

Тематическое направление: Химический состав растений рода *Amaranthus*. Часть 2.

Ингибирование биосинтеза и метаболизма сквалена

© Фурсова Антонида Владимировна и Офицеров Евгений Николаевич*⁺

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева. Миусская пл., 9.

г. Москва, 125047. Россия. Тел.: (495) 978-32-61. E-mail: ofitser@mail.ru

*Ведущий направление; ⁺Поддерживающий переписку

Ключевые слова: амарант, сквален, ингибиторы синтеза, скваленсинтаза, скваленэпоксидаза, 2,3-оксидоскваленциклаза.

Аннотация

Снижение риска сердечно-сосудистых заболеваний является одной из ключевых проблем современной медицины, решение которой определяется как профилактикой, так и разработкой новых лекарственных средств. В обзоре рассмотрен подход, основанный на снижении уровня связанного с липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) холестерина – ключевого фактора риска, за счет ингибирования как синтеза, так и метаболизма сквалена. Рассмотрены ингибиторы, как природные, так и синтетические, фермента скваленсинтазы и ферментов синтеза ланостерина: ингибиторы скваленэпоксидазы и ингибиторы 2,3-оксидоскваленциклазы.

Содержание

Введение

1. Природные соединения и их химические аналоги как ингибиторы СС
2. Ингибиторы скваленэпоксидазы
3. Ингибиторы СЭ грибов
4. Ингибиторы СЭ млекопитающих
5. Ингибиторы оксидоскваленциклазы

Введение

Одним из основных подходов к снижению уровня связанного с липопротеинами низкой плотности холестерина, ключевого фактора риска заболеваний сердечно-сосудистой системы, является ингибирование его биосинтеза [1, 2] на различных этапах. Используя этот подход было разработано несколько отдельных классов ингибиторов: ингибиторы биосинтеза мевалоната, ингибиторы биосинтеза сквалена, ингибиторы биосинтеза ланостерола.

Из приведенной на рис. 1 схемы синтеза холестерина следует, что ингибирование на стадиях до образования сквалена отражается негативно на синтезе убихинона, долихола и их важных производных. Поэтому наиболее перспективным представляется поиск ингибиторов фермента скваленсинтазы (СС) и, особенно, ферментов синтеза ланостерола.

Для пути синтеза сквалена характерно то, что промежуточные метаболиты можно подразделить на три группы: производные кофермента А, дифосфаты и высоко липофильные соединения (от сквалена до холестерина), связанные с переносчиками стероидов.

После биосинтеза, сквален может быть транспортирован в другие участки тела для проникновения в ткани, или может дальше метаболизировать, приводя к образованию холестерина и стероидных гормонов.

Биосинтез холестерина из сквалена происходит в клетках печени. Сквален циклизуется с потреблением кислорода в ланостерин, С₃₀-стерин, от которого на последующих стадиях, катализируемых *цитохромом P450*, отщепляются три метильные группы, вследствие чего образуется конечный продукт – холестерин (схема 1).

На первом этапе происходит окисление терминальной двойной связи сквалена под действием скваленэпоксидазы, приводящее к образованию 2,3-оксидосквалена, который в

