов и 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты нами был получен ряд соответствующих сложных эфиров (13-17). Реакцию проводили при кипячении спиртов с 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислотой в присутствии следов концентрированной серной кислоты [114]. Перечень соединений (13-17), выход в %, температура плавления и данные элементного анализа приведены в таблице 2. Данные этой таблицы

свидетельствуют о том, что выходы сложных эфиров 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты колеблются в пределах 89-92 %.



где R= CH₃ (13) R' = C₂H₅ (14) R'' = C₃H₇ (15) R = изо-C₃H₇; (16), R = изо-C₄H₉; (17)

Интерпретация ИК- спектров полученных сложных эфиров показывает о появлении в них интенсивных полос поглощения в области 1295-1165 см⁻¹, характеризующих наличие сложноэфирных групп. В полученных соединениях обнаружены широкие полосы поглощения в области 3165-3456см⁻¹, которые отнесены к валентным и деформационным колебаниям ОН-группы. Строение сложных эфиров (13-17) было подтверждено методом ИК-спектроскопии. На рисунке 1 в качестве примера приведен ИК-спектр этилового эфира 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты. Индивидуальность их подтверждена методом газожидкостной хроматографии. Синтезированные новые эфиры 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты хроматографировали при условиях: температура термостата 255 °С, испарителя 290 °С, детектора – 280 °С, скорость газаносителя 40 мл/мин, водорода 30 мл/мин, на хроматоне N-AW диаметра зрениа 0,160-0,200 мм, содержащий 3 % SE-30. На рисунке 1 приведена хроматограмма смеси метиловых, этиловых, пропиловых, изопропиловых и изобутиловых эфиров 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты.

Таблица 2

Характеристика сложных эфиров 3 α , 7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты

№ п/п	Сложные эфиры – 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β - холановой кислоты.	Выход, %.	Т.пл, °С	Найдено Вычислено, %		Брутто- Формула
				С	Н	
13	Метилловый	92	149-150	$\frac{73.84}{73.95}$	$\frac{10.28}{10.34}$	C ₂₅ H ₄₂ O ₄
14	Этиловый	90	172-173	$\frac{74.14}{74.24}$	$\frac{10.37}{10.42}$	C ₂₆ H ₄₄ O ₄
15	Пропиловый	87	185-186	$\frac{74.36}{74.54}$	$\frac{10.56}{10.77}$	C ₂₇ H ₄₇ O ₄
16	Изопропиловый	88	163-164	$\frac{74.58}{74.65}$	$\frac{10.63}{10.59}$	C ₂₇ H ₄₇ O ₄
17	Изобутиловый	89	190-191	$\frac{75.89}{75.99}$	$\frac{10.82}{10.78}$	C ₂₈ H ₄₆ O ₄
18	Изопропилового эфира 3-ацетокси-7 β -гидрокси	86	41-42	$\frac{72.89}{73.04}$	$\frac{10.05}{10.15}$	C ₂₉ H ₄₈ O ₅

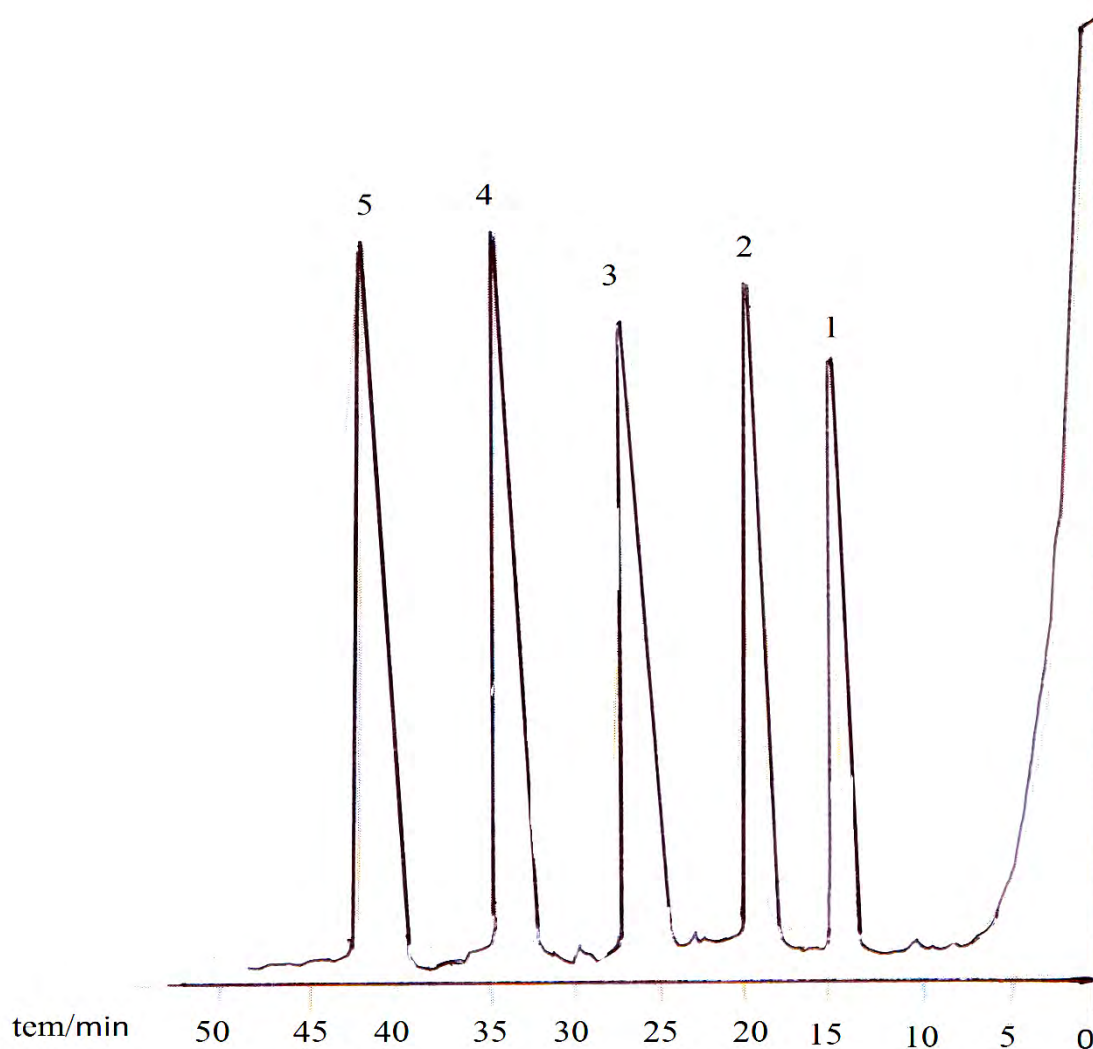
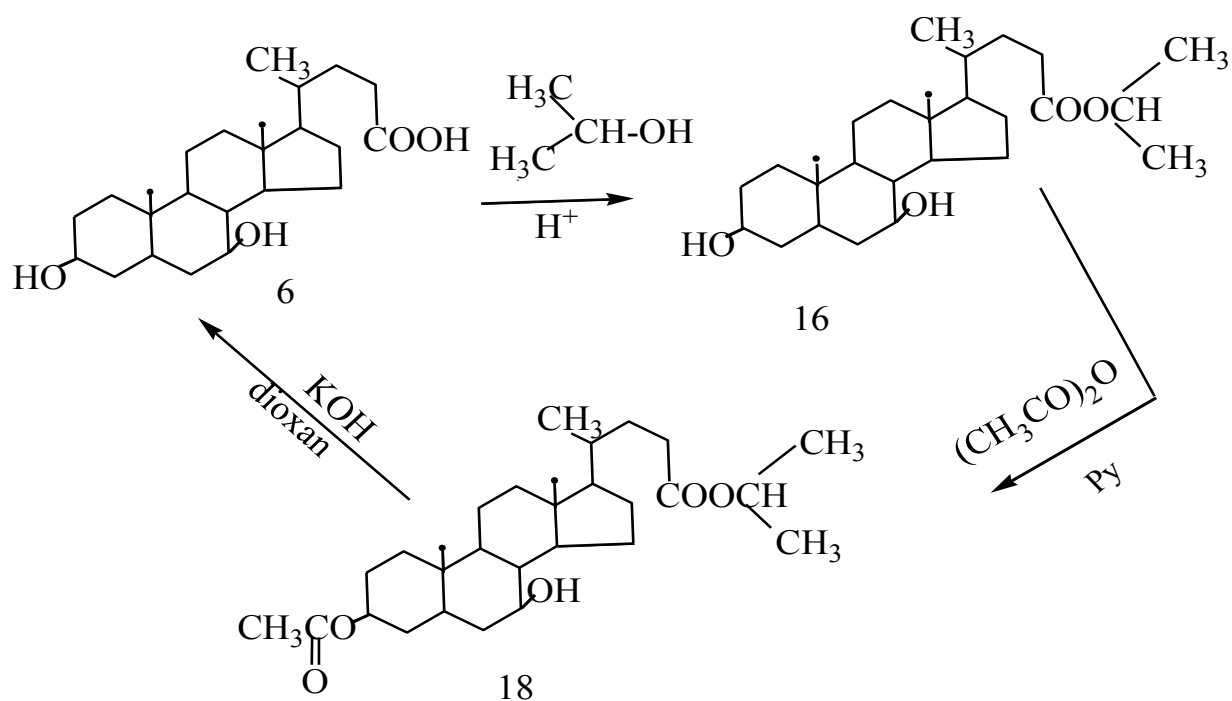


Рисунок 1- Хроматограмма смеси 1- метилового-, 2-этилового-, 3-пропилового-, 4-изопропилового и 5-изобутилового эфиров $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β - холановой кислоты.

Для доказательства структуры соединения (16) т. е. изопропилового эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты был использован встречный синтез. Известен изопропиловый эфир 3-ацетокси- 7β -гидрокси- 5β -холановой кислоты (18). Нами воспроизведен этот синтез, выделено данное соединение, строение которого, установлено достаточно убедительно [115]. Для решения этой задачи нами в первую очередь, была изучена реакция ацилирования по гидроксильной группе в положении С-3, (18) а, затем, последующий гидролиз соединения (18) до (6). После чего соединение (6) изопропилировано по указанной схеме:



Проведенная реакция ацилирования изопрпилового эфира 3 α ,7 β - дигидрокси-5 β -холановой кислоты (16) до изопрпилового эфира 3-ацетокси-7 β -гидрокси-5 β -холановой кислоты (18) и последующий гидролиз, а затем переход к сложному эфиру (16) ещё раз убедительно подтверждает его строение.

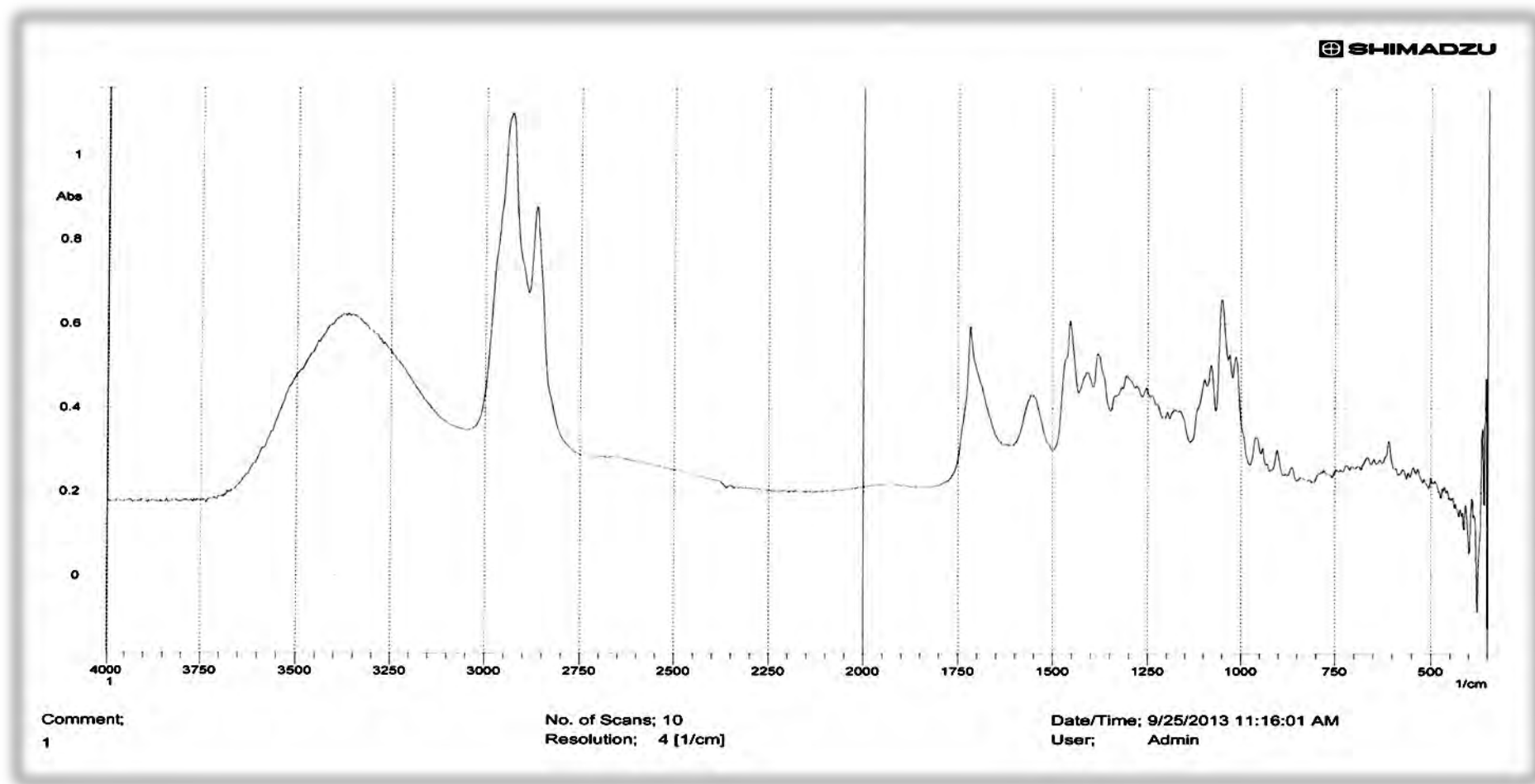


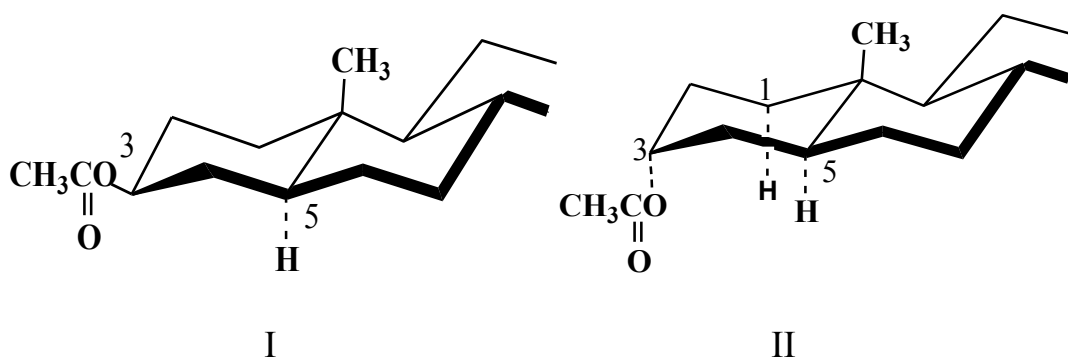
Рисунок 2 - ИК-спектр этилового эфира $3\alpha,7\beta$ – дигидрокси- 5β -холановой кислоты (14)

3.2. СИНТЕЗ АЦИЛПРОИЗВОДНЫХ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ $3\alpha,7\beta$ -ДИГИДРОКСИ- 5β -ХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ

Существует много направлений синтеза новых препаратов, путем модификации их структуры (например, стероидов типа холановых кислот), которые позволили получить ряд ценных антимикробных, противовоспалительных, литолилических и гепатопротекторных препаратов [116,117,118,119]. По синтезу производных холановых кислот, протекающих по гидроксильным группам, опубликовано крайне ограниченное число работ [120,121].

В молекулах рассматриваемого стероида, если циклогексановое кольцо жестко связано с другим кольцом, то заместитель в нем, например, гидроксильная группа, может находиться или в экваториальном, или в аксиальном положении. Экваториальная гидроксильная группа ацилируется легче, чем аксиальная в том же положении, и это правило справедливо для всех насыщенных стероидных спиртов без исключения.

Экваториальная группа находится в более доступном положении, а аксиальная группа в эпистере II затруднена, 1,3-взаимодействует с аксиальными 1α - 5α - водородными атомами.



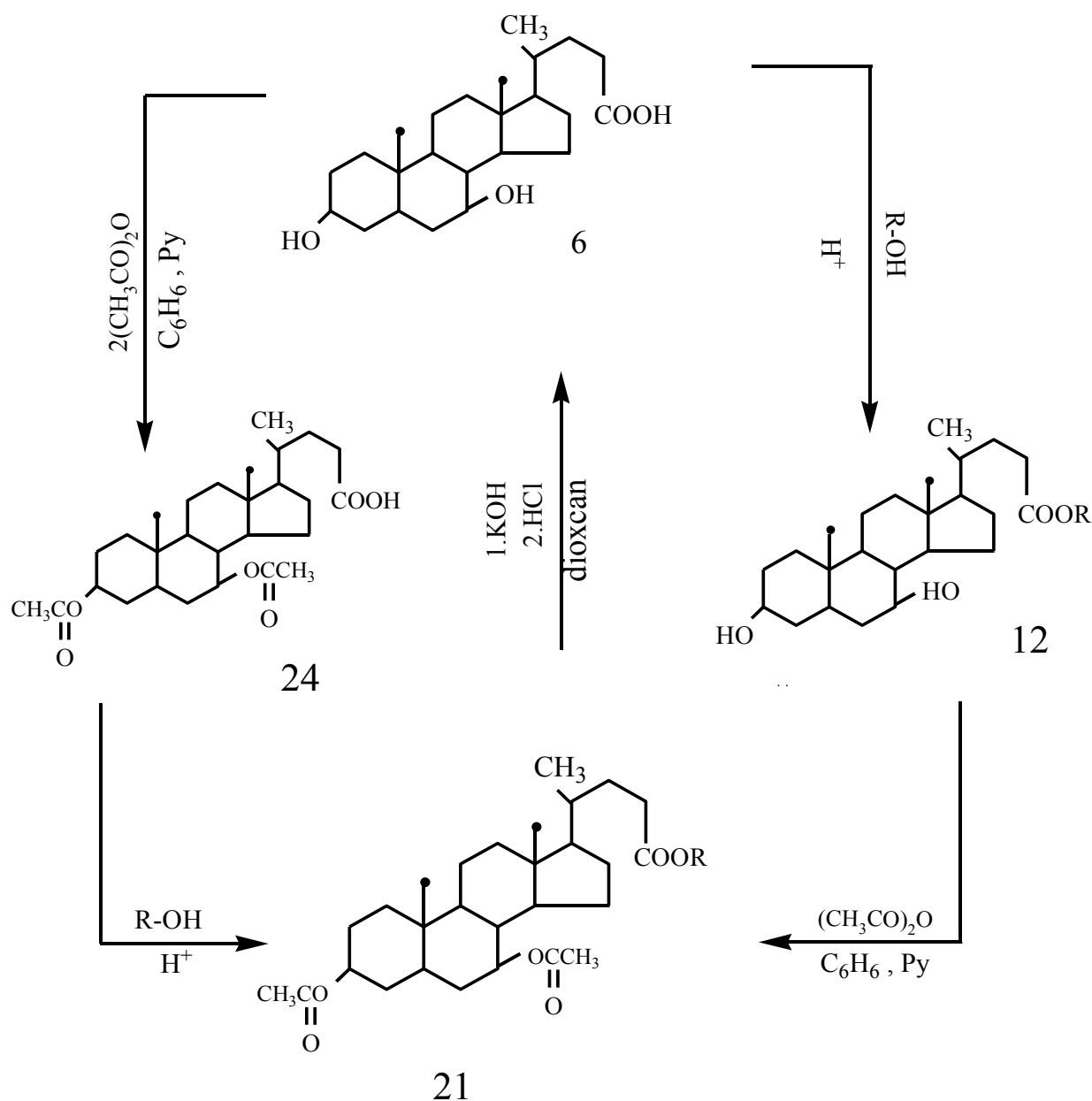
Ацилирование метилового эфира $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты и его некоторых производных уксусным ангидридом изучены

достаточно подробно, но сведения об их других сложных эфирах с уксусным ангидридом и другими ацилирующими агентами незначительны [122,123,124,125]. Поэтому изучение химических свойств некоторых сложных эфиров 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты, определение её реакционной способности и поведения в реакциях различного характера представлял большой интерес.

В качестве объекта исследования использованы исходные вещества для ацилирования на примере метилового-, этилового-, пропилового-, изопропилового-, и изобутилового эфиров 3 α , 7 β - дигидрокси-5 β - холановой кислоты. В связи с этим, нами было изучено поведение гидроксильных групп углерода С-3 и С-7 в молекулах различных сложных эфиров 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты в реакциях ацилирования. С целью блокировки гидроксильных группы в положениях 3 и 7 нам интересно было выяснить, в каких условиях возможно образование диацетокси-производных при ацилировании уксусным ангидридом. Опыты показали, что этого не происходит при использовании молярного соотношения компонентов и продолжительности реакции до 15 часов.

Реакции с двукратным количеством уксусного ангидрида показали, что при температуре 25⁰С в течении 19-20 часов в среде бензола в присутствии пиридина наблюдается образование сложных эфиров 3 α , 7 β -диацетокси-5 β -холановой кислоты (19-24), с количественным, выходом, независимо от строения использованных сложных эфиров. В этих условиях ацилированию были подвергнуты метиловый-, этиловый-, пропиловый-, изопропиловый и изобутиловый эфиры 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β - холановой кислоты [159,164].

Оказывается, если проводить реакции ацилирования различных сложных эфиров 3 α , 7 β - дигидрокси-5 β - холановой кислоты более 20 часов, то независимо от того, где находятся гидроксильные группы, в α или β положениях, они ацилируются.



Г

де R= CH₃ (19); -C₂H₅ (20); -C₃H₇ (21); -изо-C₃H₇; (22); -изо-C₄H₉; (23);

Далее нами была предпринята попытка провести встречный синтез с целью установления строения исходной 3α,7β-дигидрокси-5β-холановой кислоты (6) и метилового эфира 3α,7β-диацетокси-5β-холановой кислоты (21). Для решения этой задачи нами была изучена реакция гидролиза раствором 30% едкого калия с последующим подкислением метилового эфира 3α,7β-диацетоксихолановой кислоты (21) и прямого ацилирования 3α,7β-дигидрокси-5β-холановой кислоты (6) с применением двукратного количества ацилирующего агента и пиридина, а также метилированием 3α,7β-дигидрокси-5β-холановой кислотой (24). Полученные различными

путями соединения (6, 12 и 21) оказались совершенно идентичными по свойствам, ИК-спектральным характеристикам, а также по отсутствию депрессии смешанной пробы плавления.

Анализ ИК-спектров, данные элементного анализа ацилпроизводных показывают, что при проведении реакции ацилирования различных сложных эфиров 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты другие продукты не образуются. В ИК-спектрах полученных ацилпроизводных соответствующих стероидов (19-24), присутствует характерная полоса поглощения валентного колебания ацетильных групп при 1343-1350 см^{-1} , и интенсивные полосы поглощения COOR-групп в области 1290 и 1250 см^{-1} , а также заметно исчезновение полосы поглощения валентного колебания гидроксильных групп при 3150-3450 см^{-1} . Физико-химические характеристики полученных ацилпроизводных показаны в таблице 3. Выявлено, что выходы ацилпроизводных увеличиваются при использовании метилового- и изопропилового эфиров 3 α , 7 β -дигидрокси-7 β -холановой кислоте. Интерпретация ИК-спектров и другие методы анализ показывают, что реакции ацилирования протекают с хорошим выходом, образуются продукты замещения атома водорода в OH- группе в положении C-3 и C-7 молекулах стероида. Таким образом, изучены химические свойства сложных эфиров 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты. На примере реакции ацилирования установлено, что проведение таких реакций вполне осуществимо, а также посредством их можно получить многочисленные производные холановых кислот, проявляющие себя как потенциальные биологически активные соединения.

Таблица 3

Характеристика ацилпроизводных сложных эфиров-3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты

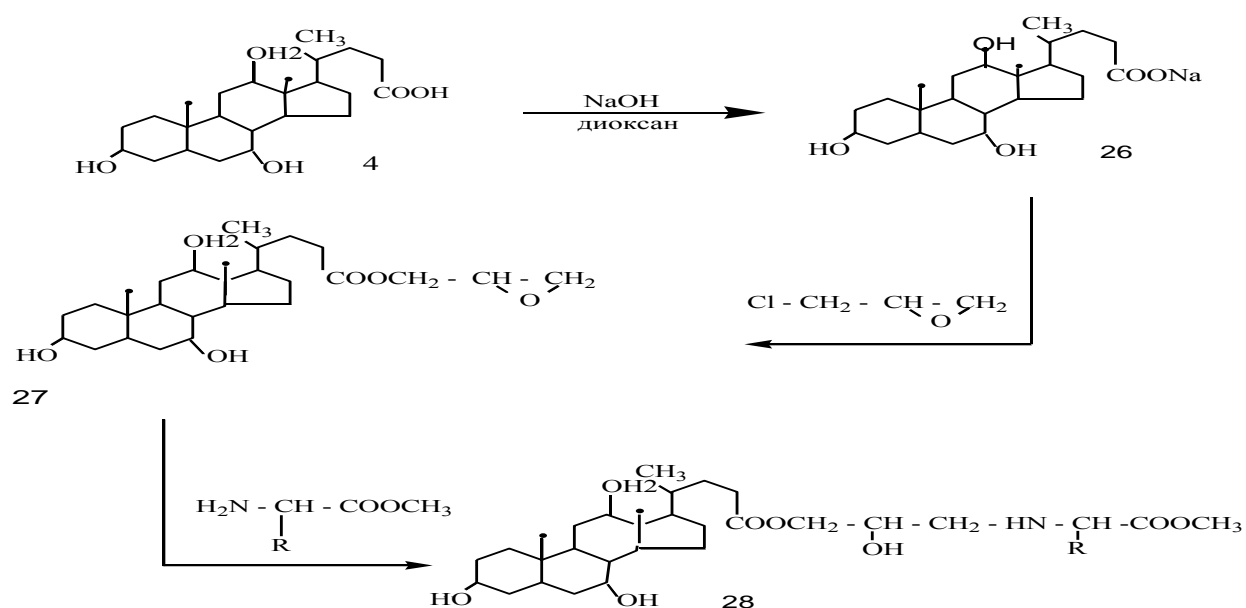
№	Ацилпроизводные эфиры –3 α ,7 β – дигидрокси-5 β - холановой кислоты.	Выход, %.	Т.пл, °С	Найдено, Вычислено		Брутто-формула.
				С	Н	
19	Метилловый эфир 3 α ,7 β - диацетокси-5 β - холановой кислоты	75	71-72	$\frac{70.84}{71.03}$	$\frac{9.40}{9.38}$	C ₂₉ H ₄₆ O ₆
20	Этиловый эфир 3 α ,7 β -диацетокси-5 β -холановой кислоты	86	62-63	$\frac{71.37}{71.40}$	$\frac{9.49}{9.58}$	C ₃₀ H ₄₈ O ₆
21	Пропиловый эфир 3 α ,7 β - диацетокси-5 β - холановой кислоты	77	59-60	$\frac{71.05}{71.11}$	$\frac{9.88}{9.94}$	C ₃₁ H ₅₀ O ₆
22	Изопропиловый эфир 3 α ,7 β - диацетокси-5 β - холановой кислоты	88	64-65	$\frac{71.68}{71.77}$	$\frac{9.67}{9.73}$	C ₃₁ H ₅₀ O ₆
23	Изобутиловый эфир 3 α ,7 β - диацетокси-5 β - холановой кислоты	79	56-57	$\frac{72.06}{72.15}$	$\frac{9.80}{9.83}$	C ₃₂ H ₅₂ O ₆
24	3 α ,7 β – диацето-5 β - холановой кислоты	88	123-124	$\frac{73.03}{73.15}$	$\frac{6.22}{8.76}$	C ₂₈ H ₄₄ O ₆
25	Метилловый эфир 3 α ацеткси, 12-гидрокси-5 β - холановой кислоты	80	61-62	$\frac{72.38}{72.32}$	$\frac{9.90}{9.82}$	C ₂₇ H ₄₄ O ₅

3.3. НЕКОТОРЫЕ РЕАКЦИИ ГЛИЦИДНОГО ЭФИРА 3 α ,7 α ,12 α -ТРИГИДРОКСИ-5 β -ХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ

Стероиды-обширный класс органических соединений, значение которых в биохимии, медицине, фармацевтической промышленности и ряде других областей возросло особенно за последние десятилетия. Этому в немалой степени способствовали успехи синтетической органической химии. Подобные стероиды являются хорошими препаратами в терапии желчекаменной болезни и других патологий печени. Поэтому часть представленного исследования была направлена на поиск новых холелитолитических препаратов, а также более эффективное изучение их биологической активности. Ранее были известны моноглицидные эфиры холановых кислот [126]. Мы воспроизвели эту реакцию и по-другому синтезировали глицидный эфир 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты.

Цель проводимых работ заключается в синтезе и изучении поведения глицидного эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты в реакциях, протекающих по глицидной части молекулы, в синтезе оксиамино-кислотных и дипептидных производных вышеназванной кислоты, а также использование полученных результатов для создания новых биологически активных веществ. Для решения данной задачи, в первую очередь, осуществили синтез натриевой соли 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты-(26), для чего проводили реакцию соединения (4) с 30% раствором NaOH в среде диоксана в течение 1,5 часов [127]. В результате этого нами было выделена натриевая соль 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты (26). Далее была предпринята попытка заменить атом натрия в натревой соли 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты-(26). Для этого соединение (26) в среде абсолютного этилового спирта и при добавлении 30 мл абсолютного метанола было вовлечено в реакцию с эпихлоргидрином [28]. Выделенный из реакционной смеси с выходом 84 % глицидный эфир 3 α ,7 α , 12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты свидетельствует о том, что осуществление такой реакции возможно. Для

реализации этой задачи нами осуществлено взаимодействие глицидного эфира $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты со сложными эфирами различных аминокислот и дипептидов. Было изучено поведение эпоксидной группы в молекуле глицидного эфира $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты (27). Реакции последнего с некоторыми сложными эфирами аминокислот и дипептидами проводили при температуре $40-45^{\circ}\text{C}$ в течение 4-4,5 часов с использованием диоксана в качестве растворителя, и это приводит к получению ряда метокси, этокси оксиаминокислотных и дипептидных эфиров $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты (27-32) [128,155, 158,160]. Перечень соединений (26-31), выход в %, температура плавления и данные элементного анализа приведены в таблице 4. Как видно из данной таблицы, выходы метокси и этокси-оксиаминопропиловых кислот сложных эфиров $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты колеблются в пределах 80-87%. В ИК- спектрах этих соединений обнаружены полосы поглощения в области $1290-1160\text{cm}^{-1}$, свидетельствующие о сложноэфирной группы в полученных продуктах.



где R-(28); CH_3 -(29); $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ -(30) и $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ -(31)

Строение глицидного эфира $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты (27) и синтезированных соединений было подтверждено методом ИК-спектроскопии, а также элементным анализом.

Таблица 4

Характеристика синтезированных соединений

№	Название соединений	Выход, %.	Т. Пл. °С	Найдено вычислено %		Брутто-формула
				С	Н	
26	Натриевой соль 3 α , 7 α 12 α –тригидрокси-5 β -холановой кислоты	95	Разл.	$\frac{66.88}{66.95}$	$\frac{9.03}{9.13}$	C 24H ₄₀ O ₅ Na
27	Глицидный эфир 3 α ,7 α ,12 α – тригидрокси-5 β -холановой кислоты	86	147- 148	$\frac{70.69}{70.84}$	$\frac{8.33}{8.40}$	C ₂₇ H ₄₄ O ₆
28	Метокси оксиамино пропиловый эфир 3 α ,7 α , 12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты	80	138- 139	$\frac{64.75}{64.80}$	$\frac{8.77}{8.85}$	C ₃₀ H ₄₉ O ₈ N
29	Метилловый эфир дипептид оксиамино пропилового эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты	87	144-145	$\frac{63.15}{63.20}$	$\frac{8.60}{8.65}$	C ₃₂ H ₅₂ O ₉ N ₂
30	Метилловый эфир метилглицин оксиамино пропиловый эфир 3 α ,7 α ,12 α - тригидрокси-5 β -холановой кислоты	81	120-121	$\frac{65.74}{65.82}$	$\frac{9.08}{8.97}$	C ₃₁ H ₅₁ O ₈ N
3 1	Этиловый эфир метилоксиамино пропилового эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты	80	128-129	$\frac{65.61}{65.71}$	$\frac{9.30}{9.26}$	C ₃₂ H ₅₁ O ₈ N

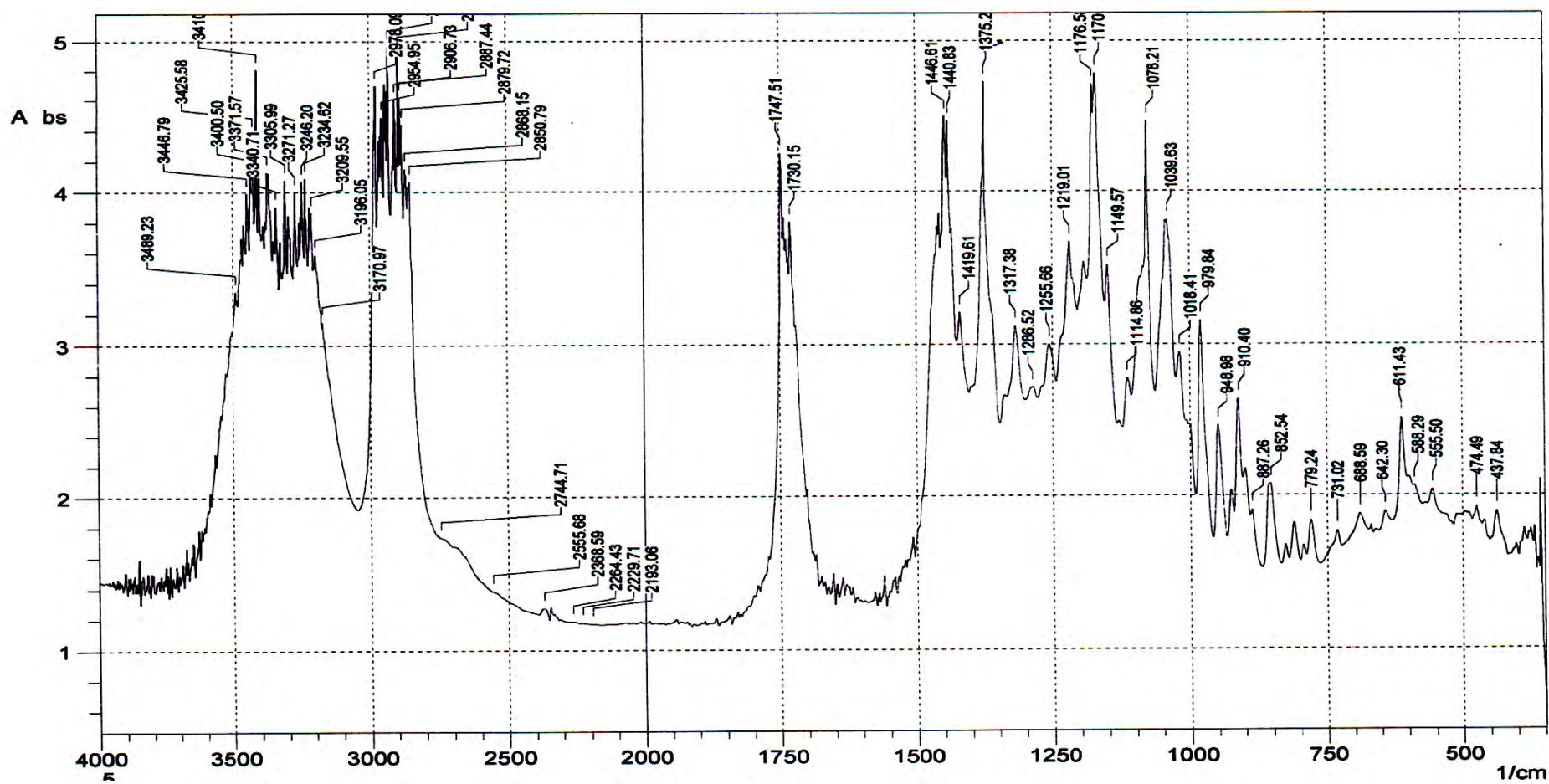


Рисунок 3. ИК-спектр глицидного эфира 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-5 β -холановой кислоты (27)

Кроме этого, полоса поглощения, характеризующая эпокси группу в соединении (27), наблюдается в области 3000 и 3010см^{-1} (рис. 3). В ИК-спектрах полученных соединений (27-31) присутствует характерная полоса поглощения валентного колебания NH-группы в области $3380-3550\text{ см}^{-1}$.

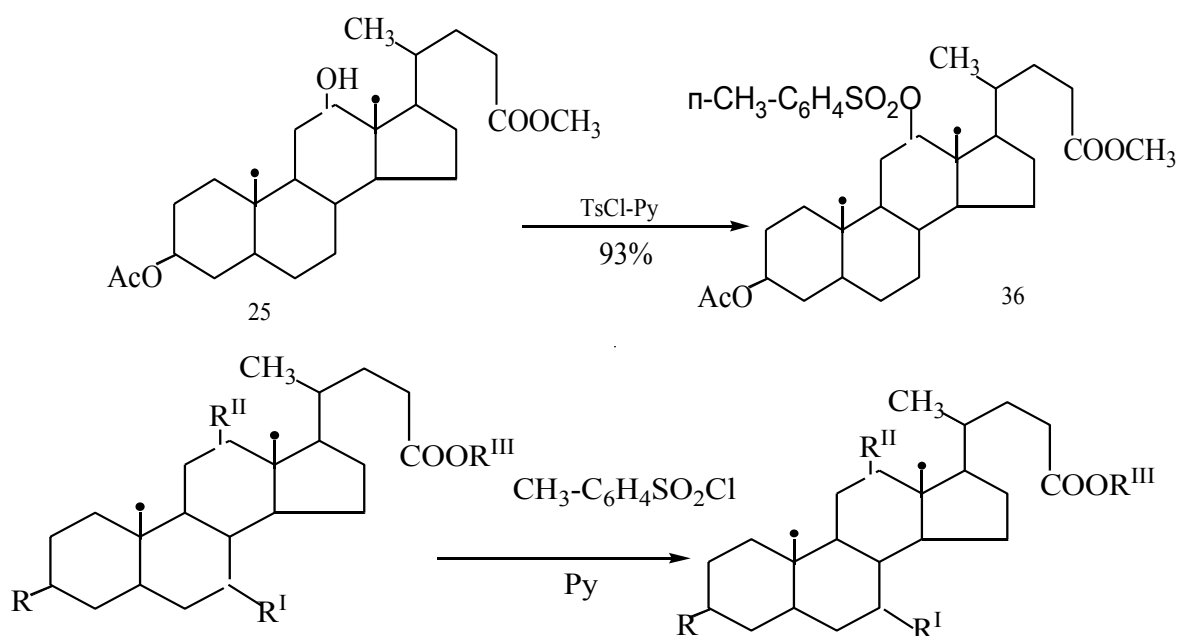
Таким образом, нами было исследовано поведение глицидного фрагмента в молекуле соответствующей кислоты в реакции со сложными эфирами аминокислот некоторых дипептидов и показано, что можно получать многочисленные производные холановой кислоты, проявляющие себя как потенциальные биологически активные соединения.

3.4. СИНТЕЗ ТОЗИЛОКСИЭФИРОВ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ

В настоящее время подробно изучаются химические свойства и физиологическая активность холановых кислот и их производных. Химическая модификация гидроксильных групп $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси-, $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси-, $3\alpha,12\alpha$ -дигидрокси-, $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси-12-кето- и $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановых кислот позволяет получать производные с широким спектром биологической активности [129,130,131].

В последнее время на основе $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты были получены катионные стероидные антибиотики, которые взаимодействуют с липидами и обладают как бактериостатической, так и бактериоацидной активностью [132]. Развивая исследования по синтезу новых производных холановых кислот, мы описываем в данном исследовании получение новых тозилоксиэфиров некоторых производных холановых кислот. Фрагмент толилсульфонила можно обнаружить в составе многих сульфониламидных препаратов. В связи с этим, нам было интересно ввести толилсульфонильную группу в молекулы стероидов путем реакции сочетания с некоторыми сложными эфирами холановых кислот, с целью получения тозилоксиэфиров соответствующих холановых кислот,

проявляющих потенциальные антибактериальные свойства [133,134]. Для этой цели мы использовали ряд сложных эфиров холановых кислот. Тозилоксиэфиры некоторых сложных эфиров холановых кислот, нами были получены при нагревании с эквимолярным количеством сложных эфиров с п-толуолсульфохлоридом в среде сухого пиридина при 80-85⁰С в течение 5-6 часов. В качестве примера приведен синтез метилового эфира 12 α -тозилоксиэфира 3 α -ацетоокси-5 β -холановой кислоты:



где

R, R^I, R^{II}, R^{III}, - соответственно; 32. R=R^I=Ac, R^{II}=Ts, R^{III}=CH₃, 33- R=R^I=Ts, R^{II}=O, R^{III}=CH₃, 34- R=R^I=Ts, R^{II}=H, R^{III}=C₂H₅, 35- R=R^I=Ts, R^{II}=H, R^{III}=CH₃, 36- R=Ac, R^I=H, R^{II}=Ts R^{III}=CH₃.

Проводя эту реакцию, нам удалось получить ряд тозилоксиэфиров холановых кислот, содержащих стероидные фрагменты. По указанной схеме были получены метиловый эфир 3 α ,7 α -диацетокси-12-тозилоксиэфира холановой кислоты-(32), метиловый эфир 3 α ,7 α -тозилоксиэфира 12-кето-5 β -холановой кислоты (33), этиловый эфир 3 α ,7 β -тозилоксиэфира-5 β -холановой кислоты (34), метиловый эфир 3 α -тозилокси-эфира 7 β -гидрокси холановой кислоты-(35) и метиловый эфир 3 α -ацетокси-12 α -тозилоксиэфира-5 β -холановой кислоты(36). Надо отметить, что применение

расчетного количества(1:1) тозилирующего агента и исходных $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси холановых кислот, позволяет ввести в данные соединения одну тозильную группу (35). В связи с этим, представлял интерес выявление условий возможного образования дитозилоксиэфира при реакции тозилирования. Однако, использование двухкратного избытка п-толуолсульфохлорида уже при $80-85^{\circ}\text{C}$ в течение 8,5 часов приводит к образованию этилового эфира $3\alpha,7\beta$ -дитозилоксиэфира- 5β -холановой кислоты(35). В этих условиях был подвергнут тозилированию метиловый эфир $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси холановой кислоты (7). Выход, данные элементного анализа, а также температура плавления синтезированных тозилокси-эфиров холановых кислот (32-36) приведены в таблице 5. В указанных условиях нами был получен ряд тозилоксиэфиров с хорошим выходом путем замены атома водорода в гидроксильных группах стероидов. В ИК-спектрах полученных соединений(32-36) появляются интенсивные полосы поглощения в области отнесенных к валентным колебаниям сульфогруппы ($1376-1297\text{ см}^{-1}$) в отличие от спектров исходных соединений сложных эфиров холановых кислот, отсутствуют интенсивные полосы поглощения в областях, отнесенных к валентным колебаниям ОН-группы, кроме соединения (35).

Приведенные данные ИК-спектров позволяют сделать выводы, подтверждающие получение нами тозилоксиэфиров некоторых производных холановых кислот. В качестве примера приведен ИК-спектр метилового эфира $3\alpha,7\alpha$ -диацето- 12α -тозилоксиэфира- 5β -холановой кислоты (рис.4). Таким образом, нами было исследовано поведение различных функционалпроизводных холановых кислот в реакции тозилирования и показано, что проведение таких реакций вполне осуществимо и их посредством можно получить ряд тозилоксиэфиров холановых кислот, проявляющих себя как противомикробные средства.