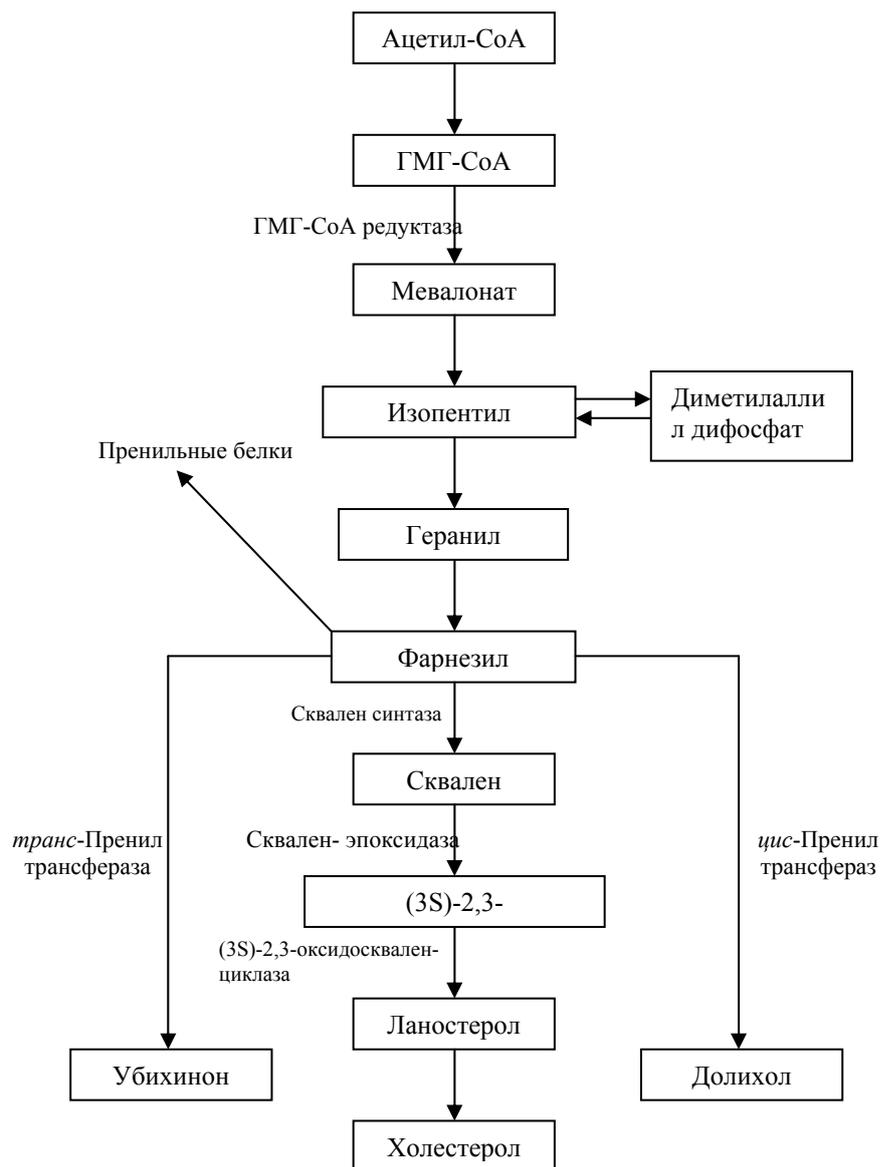
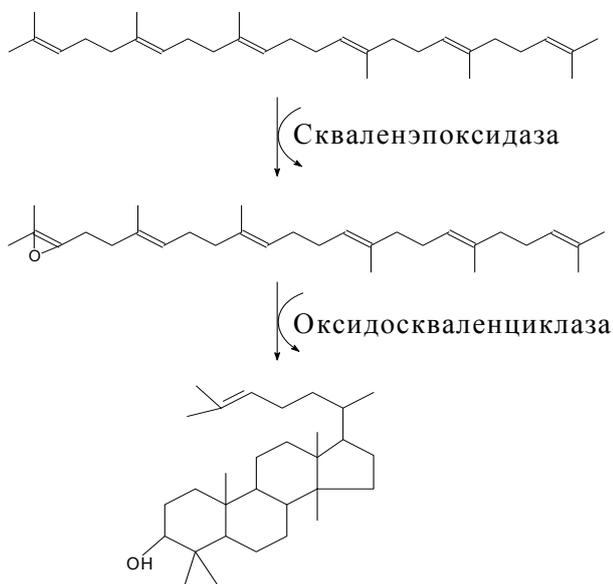


Рис. 1. Схема синтеза и метаболизма сквалена

Схема 1



Стоит упомянуть, что ингибирование скваленэпоксидазы и оксидоскваленциклазы – основное направление при разработке средств лечения заболеваний, связанных с неправильным липидным обменом, в том числе и ожирением, и повышенным уровнем холестерина.

1. Природные соединения и их химические аналоги как ингибиторы СС

Скрининг микроорганизмов-продуцентов ингибиторов СС, оказался весьма плодотворным. Итогом работы нескольких фармацевтических компаний стало открытие новейших грибковых метаболитов, проявившие себя сильными ингибиторами СС.

Сквалестатин 1 (Саракозавая кислота А), 2 и 3 (рис. 2) были изолированы из *Phoma* C2932 и структурно охарактеризованы [3-5]. Общим для всех трех соединений является гидрофильный центральный участок – 2,8-диоксобицикло[3.2.1]октан-4,6,7-тригидрокси-3,4,5-трикарбоновая кислота. Они отличаются друг от друга боковой алкильной цепью и наличием сложноэфирной связи с жирной кислотой.

Эти соединения проявили сильную активность в отношении СС как у млекопитающих (печень крыс), так и у грибов (*Candida albicans*). Они также проявляют широкий спектр фунгицидной активности *in vitro* [6].