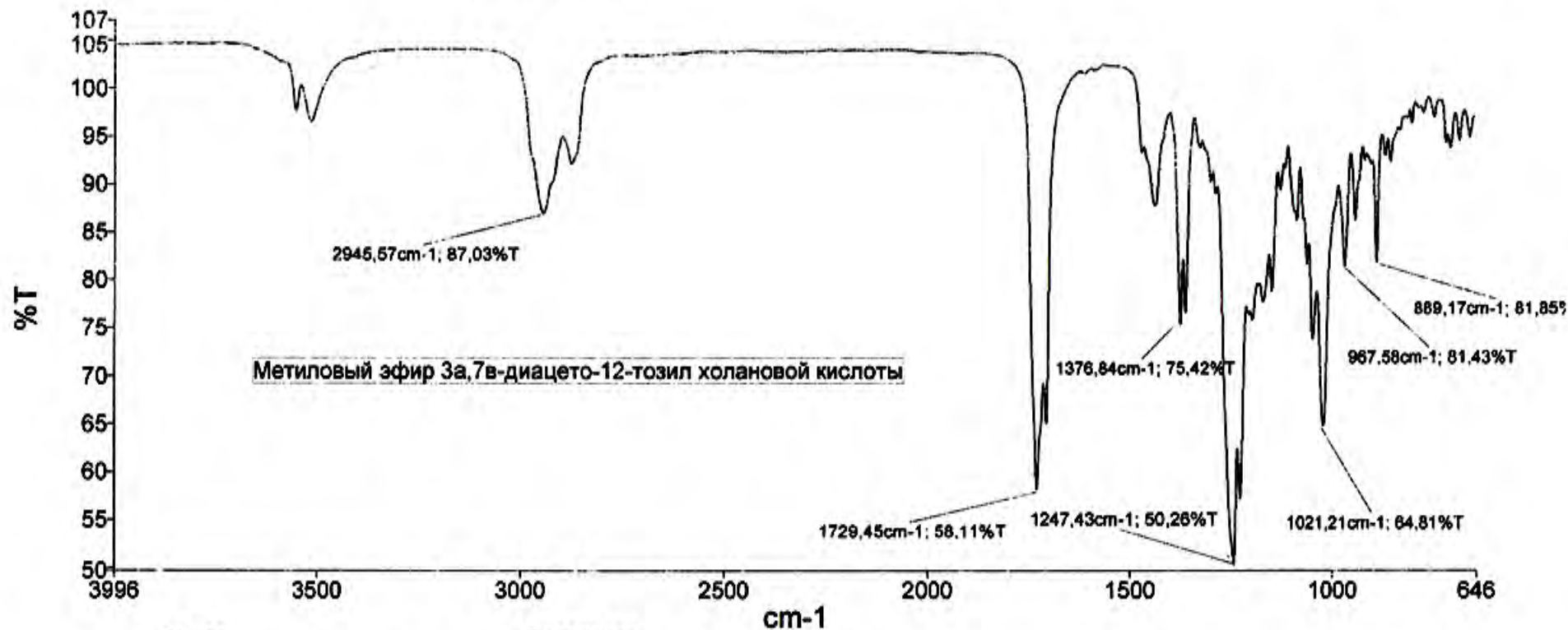
Таблица 5

Характеристика некоторых параметров тозилоксиэфиров холановых кислот

№	Название соединений	Выход, %	Т.пл, °С	Найдено Вычислено,		Брутто- формула
				% С	% Н	
32	Метилловый эфир- 3 α ,7 α -диацетокси-12-тозилоксиэфира-5 β -холановой кислоты	88	223-224	$\frac{65.23}{65.32}$	$\frac{7.89}{8.00}$	C ₃₆ H ₅₃ O ₉ S
33	Метилловый эфир 3 α ,7 α –дитозилоксиэфира-12-кето -5 β -холановой кислоты	88	181-182	$\frac{64.24}{61.10}$	$\frac{6.97}{7.11}$	C ₃₉ H ₅₂ O ₉ S ₂
34	Этиловый эфир-3 α ,7 β – дитозилоксиэфира - 5 β -холановой кислоты	91	98-99	$\frac{65.41}{65.33}$	$\frac{7.92}{7.89}$	C ₄₀ H ₅₈ O ₈ S ₂
35	Метилловый эфира 3 α ,тозилоксиэфира-7 β – гидрокси-5 β -холановой кислоты	88	142-143	$\frac{68.97}{71.77}$	$\frac{7.02}{10.28}$	C ₃₉ H ₄₈ O ₆ S ₂
36	Метилловый эфир 3 α ,-ацетокси-12 α – тозилоксиэфира-5 β -холановой кислоты	87	135-136	$\frac{71.43}{71.60}$	$\frac{9.38}{8.76}$	C ₃₄ H ₅₂ O ₇ S

Analyst
Date

PEService
16 апреля 2013 г. 14:21



Метилловый эфир 3 α , 7 α -диацето-12-тозил холановой кислоты

Name Description
PEService 11 Sample 011 By PEsService Date среда, февраля 27 2013

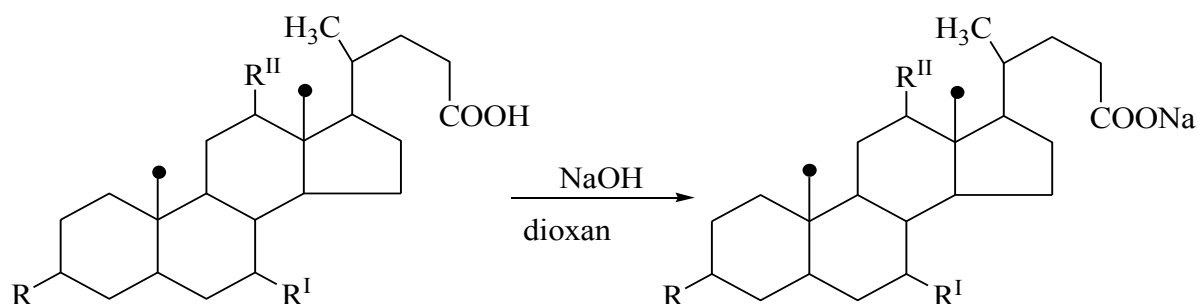
PEService 11 Sample 011 By PEsService Date среда, февраля 27 2013

Рисунок 4 - ИК-спектр метилового эфира 3 α , 7 α -диацетокси-12 α -тозилоксиэфира-5 β -холановой кислоты (32)

3.5. ПОЛУЧЕНИЕ ПРОПАН-1, 2-ДИОЛОВЫХ ЭФИРОВ ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ

Продолжая целенаправленные синтезы с целью получения веществ, обладающих холелитолитическими, гипохолестеринемическими, литолитическими и гепатопротективными свойствами, нами осуществлены некоторые реакции холановых кислот, с использованием карбоксильной группы. Для достижения этой цели изучены реакции нейтрализации холановых кислот, в результате чего были синтезированы их натриевые соли. Натриевые соли некоторых холановых кислот ранее были получены в запаянных ампулах при 60-65⁰С исходя из метилата натрия и соответствующих кислот [127].

По-другому можно получать натриевые соли холановых кислот при взаимодействии гидроксида натрия и с соответствующими кислотами в растворе диоксана при комнатной температуре:



где $R=R^{\text{II}}=\text{OH}$, $R^{\text{I}}=\text{H}$ (37); $R=R^{\text{II}}=\text{OH}$, $R^{\text{II}}=\text{H}$ (38); $R=R^{\text{I}}=\text{OH}$, $R^{\text{II}}=\text{H}$ (39);
 $R=R^{\text{I}}=\text{OH}$; $R^{\text{II}}=\text{OH}$ (40).

Все синтезированные натриевые соли холановых кислот хорошо растворяются в воде, но нерастворимы в эфире, ацетоне и петролейном эфире. Выходы натриевых солей, свойства и результаты элементного анализа приведены в таблице 6.

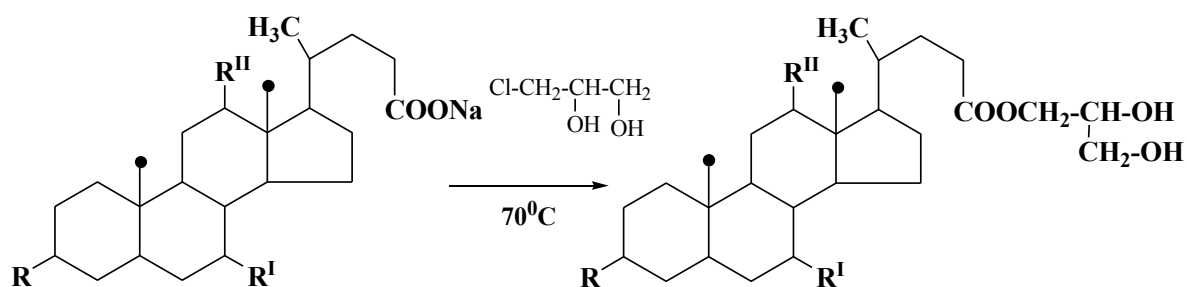
Таблица 6

Некоторые параметры натриевых солей холановых кислот

№	Натриевые соли	Выход, %.	Т.пл, °С	Найдено Вчислено		Брутто- формула
				% С	% Н	
37	3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты	94	192-194	<u>69.43</u> 69.54	<u>9.37</u> 9.48	C ₂₄ H ₃₉ O ₄ Na
38	3 α ,7 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты	96	Разлагается	<u>69.47</u> 69.54	<u>9.33</u> 9.48	C ₂₄ H ₃₈ O ₄ Na
39	3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты	93	222-224	<u>70.02</u> 69.70	<u>9.10</u> 9.22	C ₂₄ H ₃₉ O ₄ Na
40	3 α ,7 α - дигидрокси 12-кето-5 β - холановой кислоты	95	267-268	<u>67.15</u> 67.27	<u>8.59</u> 8.70	C ₂₄ H ₃₇ O ₅ Na

Все синтезированные натриевые соли холановых кислот (37-40) использованы в качестве исходных соединений для синтеза пропан-1,2-диолевых эфиров холановых кислот. Синтез проводили по известной методике [154].

Нами осуществлен синтез пропан-1,2-диолевых эфиров 3 α ,12 α -дигидрокси-(41), 3 α ,7 α -дигидрокси-(42), 3 α ,7 β -дигидрокси-(43), 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-(44) и 3 α ,7 α -дигидрокси-12-кето-5 β -холановых кислот-(45), путем взаимодействия натриевой солей соответствующих холановых кислот по схеме:

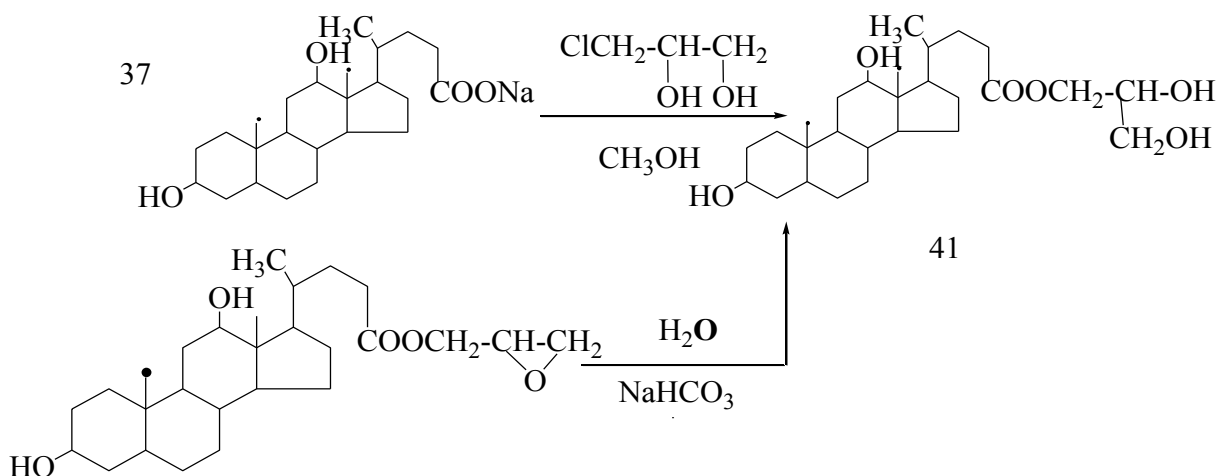


где $R=R^{\text{II}}=\text{OH}$, $R^{\text{I}}=\text{H}$ (41); $R=R^{\text{I}}=\text{OH}$, (42); $R=R^{\text{I}}=\text{OH}$, $R^{\text{II}}=\text{H}$ (43); $R=R^{\text{I}}=R^{\text{II}}=\text{OH}$; (44); $R=R^{\text{I}}=\text{OH}$; $R^{\text{II}}=\text{O}$ (45).

При изучении реакций получения пропан-1,2-диолевых эфиров холановых кислот оптимальными условиями оказались: температура 65-70 °С, время проведения реакции 7,5-8,0 час., соотношение реагирующих веществ-1:1. Все реакции проводились в среде метанола. Подобные условия обеспечивают выход (86-92 %) пропан-1,2-диолевых эфиров холановых кислот (41-45) и дают продукты с высокой степенью чистоты[156].

Строение соединений (41-45) было подтверждено методом ИК- и ПМР-спектроскопии, элементным анализом и встречным химическим синтезом. ИК-спектры показывают присутствие полос поглощения в областях, отнесенных к валентным колебаниям гидроксильных групп (3150-3450 cm^{-1}). В ИК-спектре соединения(45) вместо этого появляются полосы поглощения в области (1700-1720 cm^{-1}), сказывается наличие $>\text{C}=\text{O}$ групп углерода С-12. В таблице 7 представлены физико-химические характеристики, результаты элементного анализа и выход полученных

пропан-1,2-диолевых эфиров холановых кислот. В дальнейшем нами была предпринята попытка провести встречный синтез с целью установления строения пропан-1,2-диолевого эфира 3 α ,12 α -дигидроксихолановой кислоты (41). Для решения этой задачи нами была изучена реакция гидролиза моноглицидного эфира 3 α ,12 α -дигидроксихолановой кислоты, строение которого было доказано достаточно убедительно [20].

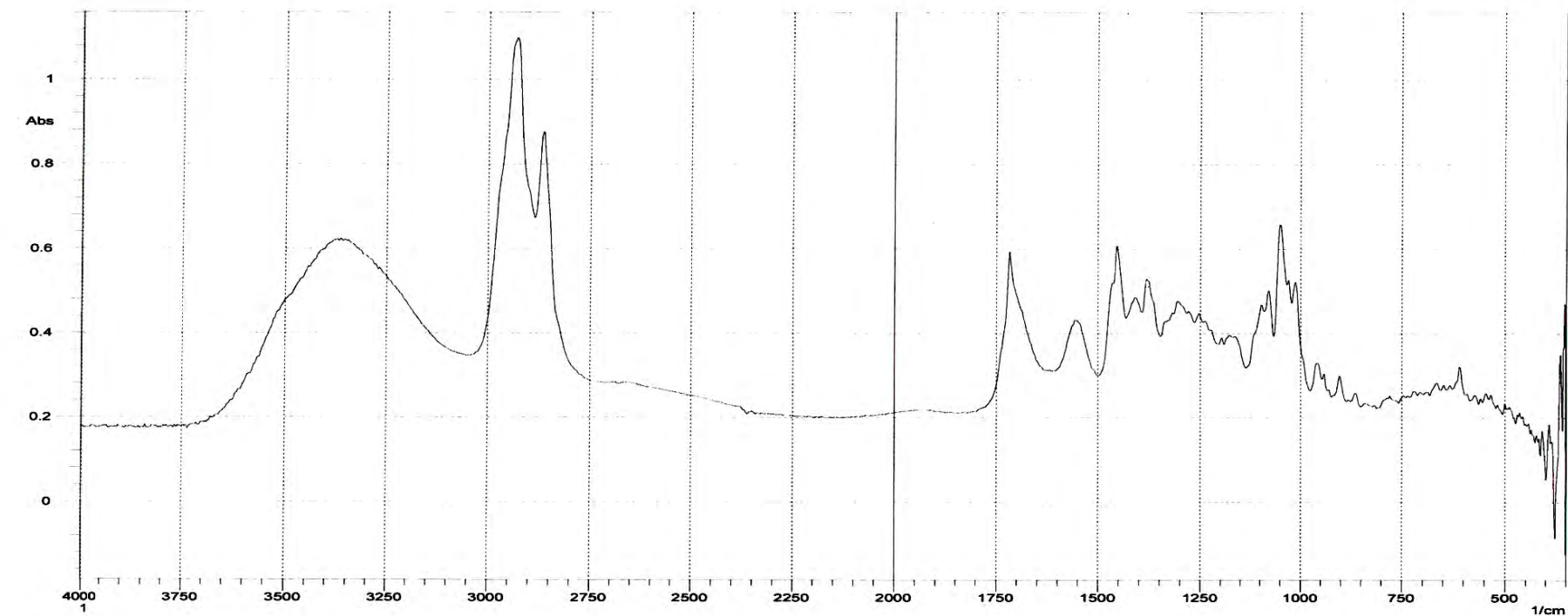


Полученный различными путями пропан-1,2-диолевый эфир 3 α ,12 α -дигидрокси-5 β -холановой кислоты (41) оказался совершенно идентичным по свойствам (ИК-спектральные характеристики, смешанная проба плавления). На рисунке 5 приведен ИК-спектр пропан-1,2-диолевого эфира 3 α ,7 β -дигидрокси-холановой кислоты (43). Таким образом, нами было исследовано поведение натриевых солей многофункциональных холановых кислот в реакции образования пропан-1,2-диолевых сложных эфиров(41-45), и показано, что проведение таких реакций вполне осуществимо, а также посредством их можно получить многочисленные производные холановых кислот, проявляющие себя как холелитические, гипохолестеринемические, гиполипидимические и гепатопротекторные средства [137,138].

Таблица 7

Характеристика пропан-1,2-диоловых эфиров холановых кислот

№	Название соединений	Выход, %	Т. пл, °С	Найдено, Вчислено		Брутто- формула.
				% С	% Н	
41	Пропан -1,2-диоловый эфир 3 α ,12 α – дигидрокси-5 β -холановой кислоты	91	183-184	<u>69.59</u> 69.47	<u>9.56</u> 9.95	C ₂₇ H ₄₆ O ₆
42	Пропан -1,2- диоловый эфир 3 α ,7 α – дигидрокси-5 β -холановой кислоты	89	149-150	<u>70.09</u> 69.47	<u>9.36</u> 9.95	C ₂₇ H ₄₆ O ₆
43	Пропан -1,2- диоловый эфир 3 α ,7 β – дигидрокси-5 β -холановой кислоты.	90	210-211	<u>69.27</u> 69.47	<u>9.46</u> 9.95	C ₂₇ H ₄₆ O ₆
44	Пропан -1,2- диоловый эфир 3 α ,7 α ,12 α – тригидрокси-5 β -холановой кислоты.	87	210-211	<u>67.33</u> 67.22	<u>9.58</u> 9.54	C ₂₇ H ₄₆ O ₇
45	Пропан -1,2- диоловый эфир 3 α ,7 α , дигидрокси 12-кето-5 β -холановой кислоты	86	127-128	<u>67.18</u> 67.28	<u>9.36</u> 9.41	C ₂₇ H ₄₆ O ₇



Comment;
1

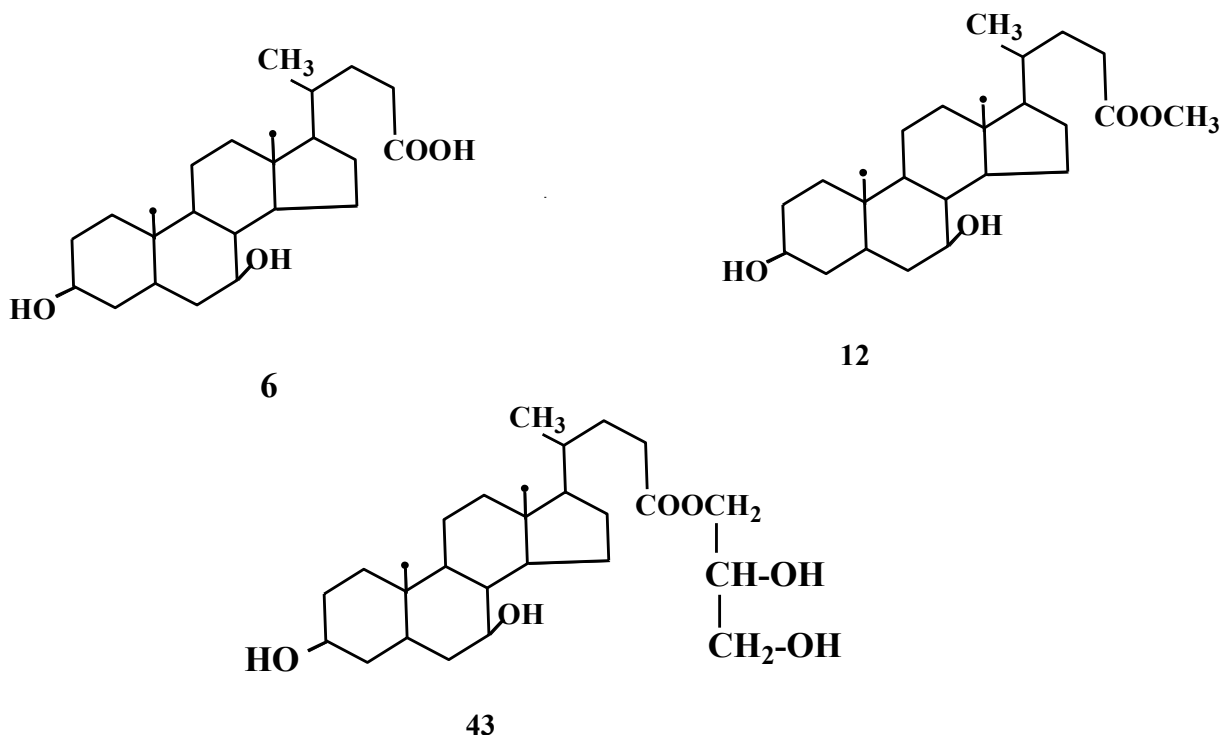
No. of Scans; 10
Resolution; 4 [1/cm]

Date/Time; 9/25/2013 11:16:01 AM
User; Admin

Рисунок 5-ИК-спектр пропан-1,2-дионового эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты (43).

3.6. ИЗУЧЕНИЕ СТРОЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3 α ,7 β – ДИГИДРОКСИ-5 β -ХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ

Для подтверждения строения ряда синтезированных соединений помимо методов элементного анализа встречного синтеза были применены ИК-и ПМР-спектроскопия.



Изучение ИК-спектров соединений (6, 12, 43) подтверждает факт протекания реакции, что объясняется появлением во всех спектрах интенсивных полос поглощений в области 3150-3450 см^{-1} , характеризующих наличие ОН-групп, и в области 1290 см^{-1} сложно-эфирного фрагмента. Как мы отметили, для подтверждения строения некоторых синтезированных производных 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты применялась и ПМР-спектроскопия. В ПМР-спектрах соединений (6, 12, 43) рисунки 7, 8, 9 имеются сигналы в области 0,68-0,70 м.д. и 0,9-1,00 м.д. в виде синглета эквивалентного 3 Н и 6 Н протонам, которые нами отнесены к 21, 18, 19 метильным группам. Сигналы в виде мультиплета в области 1,0-2,0 м.д. отнесены к циклическим метиленовым протонам сигналы. Алициклических

метиленовых протонов С 20-23 наблюдаются в области 2.15-2.50 м.д. в виде мультиплета.

Для соединений (6, 12) сигналы протонов ОН-групп имеются в области 3,6 м.д., а первого из них (6) эти синглеты смещены в область 3,7 и 4,0 м.д., так как метиленовые протоны С-25, 27 обнаружены в области 3,5-3,7 м.д. Таким образом, интерпретация рассмотренных спектров соединений (6, 12, 43) позволяет подтвердить их строение.

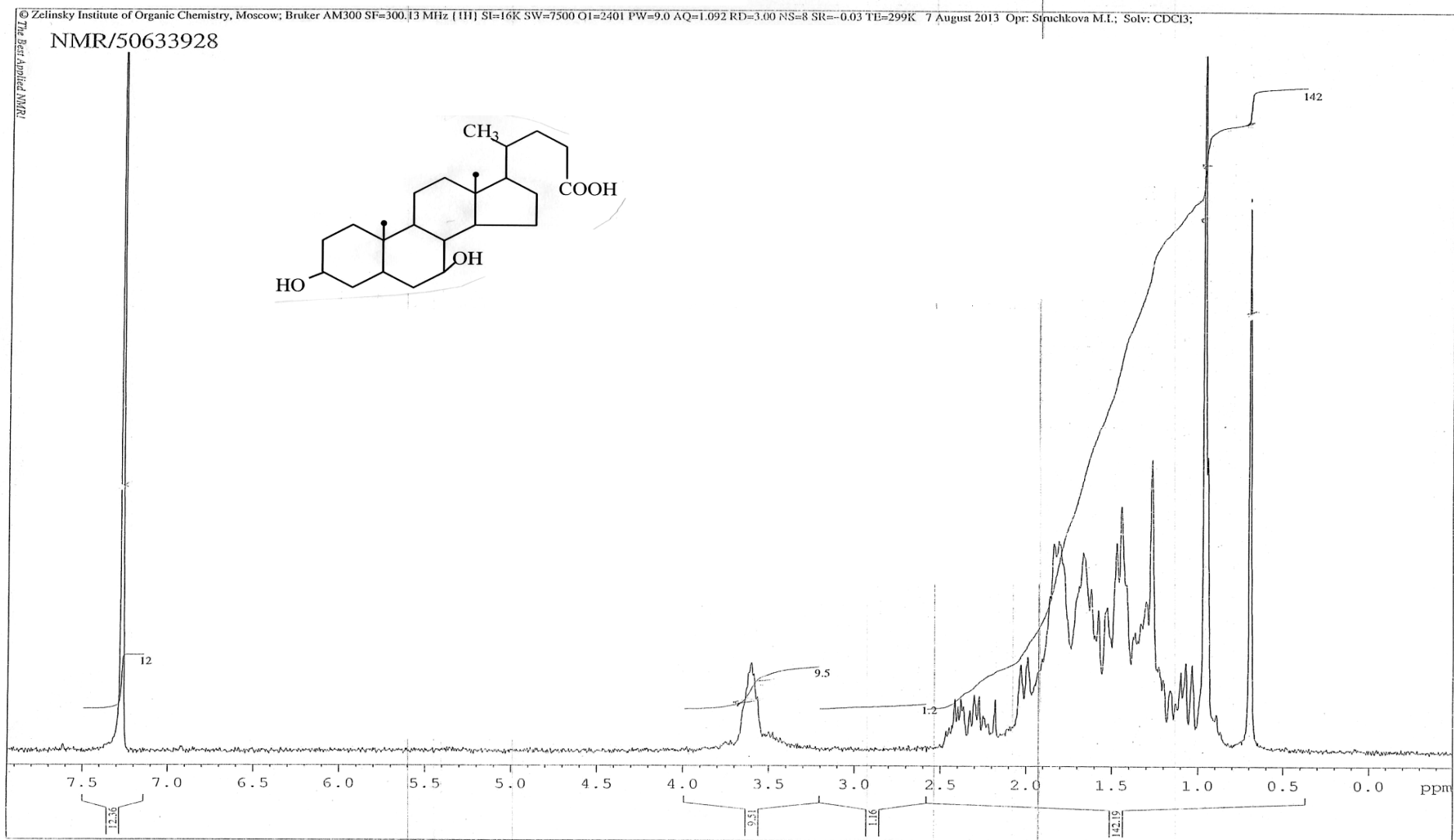


Рисунок 6 -¹H-PMР-спектр 3α,7β-дигидрокси-5β-холановой кислоты (6).

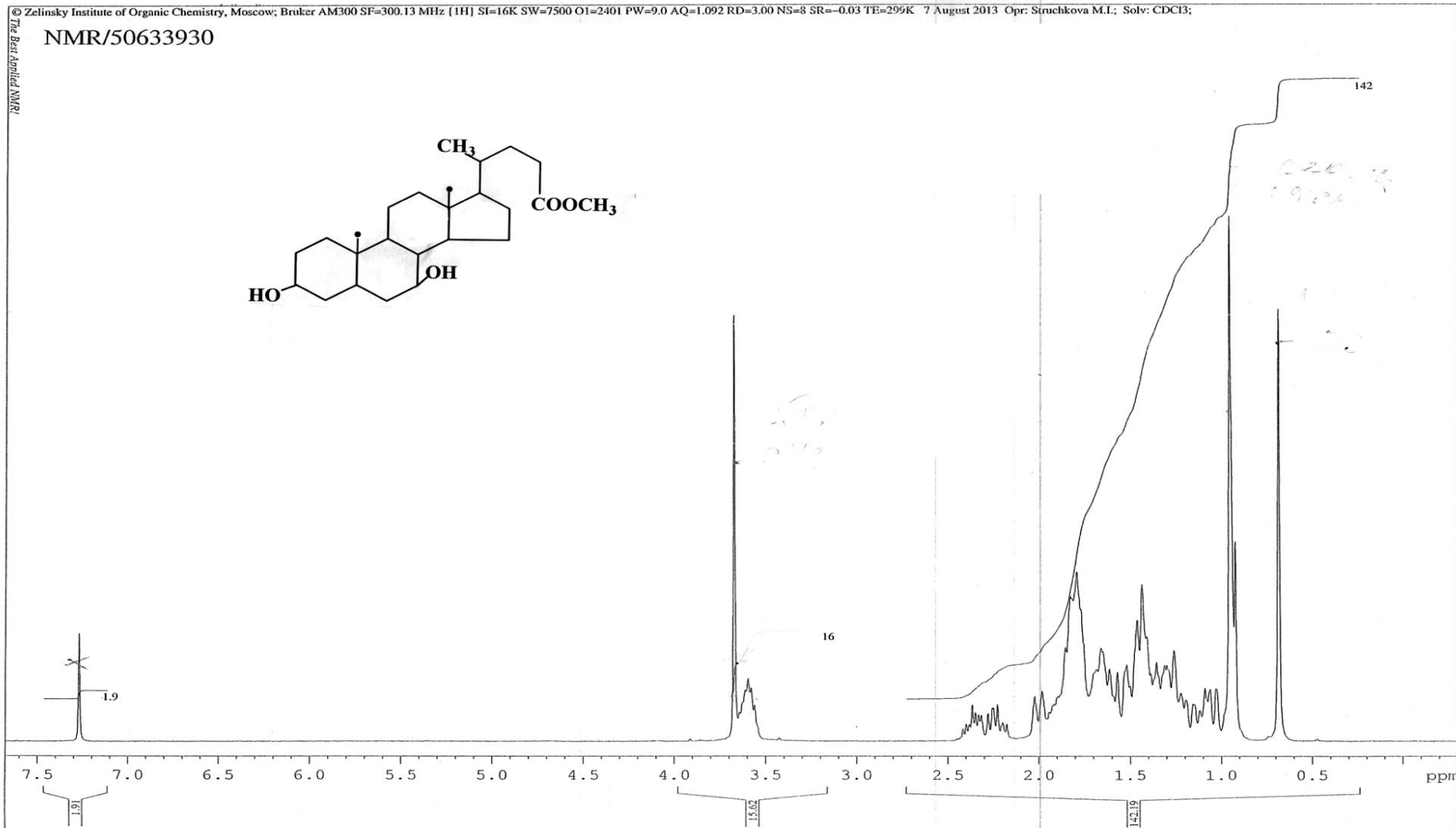


Рисунок 7 -¹H-PMР-спектр метилового эфира 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты (12).

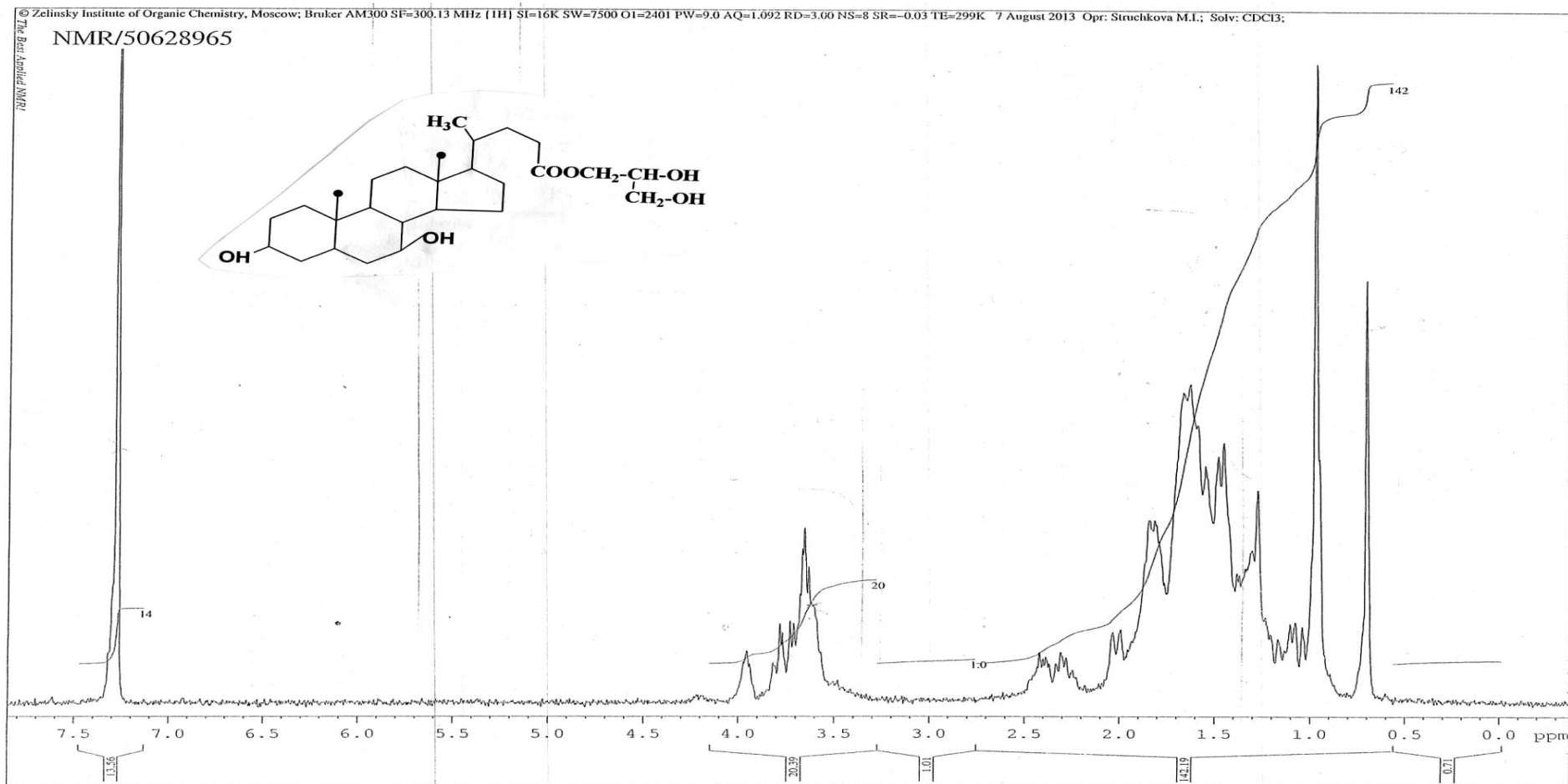


Рисунок 8 -¹H-PMР-спектр пропан-1,2-диолового эфира 3α,7β-дигидрокси-5β-холановой кислоты (43).

ГЛАВА IV. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ РЯДА ХОЛАНОВЫХ КИСЛОТ

С целью выявления полезных свойств и возможных областей использования стероидных соединений, некоторые модифицированные холановые кислоты прошли предварительные испытания как возможные биологически активные вещества на примере литолитических, гипохолестринимических, гиполипидемических, гепатопротективных и антимикробных свойств. Полученные результаты по газохроматографическому определению содержания высших жирных и холановых кислот в сыворотке крови можно использовать с целью диагностики и эффективного лечения больных желчнокаменной болезнью, а также при других патологиях печени.

4.1. ИЗУЧЕНИЕ ХОЛЕЛИТОЛИТИЧЕСКИХ ГИПОХОЛЕСТРИНОМИЧЕСКИХ И ЖЕЛЧЕГОННЫХ СВОЙСТВ ПРОПАН-1,2-ДИОЛОВОГО ЭФИРА $3\alpha,7\beta$ -ДИГИДРОКСИ- 5β - ХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ

Пропан-1,2-диоловый эфир $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты (сокращено назван «Урсослит») в соответствии с настоящей работой представляет собой новое, неописанное в литературе, производное $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты относящееся к группе стероидов типа холановых кислот, и проявляет лучшее холелитолитическое, желчегонное, гепатопротективное, гипохолестеринемическое и гиполипидемическое действие. Эти свойства проявляются за счёт сложноэфирной группы.

С целью изучения холелитических и гипохолестеринемических, желчегонных свойств пропан-1,2-диоловый эфир $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты нами были проведены эксперименты на 20 хомяках обоего пола, с массой тела 55-70 г. Хомяки были разделены на следующие группы:

1-животные интактные, находящиеся на обычном рационе питания в виварии; 2-нелеченных хомяка, получившие в течение 6 месяцев холелитогенную диету; 3 –экспериментальные, которым наряду с ХГЛД в

течение 6 месяцев ежедневно внутривенно вводили пропан -1,2 – диоловый эфир 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты в дозе 50 мг/кг массы, 4 –хомяка, которые параллельно получали ХГЛД и «Урсофальк» в дозе 50 мг/кг массы.

О действии исследуемых соединений судили:

1. по количеству и проценту оставшихся в живых в течение 6 месяцев хомяков;
2. по количеству и проценту хомяков с наличием камней;
3. по изменений содержания основных холановых кислот;
4. по анализу химизма собранной пузырной желчи у экспериментальных и контрольных хомяков;
5. по результатам концентрации желчных кислот, которые установлены методом (ГЖХ).

С этой целью после забоя животных методом декапитации, вскрывали брюшную полость, затем после сбора желчи производили подсчет и измерение конкрементов. Подсчет песка в составе желчи производился под лупой, а измерение размеров конкрементов – с помощью миллиметровой бумаги[139]. В результате проведенных экспериментов было установлено: в желчном пузыре у 4 (80 %) из 5 хомяков, получавших в течение 6 месяцев сухую ХГЛД, были обнаружены конкременты разного размера. Их среднее число на 1 животное составляло 5.6 ± 0.13 ($P < 0.001$) против 0.25 ± 0.04 штук у интактных животных (табл.8, рис. 9,10).

При рассмотрении желчного пузыря интактных хомяков, только в 3 случаях обнаружено наличие камней размером 2-6 мм, среднее количество которых составляло лишь $0,25 \pm 0.04$ штук. В тоже время, концентрация суммарных холановых кислот уменьшалась в 3 раза ($P < 0.001$), а содержание фосфолипидов почти в 3,5 раза ($P < 0.001$), у контрольных животных снижался в 2,5 раза ХХК ($P < 0.01$).

Таблица 8

Темп развития холелитаза и характера конкрементов желчного пузыря у интактных и опытных хомяков, получавших в течение 6 месяцев холелитогенно-гиперлипидемическую диету (ХГЛД)

№ п/н	Серия опытов и дозы в мг/кг массы (число животных)	Число и % животных с конкрементами в желчном пузыре	Среднее число конкрементов на 1-животное, в т.ч.		
			Всего:	Каменей 2-6мм	песка
1	Интактные (обычная диета) (5)	1 (20 %)	0,25±0,04	0,125±0,2	-----
2	Контроль +ХГЛД(5)	4 (80 %)	$\frac{5,6 \pm 0,13}{0,005}$	$\frac{3,8 \pm 0,08}{0,0035}$	2,2±0,2
3	ХГЛД+«Урсолит» 50мг/мл 1-раз в день в течение 6-месяцев (5)	1 (20 %)	0,025	0,025	-----
4	ХГЛД+Урсофальк в дозе 50мг/кг 1-раз в день в теч 6-месяцев (5)	2 (60 %)	$\frac{1,45 \pm 0,01}{0,005}$	$\frac{2,1 \pm 0,3}{0,003}$	$\frac{1,1 \pm 0,3}{0,01}$



Рисунок 9- Лечебное действие «Урсослит»-а при экспериментальном холелитиазе



Рисунок 10 - Эффективность «Урсослит»-а при экспериментальном холелитиазе

*Урсофальк это 3 α ,7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты

«Урсослит» в дозе 50 мг/кг массы тела, вводимый 1 раз в день в течение 6 месяцев, по всем результатам биохимических показателей, предупреждал появление в результате приема ХГЛД изменения состава желчи. При дифференцировании конкрементов желчного пузыря, собранных у экспериментальных и контрольных хомяков в зависимости от цвета их окраски были найдены следующие закономерности: все (100 %) конкременты желчного пузыря интактных животных имели черную окраску (рис. 9). В тоже время, конкременты желчного пузыря хомяков, получавших в течение 6 месяцев сухую ХГЛД в 85 % случаев имели бледно-желтую окраску. Конкрементов с коричневой окраской было 9.6 %, а с черной—5,4 %.

В группе животных, ежедневно получавших в течение 6 месяцев наряду с сухой ХГЛД еще и исследуемый «Урсослит» в дозе 50 мг/кг массы, только в желчном пузыре 1 животного из 5 был обнаружен 1 камень размером 2.0 мм. Песок и мелкие камни во всех случаях отсутствовали. У животных, получавших по той же схеме Урсофальк в дозе 50 мг/кг массы, конкременты в желчном пузыре были обнаружены в 3 из 5 случаев, что составило 60 %.

Таким образом, «Урсослит» в дозе 50 мг/кг массы тела в среднем в 3-4 раза активнее предупреждал возникновение холелитиаза у подопытных хомяков, чем «Урсофальк» в той же дозе. Обнаружение излишних камней разного размера свидетельствует о малой степени эффективности «Урсофальк»-а при холелитиазе по сравнению с «Урсослит»-ом.

Биохимическими исследованиями было установлено, что у хомяков, находившихся в течение 6 месяцев на холелитогенной диете, литогенность желчи повышена. При анализе обнаружено повышение холестирина и билирубина ($P < 0,001$) (таб. 9). Под действием урсослита содержание холестерина в составе желчи в среднем уменьшилось до 4.5 ± 0.007 ммоль/л по сравнению 9.2 ± 0.02 ммоль/л у нелеченных животных. Содержание (СЖК) под действием «Урсослит» -а в среднем увеличивалось до 6.5 ± 0.022 г/л (у нелеченных животных 3.5 ± 0.023).

Таблица 9

**Химизм желчи, получавших в течение 6 месяцев холитогенно – гиперлипидимическую диету (ХГЛД), лечение пропан -1,2 –диоловым эфиром 3 α ,7 β -дигидрокси-холановой кислоты (Урсослит).
(в среднем 4-5хомяков в каждой группе)**

№	Серия опытов и дозы в мг/кг массы	Показатели химизма желчи $\overline{M+m}$ $P<0,06$				
		Общий холестерин ммоль/л	Общий билирубин, мкмоль/л	Сумма желчных кислот, г/л	Общие фосфолипиды, г/л	Холато-холестр. коэффициент (ХХК)
1	Интактные	6,9 \pm 0,001	7,1 \pm 0,02	3,5 \pm 0,23	1,9 \pm 0,033	0,50 \pm 0,0005
2	Контроль +ХГЛД	$\frac{9,2\pm 0,02}{0,01}$	$\frac{9,9\pm 0,01}{0,001}$	$\frac{1,0\pm 0,05}{0,001}$	$\frac{1,2\pm 0,01}{0,001}$	$\frac{0,10\pm 0,015}{0,001}$
3	Пропан -1,2 – диоловый эфир 3 α ,7 β -дигидрокси-холановой кислоты «Урсослит»	$\frac{4,5\pm 0,0073}{0,001}$	$\frac{1,7\pm 0,03}{0,001}$	$\frac{6,5\pm 0,022}{0,001}$	$\frac{3,081\pm 0,039}{0,001}$	$\frac{1,4\pm 0,003}{0,001}$
4	3 α ,7 β -дигидрокси-холановой кислота «Урсофальк»	$\frac{5,4\pm 0,05}{0,01}$	$\frac{4,0\pm 0,018}{>0,2}$	$\frac{2,7\pm 0,04}{>0,2}$	$\frac{1,4\pm 0,01}{>0,2}$	$\frac{0,5\pm 0,02}{>0,2}$

Примечание: Значение P для контрольной серии даны по сравнению с интактными, а для подопытной серии с помощью «Урсослит»-а УДХК и по сравнению с контрольной группой.

Концентрация общих фосфолипидов в составе желчи у леченных «Урсослит»-ом хомяков возрастала в 3 раза, а содержание билирубина уменьшалось на 65,6 %. ХХК под действием «Урсослит»-а увеличивалось.

Урсофальк по всем изучаемым показателям действовал намного слабее «Урсослит»-а. В среднем эти показатели составляли: гипо-холестеринемический эффект-на 76,3 %; повышение СЖК–на 67,0 %; концентрация фосфолипидов-на 200%; ХХК – на 290 %. Концентрация билирубина в составе желчи у животных, получавших «Урсофальк», оставалась без изменения или же была несколько ниже, чем у нелеченых хомяков. С целью проведения биохимического исследования по изучению литолитических свойств «Урсослит»-а, конкрементов, необходимо было определить концентрацию холановых кислот в желчи газохромато-графическим методом [162].

Обобщая эксперименты можно сделать следующее заключение: «Урсослит» проявляет выраженное холелитическое, гипохолестеринемическое, гиполипидемическое и гепатопротективное действие, повышает содержание суммарных желчных кислот и фосфолипидов, уменьшает высокую литогенность желчи.

«Урсослит» проявляет активное лечебное действие при экспериментальном холелитиазе и по степени эффективности превосходит активность урсодезоксихолевой кислоты. Это проявляется:

а) в более активном (на 30%) предупреждении образования конкрементов в желчном пузыре и резком уменьшении (в 3-4 раза) среднего количества желчных камней и полном отсутствии песка в желчевыводящих путях животных;

б) в восстановлении химизма желчи, проявляющемся в уменьшении содержания холестерина (на 30 %), увеличении суммы желчных кислот (на 40-50 %), повышении содержания фосфолипидов (на 105 %), снижении уровня билирубина и увеличении холато-холестеринового коэффициента в 2,5 раза;

«Урсослит» относится к истинному литолитическому, гипопротективному средству, а проведенные исследования дают

возможность рекомендовать его для лечения и профилактики желчно-каменной и других болезней печени.

С целью получения более точной информации по литолитической способности пропан-1,2-дионового эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидроксихолановой кислоты, необходимо было уточнить содержание холановых кислот в желчи и в сыворотке крови у экспериментальных животных методом ГЖХ.

В качестве иллюстрации приведены два примера. На рисунке 11 представлена хроматограмма метиловых эфиров холановых кислот до и после воздействия пропан-1,2-дионового эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси-холановой кислоты. До введения пропан-1,2-дионового эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты количество $3\alpha,12\alpha$ дигидрокси- 5β -холановой кислоты составило 0,37 мг/мл; $3\alpha,7\alpha$ -дигидроксихолановой кислоты 0,90; $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси-холановой 0,85 мг/мл, в то время как в конт-рольной группе на хроматограмме содержание $3\alpha,12\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты 0,48; $3\alpha,7\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты-1,11; $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой-0,68 мг/мл. (рис.11). На фоне введения «Урсослит»-а количество $3\alpha,12\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты составляло 0,44; $3\alpha,12\alpha$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты 1,48; $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты 0,73 мг/мл. Как видно из приведённых хроматографических данных, новые соединения нормализуют содержание холановых кислот, повышая тем самым стабилизацию желчи, препятствуют процессу камнеобразования. Таким образом, предположенная сухая холитогенная диета при длительном введении способствовала развитию холилитаза у более 80 % хомяков

Из проведенных исследований можно сделать следующее заключение: пропан-1,2-дионовый эфир $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты, проявляет выраженное гиполипидемическое, гипохолестеринимическое действие, повышает содержание суммарных холановых кислот и фосфолипидов, уменьшает высокую литогенность желчи.

Восстановление химизма желчи проявляется в уменьшении содержания холестерина на 30 %.