Рис. 2. Сквалестатины

Саракозовые кислоты А, В и С (рис. 2, 3) были выделены из стерильных грибковых культур ATCC 20986, *Sporormilla intermedia* и *Leptodontium elatius* [7, 8]. Изучение структуры и абсолютной конфигурации саракозавой кислоты А, подтвердили ее идентичность сквалестатину 1.

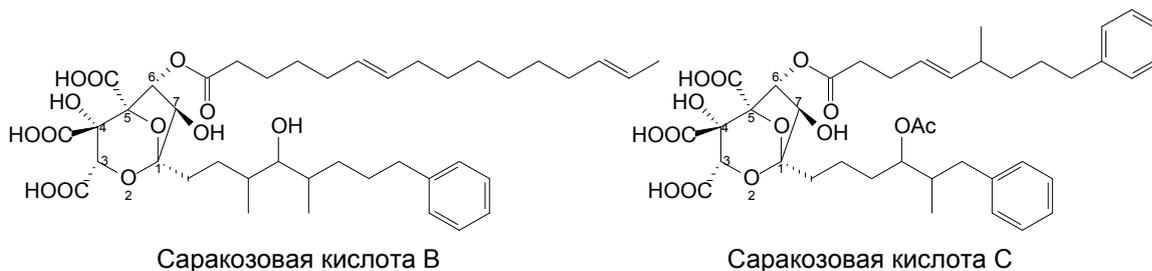


Рис. 3. Саракозовые кислоты В и С

Каждый член этого класса – сильный конкурентный ингибитор СС на пиколярном уровне. Значения K_i для саракозовых кислот А, В и С составляют 78, 29 и 45 пМ, соответственно. Каждое соединение проявляет зависимое от дозы ингибирование биосинтеза холестерина с $IC_{50} = 6$ мкМ, 0.6 мкМ и 4 мкМ соответственно. Саракозавая кислота С также проявляет высокую фунгицидную активность в отношении дрожжей и мицелиальных грибов [9].

IC_{50} сквалестатина 1 для СС крыс – 12 нМ и $IC_{50} = 39$ нМ для СС мартышек, у которых пероральное введение сквалестатина в течение 7 дней в дозе 100 мг/кг/день вызывает снижение уровня холестерина на 75% по отношению к контрольной группе, а внутривенное введение в количестве 1 мг/кг/день – на 85% [10]. Эти важные данные послужили первым

примером того, что ингибиторы СС могут эффективно снижать уровень холестерина в сыворотке крови *in vivo*.

Сквалестатин 1 и его аналоги активно изучались на ингибиторную активность и поиск модифицированных соединений [6, 11-16].

Биотрансформированный аналог саракозовой кислоты А (1) (рис. 4) ингибирует микросомальную СС раковых клеток HepG2 печени человека с $IC_{50} = 0.091$ нМ [17].

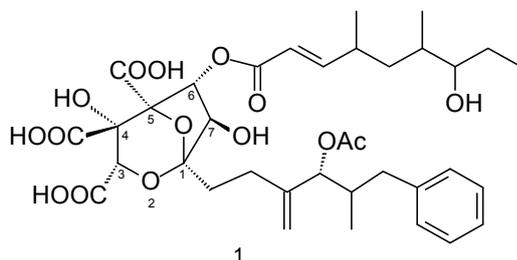


Рис. 4. Биотрансформированный аналог саракозовой кислоты А

Табл. 1. Ингибиторная активность виридиофунгинов

| Соединение | IC_{50} для микросомальной СС | | |
|-----------------|---------------------------------|-----------------|--------------------|
| | Дрожжей, мг/мл | HepG2, мг/мл | Печень крыс мкМ |
| Виридиофунгин А | 7.5 | 41.6 | 15 |
| Виридиофунгин В | 1 | 19.3 | - |
| Виридиофунгин С | 0.22 | 0.29 | - |

Бергером были представлены селективные модификации саракозовых кислот и их биологическая активность [18].

Аналог сквалестатина 1 без эфирной группы у 6-го атома углерода (сквалестатин Н1), изолированный из вида *Phoma* [4], как и сквалестатин 1, высокоэф-

фективный селективный ингибитор скваленсинтазы как *in vitro*, так и *in vivo*. Активность снижения уровня холестерина в сыворотке крови при оральном применении зависит от вида живого организма. Биологическая активность Н1 $IC_{50} = 26$ нМ для СС крыс. Внутривенное введение вещества обезьянам в дозе 1 мг/кг/день в течение 14 дней вызывает снижение уровня холестерина на 56% [6].