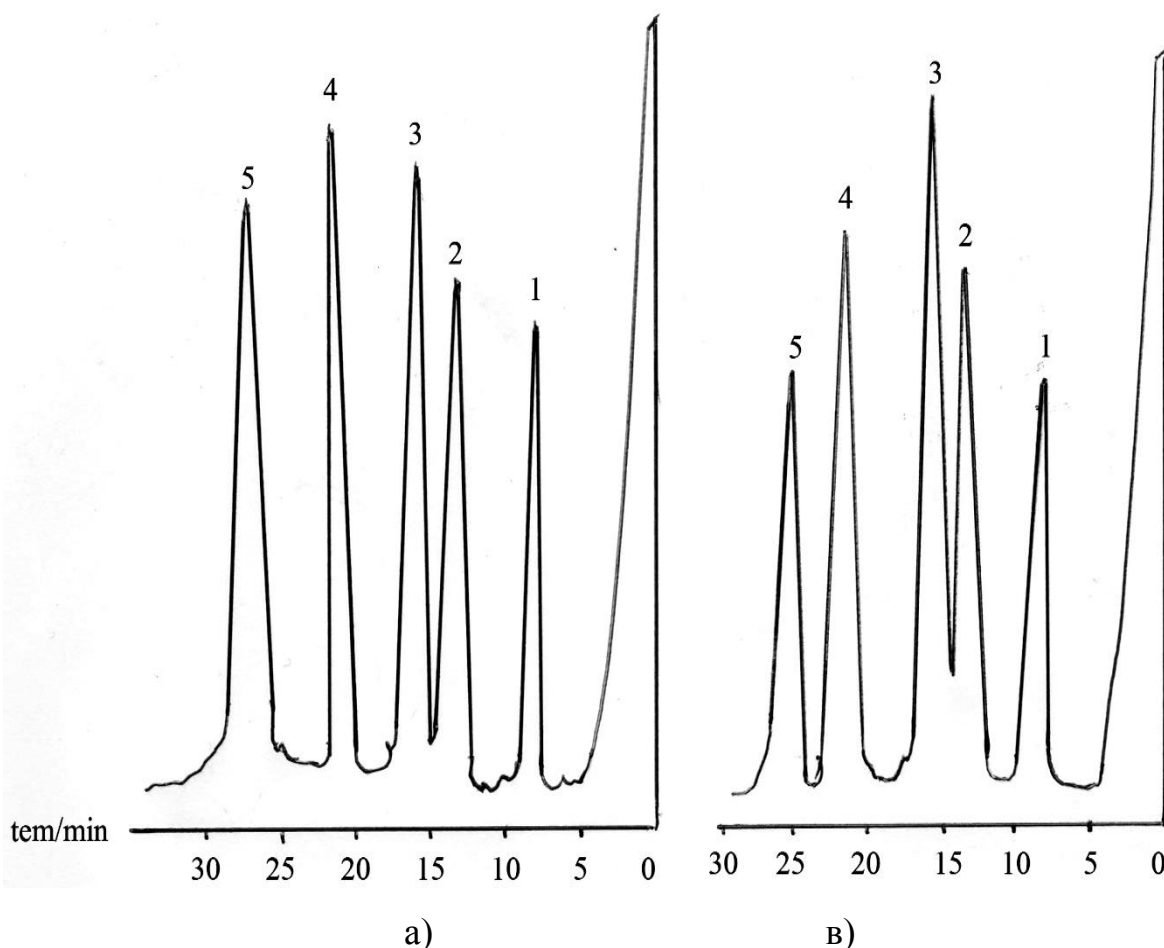


Рисунок 11 - Хроматограмма метиловых эфиров холановых кислот в желчи у экспериментальных животных до (а) и после (в) введения пропан-1,2-диолового эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидрокси- 5β -холановой кислоты.
 1.- 3α -гидрокси- ; 2. - $3\alpha,12\alpha$, дигидрокси-; 3.- $3\alpha,7\alpha$ дигидрокси-;
 .- $3\alpha,7\alpha$,дигидрокси-12-кетохолановой кислоты-; 5.- $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидроксихолановых кислот. .

4.2. ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ 12α -ТОЗИЛ-ОКСИЭФИРА $3\alpha,7\alpha$ -ДИАЦЕТОКСИ- 5β -МЕТИЛХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ (32)

Создание антибактериальных препаратов для лечения болезней, вызываемых микробами, считается одной из важнейших достижений органической и фармацевтической химии [163]. В связи с этим, с помощью комплекса стандартных методик нами был проведен фармакологический скринг синтезированных тозилоксиэфиров различного строения (32-36).

Наши исследования в данном направлении посвящены изучению противомикробной активности 12α -тозилоксиэфира $3\alpha,7\alpha$ -диацетокси- 5β -

метилхолановой кислоты (32). Эксперименты по определению токсичности и переносимости полученных соединений проводили на лабораторных животных. Эксперимент проводили при трех повторения. Опыты показали, что максимально переносимая доза (МПД) соединения (32) для белых мышей равна ЛД₅₀ 820 мг/кг, ЛД₁₀₀ – 965 мг/кг. Смертельная доза ЛД₁₀₀ - 1370 мг/кг.

Таблица 10

Параметры токсичности исследованных соединений

Соединение	Параметры токсичности, мг/кг		
	МПД	ЛД ₅₀	ЛД ₁₀₀
12 α -тозилоксиэфира 3 α ,7 α ,- диацетокси-5 β -метилхолановой кислоты(XXXII)	820	965	1370
Этоний	265	510	990

Подкожное введение соединения (32) однократно в течение 7 дней морским свинкам в дозе 0,018 г/кг живой массы не вызывает каких-либо изменений от физиологических норм. При патологоанатомических вскрытиях, макроскопическом изучении печени, селезенки, почек, мышц, надпочечника и лимфатических узлов изменений не зарегистрировано. Из данных эксперимента видно, что соединение (32) является нетоксичным.

В таблице 10 приведены данные об острой токсичности соединения и сравнительного препарата этония при подкожном введении мышам. Противомикробная активность 12 α -тозилоксиэфира 3 α ,7 α -диацетокси-5 β -метилхолановой кислоты *in vitro* определена методом серийного разведения по отношению к половым культурам: стафилакокку, нокардии, коринбактерии, пастареллам, выделенным из больных респираторными заболеваниями животных. Подавляющая концентрация активности 12 α -тозилоксиэфира 3 α ,7 α ,-диацетокси-5 β -метилхолановой кислоты составляла

по отношению к стафилакокку - 35,2 - 60,3 мкг/мл, нокардии -145-238, коринбактерии -138-159 и пастарелам - 95-110 мкг/мл.

Надо отметить, что соединение(32) обладает выраженным бактерацидным действием к полевым штаммам, стафилакокку, нокардии, коринбактерии, пастареллам и не уступает известному препарату этоним [139].

4.3. Газохроматографическая оценка сывороточных высших жирных и холановых кислот у больных жировой болезнью печени

До настоящего времени в литературе нет достаточных сведений о содержании высших жирных кислот в сыворотке крови больных жировой болезнью печени, а так же нет информации о количественной взаимосвязи между высшими жирными кислотами, холестеролом с холановыми кислотами, количестве отложившихся триглицеридов, и из каких высших жирных кислот они образуются. Известно, что в условиях гиперинсуленемии в жировой ткани нарастает липолиз с высвобождением большого количества свободных жирных кислот в печени, снижение скорости окисления которых приводит к отложению триглицеридов в гепатоцитах, что способствует развитию её жировой болезни. Известна диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени [140,141], включающая выполнение биохимического анализа крови и выявляющая поражение печени.

Известны другие сообщения о диагностике неалкогольной жировой болезни печени [142], которая основывается на изучении биопсии печени. Данный способ не позволяет конкретно определить степень участия насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Однако, морфология жировой болезни печени не позволяет конкретно определить степень участия насыщенных жирных кислот в развитие этого процесса.

Есть другая информация установления диагноза жировой болезни печени [143], включающая исследование количества липидов в сыворотке крови.

Сущность данного исследования заключается в том, что основной причиной развития ожирения является повышенное содержание в печени свободных ненасыщенных жирных кислот. В данной работе авторы не использовали метод газовой хроматографии и там не определено содержание жирных кислот каждой по отдельности. В сыворотке крови у больных жировой болезнью печени также не выявлено количество отложившихся триглицеридов в гепатоцитах. В связи с этим, не проведены газохроматографические анализы с составляющими компонентами триглицеридов, т. е. из каких высших жирных кислот они состоят.

Результаты определения уровня высших жирных кислот в сыворотке крови здоровых лиц и больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом представлены в таблице 11. Показано, что у здоровых людей среди насыщенных жирных кислот 29 % составили пальмитиновая ($C_{16:0}$ 19,50 %) и стеариновая ($C_{18:0}$ 9,50 %), причём процентное содержание пальмитиновой кислоты было почти в 2 раза выше, чем стеариновой [144].

Что касается мононенасыщенных жирных кислот, в основном преобладала олеиновая кислота ($C_{18:1}$), содержание которой составляло 24,05 %. Из полиненасыщенных жирных кислот была повышена концентрация линолевой ($C_{18:2}$) и арахидоновой ($C_{20:4}$) кислот и составляла 22,80 и 8,80 %, соответственно. Данные таблицы свидетельствуют, что содержание насыщенных жирных кислот в сыворотке крови больных оказалось повышенным по сравнению с контролем и составило в среднем 36,31 31,13; 34,83 и 73,42 % от общей суммы высших жирных кислот, среди которых преобладали пальмитиновая ($C_{16:0}$ 60,08 %) и стеариновая ($C_{18:0}$ 42,19 %) кислоты. Отмечено также заметное повышение концентрации мононенасыщенной олеиновой кислоты - 99,94 %.

Если обратить внимание на содержание полиненасыщенных жирных кислот на примере линолевой и арахидоновой кислот, то их сумма в среднем составляет 30,28 %, а в случае стеатогепатитов 13,65 %. Как видно, содержание линолевой кислоты снижается до 13,65 % , линоленовой – до

16,50 % и арахидоновой -до 33,20 %. В случае стеатогепатита содержание линолевой кислоты составляет 13,65 %, линоленовой -16,50 % и арахидоновой - 33,29% (см. табл. 11). На рисунке 12 приведена контрольная хроматограмма высших жирных кислот. На основе проведенных исследований можно отметить, что у больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом по сравнению с контрольной группой значительно возросло содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот [144]. На основе полученных данных таблицы 11 построен график зависимости уровня жирных кислот от стадии заболевания (рис.13).

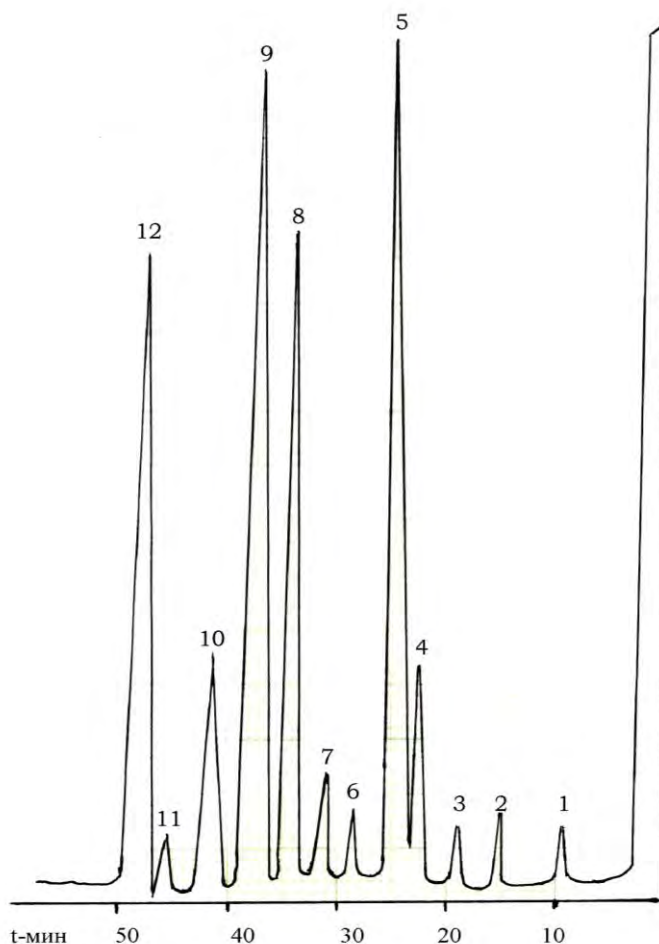


Рисунок 12 - Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот в сыворотке крови у здоровых людей. 1- $C_{10:0}$, 2- $C_{14:0}$, 3- $C_{15:0}$, 4- $C_{16:1}$, 5- $C_{16:0}$, 6- $C_{17:1}$, 7- $C_{18:0}$, 8- $C_{18:0}$, 9- $C_{18:1}$, 10- $C_{18:2}$, 11- $C_{18:3}$, и 12- $C_{20:4}$

Таблица 11

Содержание жирных кислот в сыворотке крови здоровых лиц, больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом (в % от общего содержания, М±m).

Жирные кислоты	Практически здоровые (n=22)	С Т Е А Т О З			Стеатогепатит (n=21)
		I ст. (n=21)	II ст. (n=39)	III ст. (n=39)	
Пальмитиновая	19,50±0,70	22,90±0,78	18,61±0,64	18,57±0,63	47,93±1,71
Стеариновая	9,50±0,55	13,41±0,78	12,52±0,73	16,26±0,94	25,49±1,47
Олеиновая	24,05±0,94	32,2±1,25	29,63±1,15	38,11±1,4	57,23±2,24
Линолевая	22,80±0,31	8,35±0,10	11,45±0,14	10,41±0,12	13,65±0,17
Линоленовая	6,62±0,09	7,28±0,09	7,08±0,09	3,55±0,047	16,50±0,22
Арахидоновая	8,80±0,27	15,80±0,49	11,77±0,36	7,77±0,24	33,29±1,10
Сумма:					
∑ Насыщенных	29±1,41	36,57±1,74	31,13±1,48	34,83±1,66	73,42±3,57
∑ Мононенасыщенных	24,05±1,04	32,2±1,25	29,63±0,88	38,11±1,49	57,23±2,24
∑ Полиненасыщенных	38,22±1,69	31,43±1,37	30,03±1,31	21,73±0,95	63,44±2,79

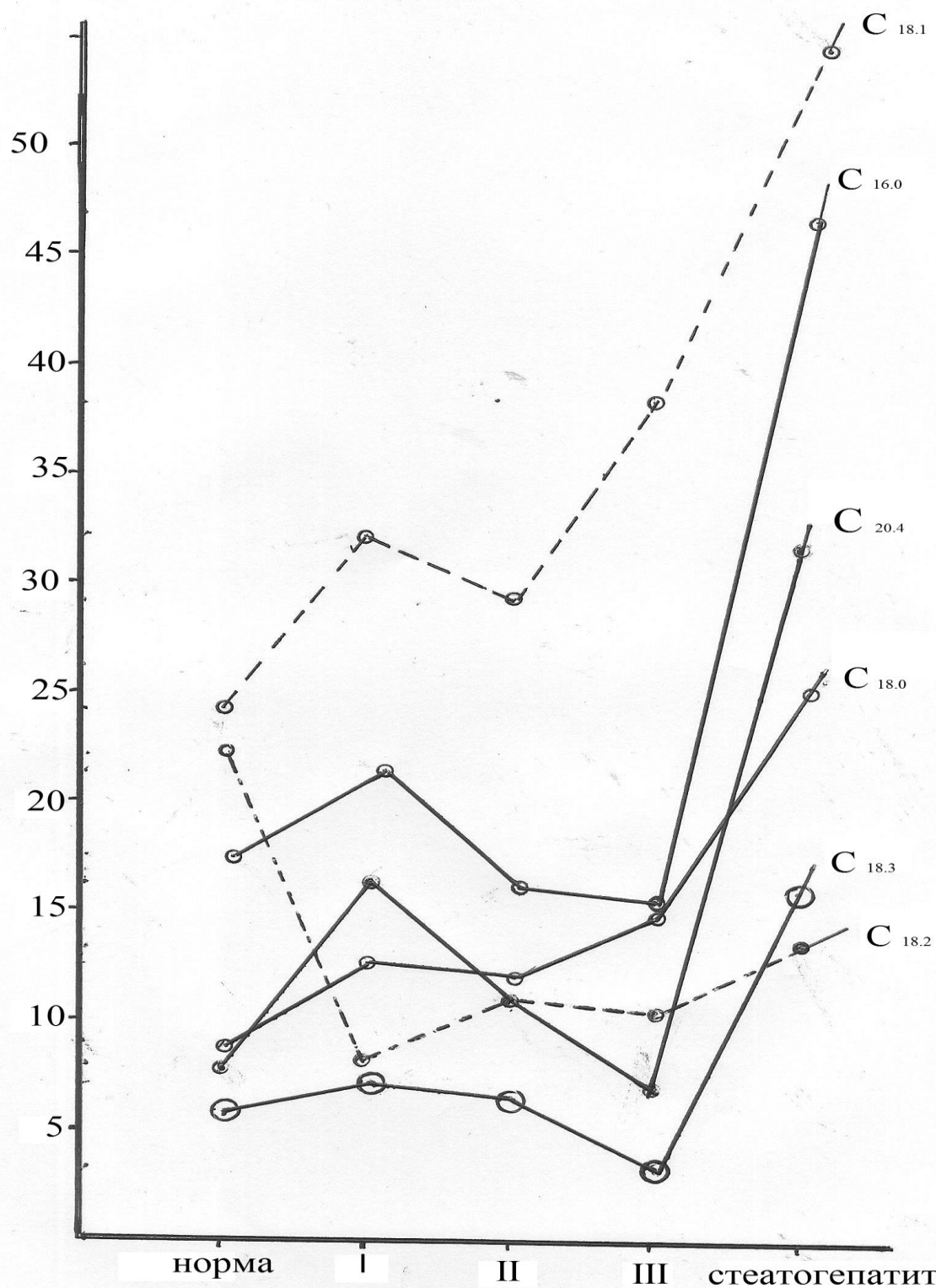


Рисунок 13 - График зависимости содержания высших жирных кислот в сыворотке крови здоровых лиц и больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом.

Это явление можно охарактеризовать следующим образом: при снижении скорости окисления содержание свободных насыщенных жирных

кислот и их концентрация в печени увеличивается, что приводит к отложению избыточного количества триглицеридов в гепатоцитах, в результате чего происходит накопление большого количества липопротеидов очень низкой плотности. В этом случае, отложившиеся триглицериды образуются в основном из насыщенных жирных кислот.

Результаты газохроматографического анализа свидетельствуют о тесной связи развития неалкогольной жировой болезни печени с абдоминальным процессом, так что ожирение печени можно объяснить увеличенным поступлением насыщенных жирных кислот непосредственно к печени по воротной вене. На основе полученных результатов и построен график зависимости концентрации высших жирных кислот сыворотке крови здоровых лиц и больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом. Таким образом, представленные данные являются достоверными и их можно использовать, в качестве дополнительного теста с целью постановки точного диагноза и эффективного лечения больных стеатозом и стеатогепатитом [145, 146]. Исходя из этого, разработка достоверных и доступных методов определения содержания холестерина, холановых и жирных кислот играет важную роль для диагностики различных заболеваний печени. Разработка оптимальных условий определения холановых кислот и использование этих результатов для диагностики жировой болезни печени в соответствии с настоящим исследованием, представляет собой важный вопрос, неописанный в литературе. Анализ литературных данных [147] показывает, что свободные жирные кислоты, в большом количестве высвобождающиеся из жировой ткани брюшной полости, поступают по воротной вене в печень, а затем в системный кровоток. Жирные кислоты, поступающие в системный кровоток, нарушают функцию инсулиновых рецепторов и усугубляют инсулин-резистентность.

Избыточное поступление жирных кислот в печень приводит к усилению синтеза в ней триглицеридов и липопротеидов очень низкой плотности,

увеличивая их содержание в крови. Эти процессы способствуют развитию жировой болезни печени.

Содержание сывороточных холановых кислот нами определено методом ГЖХ. В качестве внутреннего стандарта использовали метиловый эфир 3 α ,7 α -дигидрокси-12-кето-5 β -холановой кислоты [149].

Преимущество данного подхода к диагностике жировой болезни печени заключается в том, что сдвиги в содержании холановых кислот в сыворотке крови у больных жировой болезнью печени наступают раньше, чем другие показатели изменения её биохимии, в связи с чем, они являются более чувствительными тестами.

Таблица 12

Содержание холановых кислот в сыворотке крови здоровых людей, больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом (мг/мл)

№	Холановые кислоты	Практически здоровые люди (n=24)	С Т Е А Т О З			Стеатогепатит
			Стадия 1, n=24	II стадия, n=39	III стадия, n=13	
1	3 α -гидрокси-	0,0010 \pm 0,0002	0,019 \pm 0,0003	0,028 \pm 0,0005	0,031 \pm 0,0005	0,076 \pm 0,0012
2	3 α ,12 α -дигидрокси-	0,0033 \pm 0,0003	0,041 \pm 0,007	0,0048 \pm 0,009	0,089 \pm 0,010	0,11 \pm 0,08
3	3 α ,7 α -дигидрокси-	0,0066 \pm 0,0005	0,095 \pm 0,010	0,088 \pm 0,009	0,093 \pm 0,010	0,29 \pm 0,02
4	3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси	0,0068 \pm 0,0005	0,55 \pm 0,10	0,60 \pm 0,11	0,13 \pm 0,02	1,48 \pm 0,11
5	3 α ,7 α ,12 α -трикето-	-----	0,009 \pm 0,002	0,022 \pm 0,005	0,085 \pm 0,0013	0,019 \pm 0,002
6	Σ -холановых кислот	0,017 \pm 0,003	0,71 \pm 0,012	0,78 \pm 0,13	0,42 \pm 0,07	1,97 \pm 0,34

n=количестве здоровых и больных людей

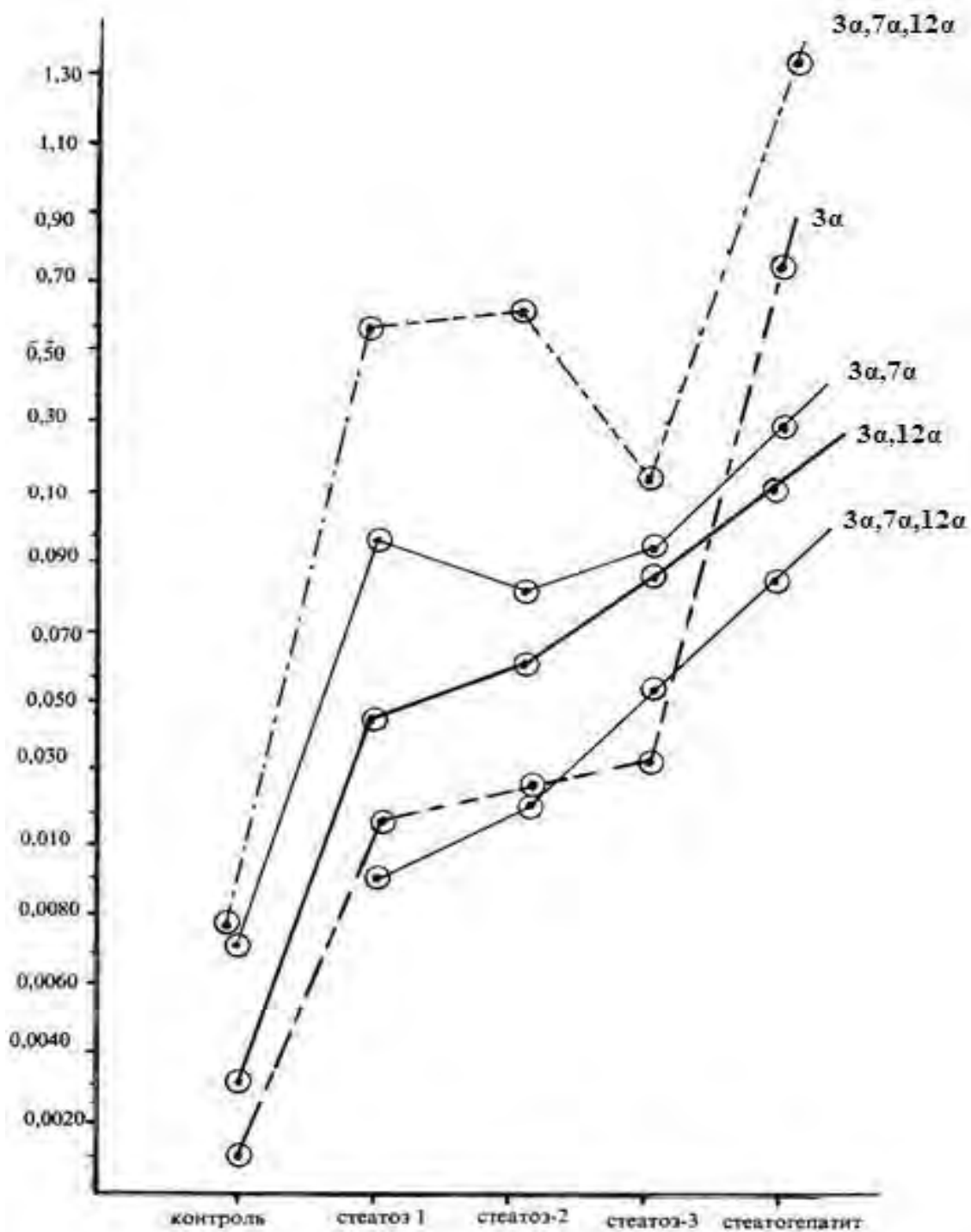


Рисунок 14 - График зависимости содержания холановых кислот в сыворотке крови здоровых лиц, больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом.

Почти до 80 % от общего количества холестерина окисляется в холановые кислоты. Биохимический синтез желчных кислот осуществляется в гладком эндоплазмическом ретикулуме гепатоцитах преимущественно из

вновь синтезированного холестерина. В связи с этим, количественное определение холановых кислот в сыворотке крови больных жировой болезнью печени играет важную роль для постановки точного диагноза, а также эффективного лечения.

Все полученные результаты приведены в таблице 12. Однако в случае стеатогепатита также было отмечено заметное повышение концентрации этих кислот. Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных со стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом значительно возрастало суммарное содержание холановых кислот. На основе полученных результатов построили график содержания холановых кислот в зависимости от стадии болезни печени. (рис. 14).

Известно [150], что холановые кислоты соединяются с высшими жирными кислотами, образуя растворимые в воде комплексы (холиеновые кислоты), которые поступают в стенку кишечника и в эпителиальные клетки кишечных ворсинок, вновь распадаются на холановые и жирные кислоты. Оказывается, что каждой молекуле высших жирных кислот прихватывает от 2 до 4 молекул холановых кислот.

При газохроматографическом анализе холановых кислот в сыворотке крови больных стеатозом печени на различных стадиях и больных стеатогепатитом показано, что норма содержания указанных кислот значительно возросла, установлено, что это происходит за счет активации процесса гидролиза холиеновых кислот.

ВЫВОДЫ

1. Изучено поведение холановых кислот и их различных производных в реакциях различного характера, на основе использования карбоксильных, гидроксильных и глицидных групп в полученных сложных эфирах, метокси, этоксиаминопропиловых эфирах, ацилпроизводных, тозилоксиэфиров и пропан-1,2-диоловых эфиров, которые позволили синтезировать новые биологически активные соединений с комплексом практически ценных свойств.
2. Найденны оптимальные условия синтеза ацилпроизводных сложных эфиров 3α , 7β –дигидрокси- 5β –холановой кислоты и показано, что выход продуктов ацилирования повышается при использовании метилового и этилового эфиров соответствующей кислоты. Установлено, что при использовании двухкратного избытка ацилирующего агента и продолжения времени и повышения температуры реакции, гидроксильная группа находящаяся в 7β -положении подвергается ацилированию.
3. Исследовано поведения глицидного эфира $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ – тригидрокси- 5β -холановой кислоты в реакциях взаимодействие со сложными эфирами различных аминокислот и пептидов, в результате чего был получен ряд метокси, этоксиоксиаминокислотных и дипептидных эфиров соответствующих кислот.
4. Изучены химические свойства метиловых эфиров холановых кислот и выявлены оптимальные условия взаимодействия гидроксильных группы с п-толуолсульфохлоридом, приводящие к получению соответствующих тозилоксиэфиров, проявляющих антимикробные свойства.
5. Найденны оптимальные условия синтеза пропан-1,2- диоловых эфиров холановых кислот исходя из натриевых солей соответствующих кислот и α -монохлоргидрином глицерина, с целью получения литолитических и гепатопротективных средств.
6. Впервые предложена модифицированная методика определения содержания холановых и высших жирных кислот в сыворотке крови

методом ГЖХ у больных стеатозом печени на различных стадиях и стеатогепатитом, результаты которых можно использовать для диагностики и эффективного лечения различных патологий печени.

7. Синтезировано и установлено строение более 50 новых производных холановых кислот, среди которых выявлены вещества, обладающие сильным-антибактериальным, холелитолитическим и гипохолестеринемическим свойствами по сравнению с известными средствами аналогичного назначения.

Список сокращений, использованных в работе

- ХК-холевая кислота,
ЛХК-литохолевая кислота,
ХДК-хенодезоксихолевая кислота,
ДегХК-дегидрохолевая кислота,
УДХК-урсодезоксихолевая кислота,
АТХ-аналитическая тонкослойная хроматография,
ГЖХ-газожидкостная хроматография,
ПМР-протонный магнитный резонанс,
ЯМР-ядерный магнитный резонанс,
ИК-инфрокрасный спектр,
ГМДС-гексаметилдисилазан,
ХЧ-химически чистый,
НАЖБП-неалкогольная жировая болезнь печени,
АЖБП-алкогольная жировая болезнь печени,
АсАТ-аспартатамино трансфераза,
АлАТ-аланинамино трансфераза,
ЩФ-щелочная фосфатаза,
ЛД₅₀-летальная доза для 50 % подопытных животных,
ЛД₁₀₀-летальная доза для 100 % подопытных животных,
МПД-максимально переносимая доза,
ТоSCl-паратолуолсулfoxлорид
«Урсослит»-пропан-1,2-диоловый эфир 3 α , 7 β -дигидрокси-5 β -холановой кислоты,
ГМГ-КоА-Редуктазы β -гидрокси- β -метилглутарил-коэнзим α -редуктазы фермент способствующий синтезу холестрина,
ЖК-желчные кислот (холановые кислоты).

ЛИТЕРАТУРА

1. Voshimura, S. T. Anchoring and bola cationic amphiles for nucleotide delivery. Effects of orientation and extension of hydrophobic regions. /S. T. Voshimura, N.Hasegawa, H. Hirashima. M. Nakanishi, T.Ohwada. \ Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001. V.11. -P. 2897- 2901.
2. Хайдаров, К.Х. Изучение противомикробной активности некоторых гидразидпроизводных холановых кислот / К.Х. Хайдаров, А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, М.П. Султонмамадова // Журнал научных публикаций аспирантов и докторантов, 2012. -№9. –С.70-72.
3. Walker, S. Cationic facial amphiphiles: a promising class of transfection agents /S. Walker, M.J. Kakarla, R. Kogan, N.A. Wierichs, L. Longley, C.B. Bruker, K. Axelrod, H.R. Midha, S, Babu, S. Kahne. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 1585- 1590.
4. Vanderburg, V.R. leaky vesicle fusion and enhanced cell transfection using a cationic facial amphiphile /V.R.Vanderburg, B.D.Smith, M.N.Perez – Payan, A.P.Davis.//Non – J. Am. Chem. Soc. 2000. -V. 122. P. 3252-3253.
5. Соколик, В.Н. Синтез поликатионных амфифилов на основе холевой кислоты /В.Н. Соколик, М.А. Маслов, Н.Г. Морозова, Г.А. Серебренникова // Вестник МИТХТ. -2010. -Т.5. -№6. -С.58-62.
6. Флехтер, О. Б. Синтез и противовирусная активность амидов и конъюгатов бетулоновой кислоты с аминокислотами / О. Б. Флехтер и др. // Биоорганическая химия. -2004. -Т. 30. -№1. -С.89-98.
7. Константинова, Т.В. Синтез холестеринсодержащих катионных амфифилов с гетероциклическими основаниями. / Т.В. Константинова, В.Н. Клыков, Г.А.Серебренникова. //Биоорганическая химия, 2001, том. 27, №6, -С.453-456.
8. Arunachalam, Kannan. Synthesis and anti-HIV activity of a bile acid analog of cosalane. /Arunachalam Kannan, Erik De Clercg, Christophe Pannecouque, Myriam Witvrouw, Tracy L. Hartman, Jim A. Turpin,

- Robert W. Buckheit, Jr. And Mark Cushman. //Tetrahedron 57 (2001) 9385-9391.
9. Серебренникова, Г.А. Модульные транспортные системы на основе катионных и нейтральных амфифилов для генной терапии. / Г.А. Серебренникова, М.А. Маслов, Н.Г. Морозова //Вестник МИТХТ, 2011, т.6, №5, -с.72-86.
 10. Соколова, Т.В. Получение катионных амфифилов на основе дезоксихолевой кислоты. / Т.В. Соколова, М.А. Маслов, Г.А. Серебренникова //Биоорганическая химия, 2004, том. 30, №5, -с.531-536.
 11. Ахрем, А.А. Польный синтез стероидов / А.А. Ахрем, Ю.А. Титов // Изд. «Наука», Москва,1967, -С. 5-7.
 12. Лазурьевский, Г.В. Практические работы по химии природных соединений. / Г.В. Лазурьевский, И.В. Терентева, А.А. Шамшурич //Изд. «Висшая школа», Москва, 1966, -С. 125-126.
 13. Bjorkhem, I. Biosynthesis and metabolism of bile acids in man.-In: Progress in liver disease, v. eds. by H. Popper and / I. Bjorkhem, F. Schaffner// Danielsson HNew-York, Grune and Stratton, 1976, -p. 850-851.
 14. Мансурова, Х.Х. Актуальные вопросы патологии печени. / Х.Х. Мансурова // Выпуск 9. Изд. «Дониш», 1985. -С. 6-9. под. ред. акад.
 15. Ding, B. Origins of cell selectivity of cationic steroid antibiotics. / B. Ding et al. // Chem. Soc. -2004. -vol. 126. -p. 13642-13648.
 16. Shefer, S. Biosynthesis of chenodesoxycholic acid in man. Stereospecific Side-chain hydroxylation of 5β -cholestane $3\alpha,7\alpha$ -diol. / S. Shefer, F.W. Chend, A.K. Batt // J.Clin. Invest, 1978, v. 62, -p.539-545.
 17. McCormick, W.C. Cholic acid synthesis as an index of the severity of liver disease in man / W.C. McCormick // J. Clin. Invest. 1973, v. 52, -p. 895-902.
 18. Fieser, L.F. Atol oxidation of steroids / L.F. Fieser // J. Am. Chem. Soc., 1949, v. 71, -p. 5531-5534.

19. Fieser, L.F. Selective oxidation and acylation in the acids series / L.F. Fieser, S. Rajaqaplan // Am. Chem. Soc., 1950, v. 72, -p. 5533.
20. Кадыров, А.Х. Синтез моноглицидных эфиров желчных кислот. / А.Х. Кадыров, И.М. Насыров, И.Г. Решетова // Изв. АН Тадж. ССР, отделение физ. мат., химических наук, 1999, 112, №2, -С. 71-72.
21. Кадыров, А.Х. Синтез и биологическая активность сложных эфиров холановых кислот. / А.Х. Кадыров, М. М. Муродова, К.Х. Хайдаров //Мат. Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы семейной медицины» посвящено 75-летию член-корр. РАМН, проф. Ю.Б. Иссхаки. 2007. –с.32-33.
22. Муродова, М.М. Модификационный синтез некоторых производных холановых кислот. / М.М. Муродова, А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, Х.К. Хайдаров // Докл. АН РТ, 2006, т.49. №10-12. –с.933-938.
23. Назарова, З.Д. Синтез и свойства аминотиофенсодержащих желчных кислот. / З.Д. Назарова, М.М. Муродова, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров // Материалы Респ. конф. «Достижения в области химии и химической технологии»,-Душанбе, 2002, -с. 77-79.
24. Кадыров, А.Х. III-региональное совещание республик Средней Азии и Казахстан по химическим реактивам. / А.Х. Кадыров, Д.Х. Халиков// Тошкент, 1990, ч. II, -с. 106-107.
25. Кадыров, А.Х. Синтез и биологическая активность некоторых производных желчных кислот. / А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров, А.Ш. Гиёсов // Душанбе: Изд. «Хаём», 2000, -с. 4-10.
26. Султонмамадова, М.П. Синтез на основе 3 α , 12 α -дигидрокси и 3 α , 7 α 12 α -трикетохолановой кислоты. Автореф...канд. хим. наук. /М.П. Султонмамадова //Душанбе, 2015. -с. 13-14.
27. Назарова, З.Д. 3 α ,7 α ,12 α -тригидроксихолановая кислота и синтезы на её основе. Автореф....канд. хим. наук. / З.Д. Назарова //Душанбе, 1999. -с. 13-16.

28. Назарова, З.Д. 3 α ,7 α ,12 α -тригидроксихолановая кислота и синтеза на её основе. Дисс...канд. хим. наук. Душанбе, 1999. -с. 37-41.
29. Назарова, З.Д. Синтез тетрагидробензо /в/ тиофенсодержащих стероидов. / З.Д. Назарова, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров // Докл. АН РТ,1998, Т.XLI, №11-12. -с. 63-66.
30. Назарова, З.Д. Синтез и свойства аминотиофенсодержащих желчных кислот. / З.Д. Назарова, М.М. Муродова, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров //Мат. респ. конф. «Достижения в области химии и химической технологии». Душанбе, 2002, -с. 77-79.
31. Султонмамадова, М.П. Синтез сложных эфиров 3 α , 7 α 12 α -трикетохолановой кислоты./ М.П. Султонмамадова, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров // Докл. АН РТ, 2011. Т. 54 №8. -с. 649-652.
32. Муродова, М.М. Синтез новых производных желчных кислот. / М.М. Муродова, А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, К.Х. Хайдаров // Докл. АН РТ, 2005. Т. XLVIII №2. -с. 21-25.
33. Шаранин, Ю.А. 2`-Аминоандрост-2-[2,3в] тиофен / Ю.А. Шаранин, В.К. Проманенков // ХПС, 1980, №11, -с. 1564-1565.
34. Шведов, В.И. Реакции енаминов / В.И. Шведов, А.Н. Гринев // Жорх, 1965,1. №12, -с.2228-2231.
35. Кадыров, А.Х. Некоторые реакции 3 α ,7 α ,12 α -тригидрокси-холановой кислоты./ А.Х. Кадыров, Д.Х. Халиков // Региональное совещание республик Средней Азии и Казахстана по химическим реактивам: тез. докл. Ташкент, 1990, т. 1, ч. II, -с. 2
36. Кадыров, А.Х. 3 α ,7 α ,12 α - тригидроксихолановой кислоты и синтеза на его основе. / А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, И.Г. Решетова// Докл. АН РТ,1991, т. 34, №9, -с. 564-466.
37. Абдурахимова, М.К. Синтез и свойства некоторых производ 3 α ,7 α – дигидрокси -12-кетохолановой кислоты /М.К. Абдурахимова, А.Х. Кадыров, С.С. Саидов // Вестник ТНУ JSSN 2074-1847, 2012 1/3 (85), - с. 228-231.

38. Султонмамадова, М.П.. Изучение реакции гидрозидов холановых кислот. / М.П. Султонмамадова, А.Х. Кадыров // Мат. респ. конф. «Химия»: исследования, преподавание, технология, Посв. году образования и технических знание, Душанбе 2010. –с. 16-17.
39. Султонмамадова, М.П. Синтез сложных эфиров 3 α ,7 α ,12 α -трикетохолановой кислоты. / М.П. Султонмамадова, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров // Докл. АН РТ.2011, т. 4, №8. –с. 649-652.
40. Кадыров, А.Х. Синтез сложных эфиров 3 α ,12 α -дигидроксихолановой кислоты и их продуктов ацилирования. / А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, М.П. Султонмамадова // Журнал Научных публикации аспирантов и докторантов JSSN 1991-3087, Курск, 2012, №7. –с. 107-110.
41. Султонмамадова, М.П. Синтез на основе 3 α ,12 α -дигидрокси и 3 α ,7 α ,12 α -трикетохолановых кислот. / М.П. Султонмамадова// Дисс.. канд. хим. наук, Душанбе 2015г. –с. 67-68.
42. Султонмамадова, М.П. Синтез диэтил аминооксипропиловых эфиров холановых кислот. / М.П. Султонмамадова, А.Х. Кадыров// Мат. респ. конф., «Химия: исследования, преподаваемые технология» посв. «году образования и технических знания», Душанбе, 2010. –с. 33-34.
43. Henegouwen, G.P. *Clim.* / G.P. Henegouwen Van. Berge Ruben A., Brandz K.H// *Acta*, 1974, v. 54, p. 249.
44. Levitt, M.J. *Anal.* / M.J. Levitt // *Chem.*, 1973, v. 45, p. 618.
45. Cohen, B. J. *Biochem.* / B.J. Cohen, R.F. Raicht, G. Salen, E.H. Mosbach // *Anal.*, 1975, v. 64, p. 567.
46. Kuksis, A. *Biochem* / A. Kuksis, P. Child, J.J. Myher, L. Marai, J .M. Vosef, P.K. Liwin, J. Can. 1978, v. 56. p. 1141.
47. Madsen, D. *Lipid* / D. Madsen, M. Beavez, L. Chang, E. Bzucknez-kazdoss, B. J. Wastmann *Res.*, 1976. V. 17. P. 107.
48. Miyazaki, H. *Biochem.* / H. Miyazaki, M. Jshibashi, U. Jnoue, M. Jtoh, T. J. Kubodeza // *Chem.*, 1974, V. 99, p. 553.

49. Shaw, R. Lipid Res, / R. Shaw, W. Eeiot 1978, V. 19. P. 783.
50. Ross, F.E. Gas-liquid chromatographic assay of serum bile acids. / F.E. Ross, C.R. Pennington, A.D. Boucher //J. Analytical biochemistry, 1987, v. 80, -p. 458-465.
51. Kuksis, A. Gas-liquid chromatographic of bile acids./ A. Kuksis, B.A. Gordon //J. Amer. Chem. Soc, 1964, v.2, -p. 360-361.
52. Ruben, A.T. Sample reversephasic high pressure liquid chromatographic determination of conjugated bile acids in serum and bile using a novel compression separationsystem. / A.T. Ruben, P.A. Gerard //Ceinica chemical acta, 1982, v. 119. -p. 302-309.
53. Bonnazi, P. Bile acid analysis: A.Rapid and sensitive Gas-Liquid Chromatoqraphic metod. / P. Bonnazi, C. Calazesu, R. Galeazzi// Pharmacological Pesearch communications, 1984, v. 16. №6, -p. 549-552.
54. Samuelson, K. Serum and Urinary bile acids in Patents with Primery Biliary Cirosis. / K. Samuelson, A. Aly, C. Jobbansson, A. Norman // J. of Gastroenterology, v. 17, №1, 1982, -p. 121-128.
55. Goldman, M. Et ol Bile Acids Metaboliet in Cirrhosis. VIII. Quantitative Evaluation of Bile acid sinthsis from [7 β -³H] 7 α - Hydroxychole sterol and [G-³H] 26- Hydroxychole sterol / M. Goldman, Z. V. Reno // Hepatology v.2, №1, 1982, -p. 59-66.
56. Street, I.M. The guantitative stimation of bile acids and their conjuqates in human biological fluids / I.M. Street, DIH. Traffprd, H.L. Makin // J.Lipid Res 1983; 24. -p. 491-511.
57. Iwata, T. Ensymatic determination and thin-iauer chromatography of bile acids in blood. I.Biochem Tokyo / T. Iwata, K. Vamasaki //1964; 56: -p. 424-431.
58. Turley, S.D. Re-evaluation of the 3 α - hydroxysteroid dehydroqenase assay for total bile acids in bile. / S.D. Turley, J.M. Dictschy // J.Lipid Res 1978; 19. -p. 924-928.

59. Roda, A. Results with six «Kit» radioimmunoassay for primery bile acids in human serum intercompared. / A. Roda, E. Roda, R. Aldini // Cein Chem 1980; 26: -p. 1677-1682.
60. Dyfverman, A. Ion-pair extraction of bile acids with lipidex qel. / A. Dyfverman, J. Sjovall // Anal Biochem 1983; 134; -p. 303-308.
61. Okuyama, S. A new analytical method of individual bile acids using high performances liquid chromatography and immotilized 3- - hydroxysteroid dihydrogenase in colymm for. / S. Okuyama, W. S. Kokubun Hiqashidate // Chem Lett 1979; -p. 1443-1446.
62. Мансуров, Х.Х. Современные представления о механизме образования желчных камней. – В кн. желчнокаменная болезнь / Х.Х. Мансуров// Душанбе, 1981. -с. 25-29.
63. Мансуров, Х.Х. О генезе алитогенности желчи у собак. // В кн. желчнокаменная болезнь. / Х.Х. Мансуров, А.К. Кахаров// Душанбе, 1981. -с.29-31.
64. Кадыров, А.Х. Сравнительной оценки методом газожидкостной хроматографии состава желчных кислот в пузырной желчи человека и собаки. / А.Х. Кадыров, Х.Х. Мансуров // в кн. Актуальные вопросы патологии печени. – Душанбе, 1985. Вып.9. -с. 43-47.
65. Кадыров, А.Х. Определение желчных кислот в желчи методом газожидкостной хроматографии. / А.Х. Кадыров, Г.Б. Ташмурадова, М.А. Гафарова // Лабораторное дело. – М. Изд.«Медицина», №6. -с. 343-345.
66. Сайфуддинов, А.К. Газохроматографическая оценка желчных кислот в желчи здоровых людей и у больных желчнокаменной болезни. / А.К. Сайфуддинов, А.Х. Кадыров, Ф.Х. Мансурова, К.Х. Хайдаров // Мат. респ. конф. «Актуальные проблемы производства лекарственных препаратов на основе местного сырья». Душанбе, 2003. -с. 152-157.
67. Кадыров, А.Х. Определение конъюгированных желчных кислот методом газожидкостной хроматографии. « Желчнокаменная

- болезнь». / А.Х. Кадыров // Мат. Всесоюзного симпозиума» изд. «Дониш», Душанбе, 1981.-с. 73-74
68. Кадыров, А.Х. Исследование содержания желчных кислот у здоровых лиц и у больных с различной патологией печени и желчевыделительной системы. / А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров, З.Д. Назарова //Вестник Авиценны , №1-2,-с. 339-345.
69. Кадыров, А.Х. Определение желчных кислот сыворотки крови методом газожидкостной хроматографии. / А.Х. Кадыров, З.М. Орзиев // Лабораторное дело. Москва, «Медицина», 1986. -с. 26-28.
70. Кадыров, А.Х. Определение содержания сывороточное желчных кислот у больных гепатита, циррозом печени. // «Вклад биохимиков Таджикистана в развитие биологической науки». / А.Х. Кадыров, А.К. Сайфудинов, Ф.Х. Мансурова // Труды III-ей респ. науч. конф. общества биохимиков РТ-Душанбе, 2003. -с. 93-95.
71. Сайфудинов, А.К. Сравнительная оценка содержания желчных кислот сыворотки крови у больных с хроническим холециститом. / А.К. Сайфудинов, А.Х. Кадыров, Ф.Х. Мансурова, Л.Х. Хайдаров //Мат. международной науч. практ. конф. «Актуальные проблемы физиологии человека и животных», Душанбе, 2003, -с. 55-59.
72. Bergstrom, S. Formation and tism of bile acids In: Code CF, Heidel W., eds. Handbook of physiology, Sect, 6 vol v. Washington DC / S. Bergstrom, H. Danielsson //American physiological Society, 1988: -p. 2391-2407.
73. Кадыров, А.Х. Способ определение холестерина в сыворотке крови методом газожидкостной хроматографии. /Кадыров А.Х, Мироджов Г.К., Кодиров А.А., Суриев М.Р., Раджабов Г.О. //Патент РТ №ТJ 283. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 2009г.
74. Раджабов, Г. О. Определения содержания холестерина в сыворотке крови здоровых и болных людей на различных этапах литогенза методи

- газотидкостной хроматографии / Г.О. Раджабов, А.Х. Кадыров, А.А. Кодиров // Мат. республиканской конференции «Образование и техническая культура в развитии биологических наук». Душанбе.- 2010. –с. 45-74
75. Кодиров, А.А. Влияние Урсодезоксихолевой кислоты сиафор на характер изменения содержания желчных кислот в сыворотке крови у больных с метабалический синдромом / А.А. Кодиров, Г. О. Раджабов, А. Х. Кадыров.// Здоровоохранение Таджикистана 2009. - №3.-с.77-30.
76. Раджабов, Г.О. Газохроматографические исследования желчных кислот в сыворотке крови больных с метабалический синдромом на фоне терапии эссенциал +сиафором. / Г.О. Раджабов, А.Х. Кадыров, М.Н. Худжамуродов, А.А. Кодиров // Здоровоохранение Таджикистана. -2009.-№3. С. 154-156
77. Кадыров, А.А. Сравнительная оценка желчных кислот в сыворотке крови здоровых лиц и больных со стеатозом печени и стеатогепатитом / А.А. Кадыров, Г.О. Раджабов, А.Х. Кадыров // Мат. годичной- науч.-практ. конф. Молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино, посв. 20 летию независимости Республики Таджикистан.- Душанбе-2011, - с. 417-419.
78. Кадыров, А.Х. Газохроматографическая оценка сывороточных холановых кислот с целью диагностики жировой болезни печени. / А.Х. Кадыров, С.С. Саидов, М.К. Абдурахимова // Журнал научных публикаций аспирантов и докторантов JSSN 1991-3087. Курск, 2012. №11., -с. 125-129.
79. Василев, Р.Х. Бескровные методы удаления желчных камней. /Р.Х. Василев // Изд. «Высшая школа» Москва, 1989. –с.228-229.
80. Мансуров, Х.Х.. Метаболический синдром с проявлением желчокаменной болезни./ Х.Х. Мансуров, Г.К. Мироджов, Ф.Х. Мансурова, П.Ф. Мирзоева // Изд. «Дониш», 2007. –с. 144-146.

81. Makiiо, Растворение холестеринаовых камней в желчном пузыре на урсодезоксихолеовой кислоты. / Makiiо, U.K. Shinozaki, K. Voshino, C. Накагава // Jpn. J. Gastmentml, 1975. 72: p. 690-702.
82. Белоусов, А.С. Диагностика, дифференциальная диагностика и лечение болезней органов пищеварения. / А.С. Белоусов, В.Д. Водолагин, В.П. Жаков //М. Медицина, 2002. –с. 424.
83. Мансуров, Х.Х. Желчнокаменная болезнь / Х.Х. Мансуров// В кн, Актуальные вопросы патологии печени. Вып. 9, Душанбе, 1985–с. 7-8.
84. Нуралиев, Ю.Н., Вление розанола на желчевыделительную функции печени и активность АДФ-азных ферментов сублечочных структур гепатоцитов при токсическом порождении печении ССL₄/Ю.Н. Нуралиев, Д.А. Азонов // Изв. АН Тадж. ССР, отд. биол. наук. 1989, №4, -с. 74-79
85. Бахроми, М.Т. Исследование литолитических свойств «Триоин»-а / М.Т. Бахроми, А.Х. Кадыров //Годичная научно практ конф. «Современная медицина и новые технологии», посвященная году образования и технической культуры.–Душанбе, 2010.–с. 210-213.
86. Бахроми, М.Т. «Триоин»-растворитель холестеринаовых желчных камней при желчокаменной болезни./ М.Т. Бахроми, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров // – Здравоохранение Таджикистана.-2010. -№1. –с.69-72.
87. Бахроми, М.Т. «Триоин» и его литолитические свойства (in vitro). / М.Т. Бахроми, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров. // Изв. АН РТ. -2010. - №1. –с. 74-78.
88. Бахроми, М.Т. Литолитические свойства «Триоин»-а / М.Т. Бахроми, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров //–Здравоохранение Таджикистана. - 2010. –№2. –с. 21-24.
89. Бахроми, М.Т. Влияние сухой холилитоогенной гиперлипидемической диеты на характер изменения содержания желчных кислот и других

- компонентов желчи у экспериментальных хомяков. / М.Т. Бахроми //— Вестник Авиационной-2010. №3.—с. 21-24. York. -1875. -р. 23.
90. Бахроми, М.Т. Растворение желчных камней «Триоина»-ом (in vitro). / М.Т. Бахроми, А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров //Науч-теоретич. конф. профессорского преподавательского состава и студентов, посвящ. году образования и технических знаний. —Душанбе. 2010. — с.192-193.
91. Balasubramaniam, R.P. Structural and functional analysis of cationic transfection lipids: The hydrophobic domain / R.P Balasubramaniam, M.J. Bennet, A.M Aberle, J.G. Molone, M.H. Nantz, R.W. Molone – Gene Therapy, 1996. -V.3. -P.163-172.
92. Зеленин, А.В. Генная терапия на границе третьего тысячелетия. / А.В. Зеленин //Вестник РАН, 2001. Т.71. —с. 387-404.
93. Yoshimura , T. Bioorg. Med / T. Yoshimura., S.Hasegawa, N. Hirashima, M. Nakanishi, T. Ohmada // Chem. Lett., 2001. -V.11. -P.2897-2901.
94. Ren, T. Bioorg. Med./ T. Ren, G. Zhang, D. Liu, F. Liu // Chem. Lett. 2000. V.10. p. 891-894.
95. Wolker, S. Cationic facial amphiphiles: a promising class of transfection agents./ S. Wolker, M.J. Sofia, R. Kakarla, N.A. Kogan, L. Wierchs, C.B. Longley, K. Bruker, H.R. Axelrad, S. Midha, S. Babu, D. Kahne //Proc. Natl. Acad. Sci USA, 1996. V. 93. P. 1585-1590.
96. Vandenburg, V.R. Non-leaky vesicle fusion and enhanced cell transfection using a cationic facial amphiphile. / V.R. Vandenburg, B.D. Smith, M.N. Prevez-Payan, A.P. Davis // J.Am. Chem. Soc. 2000. V. 122. - P. 3252-3253.
97. Kwann, K.H., Dissolution Kinetics of cholesterol in simulated bile. / K.H. Kwann, W.J. Hiquchi, A.F. Hofmann // Influence of simulated bile composition.-J.Pharm.Sci-1987/ vol. 67.-№12. -p.1711-1714

98. Геня, Л.П., Новые возможности в лечении желчнокаменной болезни. / Л.П. Геня, А.Л. Гребнев // В жур. Клиническая медицина, 1988. №5. - С. 30-37.
99. Hoffmann, A.F. Chenodeoxycholic acid Therapy of Gallstones.-Progress Report. Schaffer verlaq, Stuttgart New / A.F. Hoffmann, G. Paumqarner // York. -1875. -p. 23.
100. Mansurov, H.H. The chemical dissolution of cholesterol gallstons and elimination of the litoqenic properties of the bile by means of Chenodeoxycholic acid.-/ H.H. Mansurov // Cheno-Urso-Report. 1981. №9. -p. 250-257.
101. Mansurova, F.H. Conqes in bile chemistry and dissolutions of choiesterol calculi under prolonqed therapy with chenodeoxy-cholic acid / F.H. Mansurova // Cheno-Urso-Report, 1981, №9. -p. 259-267.
102. Мансуров, Х.Х. О сдвигах в метоболизме желчных кислот в процессе хеноурсо-терапии. В кн. Новые в диагностике и лечении болезней органов пищеварения Диетотерапия в гастроэнтерологии. / Х.Х. Мансуров, Ф.Х. Мансурова, З.Д. Рамазонова //-Мат. симпозиума. Душанбе. 1988. -С. 282-285.
103. Shehaffer, E. Gallston disease; pathoqenesis and Manayment-Cuss. Probl. / E. Shehaffer, D. Small //Surq, 1976, v. 19. №7, -p. 33-72.
104. Adler, R.D., Duane W.C. Effects of Low doss of chenodexycholic acid feeding on biliary lipid metabolism / R.D. Adler, W.C. Duane // Gastroenterology, 1975, v. 68. -p. 326-334.
105. Coun, M. Dietary cholesterol Influences chenodexy-cholic acid inhibition of Hepatic Choesterol synthesis. / M. Coun, A. Chunq // Gastroenterology, 1976, v. 70, -p. 163-174.
106. Dowlinq, R.H. A personal view of qallstone / R.H. Dowlinq // Hepatoloqu, 1989,v. 3. -p. 9-12.
107. Гребнев, А.Л. Отделенные результаты холелитичес-кой терапии у больных желчнокаменной болезнью препаратами хено и

- урсодезоксихолевой кислот. / А.Л. Гребнев, Л.П. Геня //В журнале клиническая медицина, 1991, №6. -с. 63-66.
108. Гребнев, А.Л. Опыт применения препарата хенофальк у больных желчнокаменной болезнью. / А.Л. Гребнев, В.С. Голчевская, Л.П. Геня //Душанбе, 1981. -с. 121-123.
109. Гребнев, А.Л. Белковый и пигментный обмен в печени у больных желчнокаменной болезнью до и после лечения хено- и урсодезоксихолевых кислот. / А.Л. Гребнев, Д.Г. Палинкаши, Л.П. Геня, В.С. Голчевская, З.А. Лищенко, Е.А. Петрова// В журнале клиническая медицина, 1988, №3. -с. 96-99.
110. Кадыров, А.Х. «Триоинн» растворитель холестериновых желчных камней при желчнокаменной болезни. / А.Х. Кадыров, М.Т. Бахроми, К.Х. Хайдаров // Здравоохранение Таджикистана. Пр. №1 Душанбе, - 2010. №1. –С. 69-72
111. Кадыров, А.Х. Технология получения холевой кислоты. / А.Х. Кадыров, М.Б. Тошев, К.Х. Хайдаров, Б. Х. Махкамова // Доклад АН РТ. -2008.- С. 532-535.
112. Физер, Л. Органическая химия. / Л. Физер, М. Физер //Изд. «Химия Москва» 1969, т.1.С. 70-73.
113. Муродова, М.М. Модификационный синтез некоторых производных холановых кислот./ М.М. Муродова, А.Х. Кадыров, З. Д. Назарова, К.Х. Хайдаров // Доклад АН РТ. 2006 т. 49 №10-12 -С. 933-938.
114. Самандаров, Н.Ю. Получение некоторых сложных эфиров 3 α ,7 β -дигидроксихолановой кислоты./ Н.Ю. Самандаров, А.Х. Кадыров, С.И. Раджабов // Вестник ТНУ, №1/1 (102),2013г. Душанбе. С. 142-144.
115. Федеровский, Т.Г. Метаболизм урсодезоксихолевой кислоты в человеке. / Т.Г. Федеровский, А. Salen, G.S. Colallilo, E.H Mosbach, Дж.С. Холл.//Gmtmenhlogy, 1977, 73: -р/ 1131-1137.

116. Tu, N. Bile acid conjugates of a nonsteroidal glucocorticoid receptor modulator./ N. Tu [et al]. //Bioorg. Med. Chem. Lett.-2004. –vol.14. – p.4179-4183.
117. Kannan, A. Synthesis and anti-HIV activity of a bile acid analog of cosalane. / A. Kannan, De. E.Clercq, [et al]. //Tetrahedron. -2001. –vol. 57. –p. 9385-9391.
118. Paschke, R. Novel spacer linked bile acid-cisplatin compounds as a model for specific drug delivery, synthesis and characterization. / R. Paschke, J., Kalbitz, C. Paetz // Inorg. Chim. Acta. -2000. –Vol. 304. –p. 241-249.
119. Paschke, R. New organotropic compounds. Synthesis characterization and reactivity of Pt (II) and Au (III) complexes with bile acids: DNA interactions and «in vitro» anticancer activity. / R. Paschke [et al] //J. Inorg. Biochem. -2003. –vol. 94.–p. 311-320.
120. Кадыров, А.Х. Синтез, свойства веществ растворяющие холестериновые камни желчного пузыря на основе некоторых стероидов и доугих кислот. /А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров, З.Д. Назарова //Вестник Авиценни., Душанбе, 2006,т. 1-2, -с. 339-345.
121. Сайфуддинов, А.К. Исследование содержания желчных кислот в желчи и сыворотке крови методом ГЖХ. // Дис... к.б.н. Душанбе, 2004, -с.68-72.
122. Кадыров, А.Х. Глицериновый эфир 3 α ,7 α -дигидроксихолановой кислоты, способ его получения и применения в качестве лекарственного средства. / А.Х. Кадыров, К.Х. Хайдаров //НПИ Центр. РТ, 2002, №23, Сер.34.57.21.
123. Kannan, A, Synthesis and anti-HIV activity of a bile acid analog of cosalane. / A Kannan, Erix De Clercq, Ch. Panneconqul, M. Witvrouw, T. L. Hartman, J. A. Turpin, R. W. Buchlit, Jr. and M. Cushman. //Tetrahedron. 57 (2001) с. 9385-9391.
124. Кадыров, А.Х. Синтез сложных эфиров 3 α ,12 α - дигидроксихолановой кислоты и их продуктов ацилирования. / А. Х. Кадыров, З. Д.

- Назарова, М. П. Султонмамадова.// Журнал научных публикации аспирантов и докторантов JSSN, 1991-3087, №7 2012. с. 107-110.
125. Муродова, М.М. Модификационный синтез некоторых производных холановых кислот. /М.М. Муродова, А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, Хайдаров К.Х.// Докл. АН РТ, 2006, т.49, № 10-12 . с.933- 938
126. Кадыров, А.Х. Синтез моноглицидных эфиров желчных кислот./ А.Х. Кадыров, И.Г. Решетов, И.М. Насыров //Изв. АН Радж. ССР. отд. физ-мат, хим. и геологи. Наук, 1989 №32 С. 71-72.
127. Муродова, М.М. Синтез и свойство некоторых производных холановых кислот. // Дисс. канд. хим. наук. Душанбе, 2007. –с.51-53.
128. Самандаров, Н.Ю. Некоторые реакции глицидного эфира 3 α , 7 α , 12 α -тригидроксихолановой кислоты. / Н.Ю. Самандаров, А.Х. Кадыров, С.И. Раджабов // Вестник ТНУ, №1/3 (85), 2012, -с. 208-210.
129. Хайдаров, К.Х. Изучение противомикробной активности некоторых гидрозидпроизводных холановых кислот. / К.Х. Хайдаров, А.Х. Кадыров, З.Д. Назарова, М.П. Султонмамадова //Журнал Научных публикаций аспирантов и докторантов. JSSN 1991-3087 Курск; 2012. №9. с 70-72
130. Kannat, A. Synthesis and anti-HJV activity of a bile acid analog of cosalane / A. Kannat, De. E. Ceercq [et al]. // Tetrahedron. -2001.-vol 57.- p 9385-9391.
131. Paschke, R. Novel spacer Jinked bile acid-cisplatin compounds as a model for specific drug delivery, Synthesis and characterization. / R. Paschke // Jnorg. Chin. Acta.- 2000.- vol. 304 .- p. 241-249.
132. Ding, B. Origins of cell selectivity of cationic steroid antibiotics / B. Ding [et al]. // J. Am. Chem. Soc. – 2004. –vol. 126. –p. 13642-13648.
133. Кадыров, А. Х. Синтез тозилоксиэфиров некоторых производных холановых кислот. /А.Х.Кадыров, Б.Х. Махкамова, Н. Ю.

- Самандаров, М. П. Султонмамадова, С. И Раджабов. // Вестник ТНУ, 2013 JSSN,2074-1847,№1/3 (110).
134. Патент РТ № ТЈ 662. 12 α -тозилоксифир -3 α , 7 α -диацетокси -5 β -метилхолановой кислоты в качестве противомикробной средства. Кадыров А.Х., Махкамова Б. Х., Самандаров Н.Ю., Назарова З. Дж, Кадыров Ш. А. // Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 17.12.2014г.
135. Кадыров, А.Х. Газохроматографическое определение высших жирных кислот в сыворотке крови здоровых лиц и больных с метаболическим синдромом / А.Х. Кадыров, А.К. Сайфуддинов, А.А. Кодиров, Е.К. Холов.// Состояние и перспективы развития биохимии в Таджикистане-Душанбе, 2009.-С.70-73.
136. Petroni, M.L. Ursodeoxycholic acid alone or with chenodeoxycholic acid for dissolution of cholesterol gallstones: a randomized multicentre trial. Aliment. Pharmacol. / M.L. Petroni, R.P. Jazvari et all. //Ther. 2001. Vol.15. p.-123-128.
137. Патент РТ № ТЈ 583. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 2013г. А.Х. Кадыров, Г.К.Мироджов, Б. Х. Махкамова Н.Ю. Самандаров, М, П. Султонмамадова, М.К. Абдурахимова, М.П. Султонмамадова Пропан-1,2- -диолвый эфир 3 α ,7 β –дигидроксихолановой кислоты в качестве холелитической и гипохолестеринимическое средства.
138. Самандаров, Н.Ю. Синтез и изучение строения некоторых производных 3 α ,7 β –дигидроксихолановой кислоты. / Н.Ю Самандаров, А.Х. Кадыров, С.И. Раджабов, М.К. Абдурахимова, Э. Пулатов //Вестник ТНУ, JSSN,2074-1847,№1/1 (126), 2014г. стр. 145-148.

139. Холов, Ё. К. Исследование холитолитического действия настойки «Рамит». / Ё. К. Холов, А.Х., Кадыров, К.Х. Хайдаров //Мат. VI Нумансковых чтений, 2009. с. 68-71.
140. Шахов, А.Г. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и лечению респираторных болезней телят./ А.Г. Шахов, С.М. Сулаймонов //Тамбов, 1985 с. 35-37.
141. Ивашкин, В.Т. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени (Методические рекомендации)-М;.ООО // В.Т.Ивашкин, О.М.Дропкина., Ю.О.Шульпекова. «Издательский дом» М-Вести, 2009- с. 20.
142. Donnelly, K.L. Sources of fatty acids stored liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease./ K.L. Donnelly, C.J. Smith et al. /J/Clin Invest.-2005/- -v. 119. –P. 1343-1351.
143. Подымова, С.Д. Жировой гепатоз. Неалкогольнойстеатогепатит (эволюция представлений о клинико-морфологических особенностях, прогнозе, лечении). /С.Д. Подымова // Тер. Архив, 2006. № 4с.32-38.
144. Патент РТ № ТЈ 525. Способ к диагностике жировой болезни печени.А.Х. Кадыров, Г.К. Мироджов, М.Н. Худжамуродов, Н.Ю. Самандаров, А.А Кодиров, М.К. Абдурахимова, М.П. Султонмамадова. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 4.09.2012.
145. Кадыров, А.Х. Газохроматографическое оценки сывороточное высших жирных кислот у больных жировой болезни печени / А.Х. Кадыров, С.С. Саидов, М.К. Абдурахимова, Н.Ю. Самандаров // Международный научно-исследовательский журнал ISSN 2303-9868 №4(11) Часть1 Екатеринбург 2013 С. 50-53.
146. Максимов, В.А. Билиарная недостаточность. М. ООО Изд. / В.А., Максимов, А. Чернишев, К.М.Тарасов, В.А. Неронов //Товарищество «Адамант», 2008. -с. 21-28.

147. Lonardo, A. Hepatic steatosis and insulin resistance: dossetiology make a difference? / A. Lonardo, S. Lambardini, F. Scaglioni, L. Caruli, M. Ricchi, D. Ganazzi, E. Adinolfi, G. Ruggiero, N. Coruli, P. Loria // *J. Hepatol.* - 2006, jan. - №44 (1). - p. 190-196.
148. Вахрушева, Я.М. Жировой гепатоз / Я.М. Вахрушева, Е. В. Счкова // *Тер. Арх.*, т. 78, №11, -с. 83-86.
149. Патент РТ № ТЈ 524 Способ к диагностике жировой болезни печени / А.Х. Кадыров, Г.К. Мироджов, М.Н. Худжамуродов, Н.Ю. Самандаров, А.А. Кодиров, М.К. Абдурахимова, М.П. Султонмамадова. // Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 4.09.2011 г.
150. Кадыров, А.Х. Исследование содержания желчных кислот в сыворотке крови здоровых лиц и больных со стеатозом печени и стеатогепатитом. / А.Х. Кадыров, Г.О. Раджабов, А.А. Кодиров, М.Н. Худжамуродов, Г.Х. Давлатова. // В кн. Вопросы питания и регуляция гомеостаза, Выпуск 10. Душанбе -2010. -с. 138-143
151. Вяхерев, Д.А. Руководство по газовой хроматографии. / Д.А. Вяхирев, А.Ф. Шушунов // М.: Высшая школа, -1978. -С. 151
152. Вайсбург, А. Органической растворители / А., Вайсбург, Э. Проскоуэр, Д. Риддук, Д. Тунис // - М-Л. Наука с. 518.
153. Чудаков, И.Е. Микро-и полумикро определение серы в органических соединениях, нефтях и нефтепродуктов. / И.Е. Чудаков, Г.Д. Гальперин, Н.П. Волынский // Метод анализ органической соединений нефти, их смесей и производных. М АН СССР, 160, т 30. с. 3292-3297.
154. Муродова, М.М. Получение натриевых солей холановых кислот и их флотационные свойства. / М.М. Муродова, А.Х. Кадыров. // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Дастовардҳои илми кимиё ва масоили таълими он», посвященной 60-летию профессора Юсупова З.Н. Душанбе, 2007. С 38-40.

155. Кадыров, А.Х. Разработка технологии получения $3\alpha,7\alpha,12\alpha$ -тригидрокси- 5β -холановой кислоты из желчи крупного рогатого скота./ Кадыров А.Х., Кодиров Ш.А., Самандаров Н.Ю.// Сборник научных статей региональной конференции на тему «Состояний науки в республике» Душанбе, 2015. Стр. 109-116.
156. Кадыров, А.Х. Синтез, свойства пропан-1,2-диолевых эфиров холановых кислот / Кадыров А.Х., Самандаров Н.Ю. Кодиров Ш.А.//Материалы республиканской конференции: «Состояние химической науки её преподавание в образовательных учреждениях республики Таджикистан» Душанбе-2015. Стр.99-104.
157. Патент РТ № ТЈ 643. Настойка «Фитосуман», обладающая бактериостатическим действием. /Кадыров А.Х., Махкамова Б. Х., Самандаров Н.Ю., Холов Ё. К., Кадыров Ш. А.// Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 14. 05. 2014 г.
158. Самандаров, Н.Ю. Синтез на основе глицидного эфира $3\alpha,7\beta$ -дигидроксихолановой кислоты. / Самандаров. Н. Ю., Кадыров А.Х., Раджабов. С.И. //Республиканская конференция «Координационная химия и ее значение в развитии народного хозяйство» с международным участием, посвященная памяти д.х.н., профессора Юсуфова Зухуриддина Нуриддиновича. -2011г. Душанбе.С.158-161.
159. Самандаров, Н.Ю. Поведение сложных эфиров 3α - 7β -дигидрокси холановой кислоты в реакциях ацилирования. / Самандаров Н.Ю., Кадыров А.Х., Махкамова Б.Х., Сухробов П.Ш.// Достижения и перспективы развития медицинской науки. Материалы IX годичной научно практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием. стр. 272. Душанбе 2013г.

160. Самандаров, Н. Ю. Синтез на основе глицидного эфира $3\alpha,7\beta$ – дигидроксихолановой кислоты. / Самандаров Н. Ю., Кадыров А. Х., Раджабов С.И. // Международная конференция «Химия производных глицерина: синтез, свойства и аспекты их применения», посвященная международному году химии и памяти д.х.н., профессора член-корреспондента АН РТ Кимсанова Б.Х. Душанбе – 2011г. ТНУ (28-29 октября 2011г.) С. 68-70.
161. Самандаров, Н. Ю. Синтез сложных эфиров 3α -, 7β – дигидрохолановой кислоты./ Самандаров Н. Ю., Кадыров А.Х., Раджабов С.И. // Международная конференция «Химия производных глицерина: синтез, свойства и аспекты их применения», посвященная международному году химии и памяти д.х.н., профессора член-корреспондента АН РТ Кимсанова Б.Х. Душанбе – 2011г. ТНУ (28-29 октября 2011 г) С. 70-71.
162. Кадыров, А.Х. Исследование гепатопротективных холелитолитических свойств «Урсослит»-А.Х. Кадыров, Н.Ю. Самандаров, Ш.А. Кодиров, Б.Х. Махкамова. // «Медицинская наука и образование» материалы 62- ой годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибн Сино, посвященной 20-летию Конституции Республики Таджикистан. Душанбе, 2014г Стр. 218-219.
163. Патент РТ № ТЈ 583. 3-хлорбензо (В) тиофен-2-карбоксии гидразид- 3α , 7α -дигидрокси-12-кетохолановой кислоты, обладающий антибактериальной активностью /Кадыров А.Х., Мироджов Г.К., Назарова З. Дж., Махкамова Б. Х., Самандаров Н.Ю., Султонмамадова М.П., Абдурахимова М.К., //Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 12. 07. 2013г.

164. Кадыров, А.Х. Синтез ацилпроизводных сложных эфиров 3α , 7β – дигидроксихолановой кислоты. /А.Х. Кадыров, С.И. Раджабов, Н.Ю. Самандаров. //Журнал научных публикации аспирантов и докторантов 2012. с. 107-110.

П р и л о ж е н и е

ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ДАВЛАТИИ
ПАТЕНТИ

НАХУСПАТЕНТ

№ ТҶ 579

БА ИХТИРОИ

*Эфири 1,2-пропан-диоли туршобан 3 α , 7 β -дигидрокси холонат ба сифати
маводи холелитолитикӣ ва гипохолестеринӣ*

Дорандаи
нахустпатент Кодиров А.Х.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Кодиров А.Х., Мирочов Ғ.Қ., Назарова З.Дж.,
Султонмамадова М.П., Самандаров Н.Ю., Абдурахимова М.Қ.,
Кодиров Ш.А.

Аввалияти ихтироъ 12.07.2013

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 12.07.2013

Аризаи № 1300796

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 18 сентябри с. 2013 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
этибор дорад аз 12 июли с. 2013 то 12 июли с. 2023



ДИРЕКТОР

Курбанов Ҷ.Ҷ.



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **579**

(51) **МПК(2012) С07**
J 9/00

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

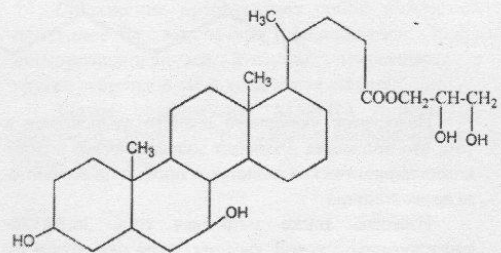
(21) 1300796
(22) 12.07.2013
(46) Бюл.88, 2013
(71) Кодиров А.Х.(ТJ).
(72) Кодиров А.Х.(ТJ); Мироджов Г.К. (ТJ);
Назарова З.Д. (ТJ); Султонмамадова М.П. (ТJ);
Самандаров Н.Ю. (ТJ); Абдурахимова М.К. (ТJ);
Кодиров Ш.А. (ТJ).
(73) Кодиров А.Х.(ТJ).
(54)Пропан-1,2-диоловый эфир 3 α ,7 β -дигидрокси-
холановой кислоты в качестве холелитолитическое
и гипохолестеринемическое средства (56) 1. Гребнев
А.Л., Геня Л.П. Отделные результаты холе-
литической терапии у больных желчнокаменной
болезнью препаратами хено- и урсодезоксихоле-
вой кислот. //В журнале клиническая медици-
на. 1991,№6.-с.63-66.
2. Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х.,
Назарова З.Д. Глицериновый эфир 3 α ,7 β -
дигидроксихолановой кислоты, способ его по-
лучения и применение в качестве лекарственно-
го средства. //Патент РТ № TJ-237.
БЮЛ. №3.(15). 1999г.
Petron M.L. Jazrazi R.P. et al. Ursodeoxycholic
acid alone or with chenodeoxycholic acid for
dissolution of cholesterol gallstones: a random-

2

ized multicentre trial. Aliment. Pharmacol. Ther.
2001. Vol. 15. -p.123-128

(57) Изобретение относится к области синтеза биоло-
гически активных химических соединений, прояв-
ляющих холелитолитический и гипохолестеринемиче-
ский свойства.

Пропан-1,2-диоловый эфир 3 α ,7 β -
дигидроксихолановой кислоты, формулы:



ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ДАВЛАТИИ
ПАТЕНТИ

НАХУСПАТЕНТ

№ ТҶ 643

БА ИХТИРОИ

НАҚЕЪИ «ФИТОСУМАН», ҲАМЧУН МАВОДИ ЗИДДИМИКРОБИ

Дорандаи
нахустпатент Кодиров А.Х.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Кодиров А.Х., Маҳкамова Б.Х., Самандаров Н.Ю.,
Холов Ё.К., Кодиров Ш.А.

Аввалияти ихтироъ 14.05.2014

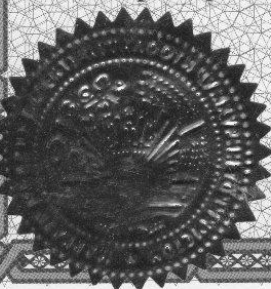
Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 14.05.2014

Аризаи № 1400857

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 10 ноябри с. 2014 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
эътибор дорад аз 14 май с. 2014 то 14 май с. 2024



ДИРЕКТОР

Курбонов Ҷ.Ҷ.



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **643**

(51) **МПК(2014)**
A 61 K 36/00

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

- (21) 1400857
(22) 14.05.2014
(46) Бюл.99, 2014
(71) Кодиров А.Х. (ТJ)
(72) Кодиров А.Х. (ТJ); Махкамова Б.Х. (ТJ); Самандаров Н. Ю. (ТJ); Холов Ё.К.(ТJ); Кодиров Ш.А. (ТJ)
(73) Кодиров А.Х. (ТJ)
(54) **НАСТОЙКА «ФИТОСУМАН», ОБЛАДАЮЩАЯ БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ.**
(56) 1.Водолазова С.В., Маделец М.А., Карпова М.Р., Саранчина Ю.В. антимикробная активность эфирных масел и водных извлечений из лекарственных растений Хакасии // Сибирский медицинский журнал. Вип.2-2, т.26. 2011-с.1-7
2.Листова З.А., Устинков Б.А., Бурачевский И.И., Барамидзе Г.А., Пушкарев А.М., Пушкарева П.И. «Композиция ингредиентов для Горно-Алтайского бальзама» АС СССР № 968066, кл. с12 G3/06/ 1982.
(57) Изобретение относится к медицине и может быть использовано в качестве бактериостатическим препарата, особенно при острой и хронической дизентерии.
Настойка содержит душицу, зверобой, цветы и листья кипрея, мяту, радиола розовую, апельсиновое масло, колер и водно-спиртовую жидкость, в состав которой дополнительно введены ягоды барбариса, ореховые перегородки, бадан, черему-

2

ху, дубовую кору, ишим, Melissa, орех мускатный, артемизию, базилик, полынь, зизифору, розу казанликскую, каперсы, ягоды боярышника, солодку и сахар при следующем соотношении ингредиентов кг/1000 дал:

- Радиола розовая 1,25-25
- Ягоды барбариса 1,25-1,35
- Ореховые перегородки 0,6-1,0
- Бадан 1,25-2,0
- Черемуха 2,0-3,0
- Дубовая кора 1,5-1,75
- Зверобой 0,75-1,25
- Ишим 0,75-1,25
- Мелисса 0,25-0,75
- Мускатный орех 0,4-0,9
- Артемизия 0,4-0,6
- Душица 0,25-0,4
- Базилик 0,2-0,4
- Полынь 0,2-0,4
- Зизифора 0,25-0,4
- Мята колосовая 0,2-0,4
- Роза казанликская 0,2-0,25
- Каперсы 0,2-0,4
- Цветы и листья кипрея 1,0-1,5
- Ягоды боярышника 1,15-2,0
- Апельсиновое масло 0,015-0,017
- Солодка 1,05-1,25
- Сахар 140-150
- Колер 25-27,5
- Водно-спиртовая жидкость - остальное

ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ДАВЛАТИИ
ПАТЕНТИ

НАХУСПАТЕНТ

№ ТҶ 583

БА ИХТИРОИ

*3-хлорбензо[в]тиофен – 2-карбокси гидразид-3а, 7а-дигидрокси-12-кето
туршобай холонати дорои ҳосияти зиддимикробӣ*

Дорандаи
нахустпатент Кодиров А.Х.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Кодиров А.Х., Мирочов Ғ.К., Назарова З.Дж.,
Маҳкамова Б.Х., Султонмамадова М.П., Самандаров Н.Ю.,
Абдурахимова М.К.

Аввалияти ихтироъ 12.07.2013

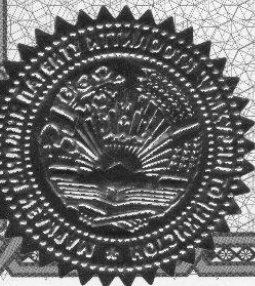
Таърихи рузи пешниҳоди ариза 12.07.2013

Аризаи № 1300797

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 30 сентябри с. 2013 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
эътибор дорад аз 12 июли с. 2013 то 12 июли с. 2023



ДИРЕКТОР

Курбонов Ҷ.Ҷ.



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **583**

(51) **МПК(2012) C07**
J 9/00

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 1300797
(22) 12.07.2013
(46) Бюл.89, 2013
(71) Кодиров А.Х. (TJ).
(72) Кодиров А.Х. (TJ); Мироджов Г.К. (TJ);
Назарова З.Дж. (TJ); Махкамова Б.Х. (TJ);
Султонмамадова М.П.. (TJ); Самандаров Н.Ю.
(TJ); Абдурахимова М.К. (TJ).
(73) Кодиров А.Х. (TJ).

(54) **3-хлорбензо[b]тиофен-2-карбоксии гидразид-3 α ,7 α -дигидрокси-12-кетохолановой кислоты, обладающий антибактериальной активностью.**

(56) 1. Махкамова Б.Х., Кадыров А.Х., Каримов Г.К., Некоторые реакции хлорангидрида 3-хлорбензо[b]тиофен-2-карбоновой кислоты. //Докл. АН РТ. 2004, т.47, №1-2. -с. 19-22.

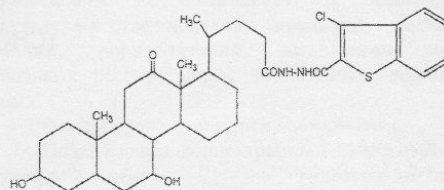
2. Сокольник В.Н., Маслов М.А., Морозова Н.Г., Серебриникова Г.А. Синтез поликатионных амфифилов на основе холевой кислоты. //Вестник МИТХТ, 2010, т. 5., №6. -с.58-62.

(57) **3-хлорбензо[b]тиофен-2-карбоксигидразид-3 α ,7 α -дигидрокси-12-кетохолановой кислоты, обладающий антибактериальной активностью**

2

(57) Изобретение относится к области синтеза биологически активных химических соединений, проявляющих антимикробность по отношению к полевым культурам: (стафилококка, нокардии, пастареллы, коринбактерии выделенных от животных заболевшим респираторным заболеванием).

3-хлорбензо[b]тиофен-2-карбоксии гидразид-3 α ,7 α -дигидрокси-12-кетохолановой кислоты, формулы:



ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ДАВЛАТИИ
ПАТЕНТИ

НАХУСПАТЕНТ

№ ТҶ 662

БА ИХТИРОИ

*12 α -ТОЗИЛОКСИЭФИРИ 3 α , 7 α -ДИАТСЕТОКСИ 5 β -МЕТИЛ ТУРШОБАИ
ХОЛОНАТ ҲАМЧУН МАВОДИ ЗИДДИМИКРОБИ*

Дорандаи нахустпатент Кодиров А.Х., Махкамова Б.Х., Самандаров Н.Ю., Назарова З.Ч.,
Кодиров Ш.А., Султонмамадова М.П.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Кодиров А.Х., Махкамова Б.Х., Самандаров Н.Ю.,
Назарова З.Ч., Кодиров Ш.А., Султонмамадова М.П.

Аввалияти ихтироъ 09.06.2014

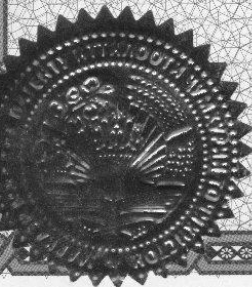
Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 09.06.2014

Аризаи № 1400862

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 22 декабри с. 2014 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
эътибор дорад аз 9 июни с. 2014 то 9 июни с. 2024



ДИРЕКТОР

Курбонов Ҷ.Ҷ.



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **662**
(51) **МПК(2014)**
C07 G9/00

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**

К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 1400862
(22) 09.06.2014
(46) Бюл. 101, 2014
(71) Кодиров А.Х.(ТJ); Махкамова Б.Х.(ТJ); Самандаров Н.Ю.(ТJ); Назарова З.Дж.(ТJ); Кодиров Ш.А.(ТJ); Султонмамадова М.П.(ТJ).
(72) Кодиров А.Х.(ТJ); Махкамова Б.Х.(ТJ); Самандаров Н.Ю.(ТJ); Назарова З.Дж.(ТJ); Кодиров Ш.А.(ТJ); Султонмамадова М.П.(ТJ).
(73) Кодиров А.Х.(ТJ); Махкамова Б.Х.(ТJ); Самандаров Н.Ю.(ТJ); Назарова З.Дж.(ТJ); Кодиров Ш.А.(ТJ); Султонмамадова М.П.(ТJ).
(54) **12 α -ТОЗИЛОКСИЭФИР -3 α , 7 α -ДИАЦЕТОКСИ 5 β -МЕТИЛХОЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОМИКРОБНОГО СРЕДСТВА.**
(56) Соколовник В.Н., Маслов М.А., Морозова Н.Г., Серебренникова Г.А. Синтез поликатион-

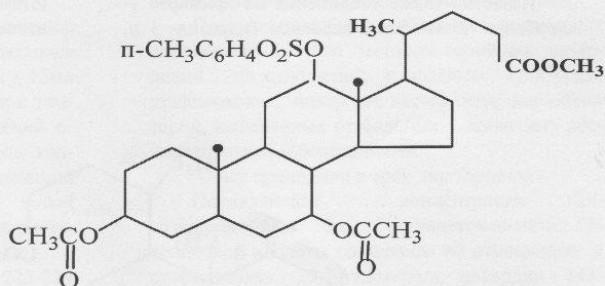
2

ных амфифилов на основе холевой кислоты. Вестник МИТХТ, 2010, т.5, №6, -с.58-63.

2. А.Х. Кадыров, Г.К. Мироджов, З. Дж., Назарова Б. Х., Махкамова Н.Ю., Самандаров, М. П., Султонмамадова, М.К. Абдурахимова, М.П. Султонмамадова. 3-хлорбензо (В) тиофен-2-карбоксии гидразид- 3 α , 7 α гадрозид-12-кетохолановой кислоты, обладающий антибактериальной активностью. Малый патент РТ № ТJ 583.

(57) Изобретение относится к области синтеза биологически активных химических соединений, проявляющих антимикробность по отношению к полевым культурам: стафилококка, нокардии, пастареллы, коринбактерий,

12 α -тозилоксиэфир -3 α , 7 α -диацетокси метил-5 β -холановой кислоты в качестве противомикробного средства имеет формулу:



ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ДАВЛАТИИ
ПАТЕНТИ

НАХУСТПАТЕНТ

№ ТҶ 525

БА ИХТИРОИ

ТАРЗИ ТАШҲИСИ БЕМОРИИ ЧАРЪНОКШАВИИ ЧИГАР

Дорандаи
нахустпатент Кодиров А.Х.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Кодиров А.Х., Мирочов Г.К., Хучамуродов М.Х.,
Самандаров Н.Ю., Кодиров А.А., Абдурахимова М.К., Султонмамадова М.П.

Аввалияти ихтироъ 02.12.2011

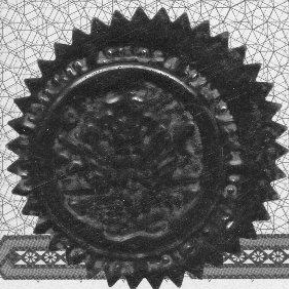
Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 02.12.2011

Аризаи № 1100683

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 4 сентябри с. 2012 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
эътибор дорад аз 2 декабри с. 2011 то 2 декабри с. 2021



ДИРЕКТОР

 Курбонов Ч.Ч.



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **525**

(51) **МПК(2011.01) А 61 В**
10/00; G01N 30/00; G01N 33/15

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

- (21) 1100683
(22) 02.12.2011
(46) Бюл.76, 2012
(71) Кодиров А.Х. (ТJ).
(72) Кодиров А.Х. (ТJ); Мироджов Г.К. (ТJ);
Худжамуродов М.Х. (ТJ); Самандаров Н.Ю. (ТJ);
Кодиров А.А. (ТJ); Абдурахимова М.К. (ТJ); Сул-
тонмамадова М.П. (ТJ).
(73) Кодиров А.Х. (ТJ).

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ЖИРОВОЙ БО- ЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

(56) 1. В.Т. Ивашкин, О.М. Дропкина, Ю.О. Шуль-
пекова. Диагностика и лечение неалкогольной
жировой болезни печени (Методические рекоменда-
ции)-М. ООО «Издательский дом» М-Вести,
2009-20с.

2. Donnelly K.L., Smith C.J. et al. Sources of
fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in
patients with nonalcoholic fatty liver disease // J.clin.
Invest. -2005.- 115,1343-51.

3. С.Д.Подымова. Жировой гепатоз. Неалко-
гольной стеатогепатит (эволюция представлений о

2

клинико-морфологических особенностях, прогно-
зе, лечении). Тер. Архив, 2006. № 4 с. 32-38.

(57) Изобретение относится к медицине и может
быть использовано для диагностики жировой бо-
лезни печени.

Способ заключается в том, что 0,25мл сыво-
ротки крови заливают в пробирку, добавляют 5мл
хлороформ-метанольной смеси (2:1) и взбалтыва-
ют в течение 10 мин. Далее фильтруют, добавляют
0,5мл дистиллированной воды и центрифугируют в
течение 10 мин. Хлороформный экстракт отделя-
ют, выпаривают досуха, добавляют 2мл абсолют-
ного метанола и 1 каплей концентрированной сер-
ной кислоты метилируют в течение 30 мин. Затем
дважды экстрагируют смесью эфира с гексаном
(1:1), экстракт промывают водой, сушат над суль-
фатом натрия, фильтруют и удаляют растворитель.
Остаток растворяют в 0,2мл этилового спирта.
Далее проводят газохроматографическое исследо-
вание и определяют содержание высших жирных
кислот.

ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ДАВЛАТИИ
ПАТЕНТИ

НАХУСТПАТЕНТ

№ ТҶ 524

БА ИХТИРОИ
ТАРЗИ ТАШХИСИ БЕМОРИИ ЧАРЪНОКШАВИИ ЧИГАР

Дорандаи
нахустпатент Кодиров А.Х.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон

Муаллиф(он) Кодиров А.Х., Мирочов Г.К., Хучамуродов М.Х.,
Самандаров Н.Ю., Кодиров А.А., Абдурахимова М.К., Султонмамадова М.П.

Аввалияти ихтироъ 02.12.2011

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 02.12.2011

Аризаи № 1100682

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои

Ҷумҳурии Тоҷикистон 4 сентябри с. 2012 ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
эътибор дорад аз 2 декабри с. 2011 то 2 декабри с. 2021



ДИРЕКТОР

Курбанов Ҷ.Ҷ.



Республика Таджикистан

(19) **TJ** (11) **524**

(51) **МПК(2011.01) А 61 В**
10/00; G 01 N 30/00; 33/15

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения**
К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

- (21) 1100682
(22) 02.12.2011
(46) Бюл.76, 2012
(71) Кодиров А.Х. (ТJ).
(72) Кодиров А.Х. (ТJ); Мироджов Г.К. (ТJ); Худ-
жамуродов М.Х. (ТJ); Самандаров Н.Ю. (ТJ); Ко-
диров А.А. (ТJ); Абдурахимова М.К. (ТJ); Султон-
мамалова М.П. (ТJ).
(73) Кодиров А.Х. (ТJ).
(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ЖИРОВОЙ БО-
ЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ
(56) 1. Lonardo A., Lambardini S., Scaglioni F., Caruli L.,
Ricchi M., Ganazzi D., Adinolfi L.E., Ruggiero G., Coruli
N., Loria P. Hepatic steatosis and insulin resistence: does
etiology make a differences? //J.Hepatol.- 2006, jan.-№44
(1). -p. 190-196.
2. Grempler R., Gunter S., Steffensen K.R., Nilsson
M., Barthel A., Schmolli D., Walther R. Evidence for an
indirect transcriptional regulation of glucose-6-phosphatase

2

gene expression by liver x receptors.//Am. J.Gastroenterol.-
2006 Jan.-Vol. 101(1).-P. 70-75.

3. Вахрушева Я.М., Сучкова Е.В. Жировой ге-
патоз//Тер. Арх., т. 78, №11,-с. 83-86.

(57) Изобретение относится к медицине и может
быть использовано для диагностики жировой бо-
лезни печени.

Сущность заявленного способа заключается в га-
зохроматографическом определении содержания
желчных кислот в сыворотке крови и осуществляет-
ся путем экстрагирования конъюгированных и
свободных желчных кислот с последующим гид-
ролизом и метилированием в среде метанола в
присутствии следов концентрированной серной
кислоты. Метилловые эфиры желчных кислот эк-
страгируют дважды эфиром, промывают водой и
сушат над сульфатом натрия. Затем фильтруют и
перегоняют эфир досуха, остаток подвергают газо-
хроматографическому анализу.