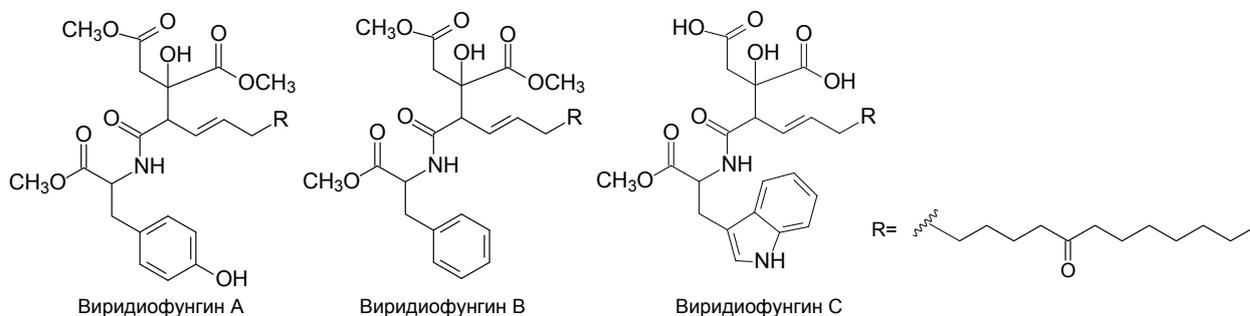


Рис. 5. Виридиофунгины

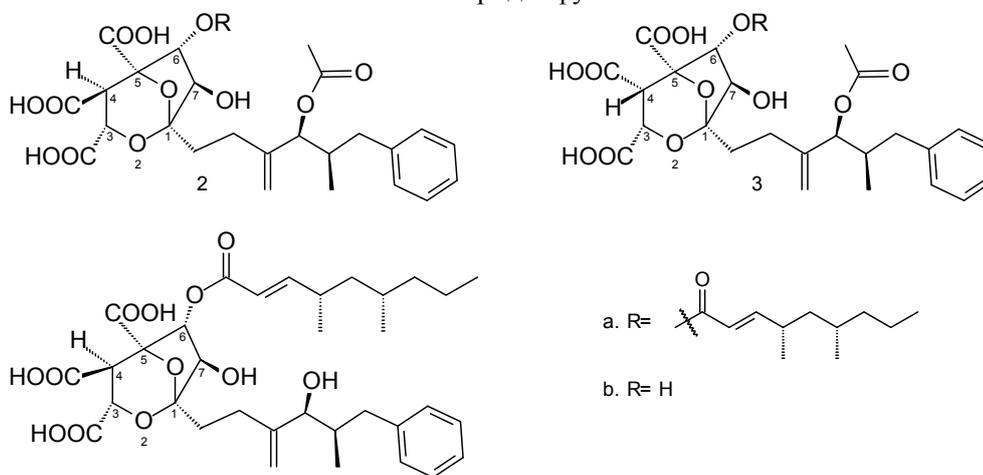


Рис. 6. C-4 дегидрокси-аналоги саракозовой кислоты

Виридиофунгины А, В и С (рис. 5), выделенные из *Trichoderma viride* ингибируют микросомальную СС дрожжей, клеток HepG2 и крысиной печени (табл. 1) [19]. Они так же демонстрируют широкий спектр фунгицидной активности и частично активны в отношении мицелиальных грибов и дрожжей, включая *Candida albicans* и *Ustilago zaeae*.

Были получены вещества (2-5) [20] на основе сквалестатина как без гидроксигруппы у 4-го атома углерода (рис. 6), так и без карбоксильных групп у 4-го (рис. 7) и 3-го (рис. 8) [21] атомов углерода.

Изучена их способность ингибировать сквален синтазу микросомальных клеток печени крыс *in vitro* (табл. 2) [20].

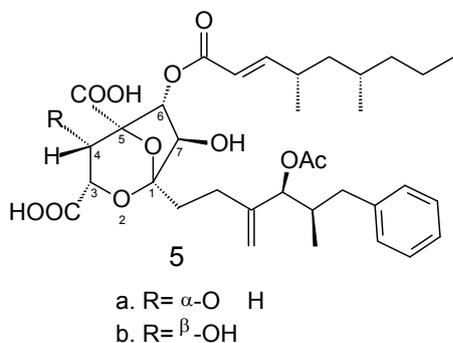


Рис. 7. С-4 декарбоксии-аналоги саракозовой кислоты

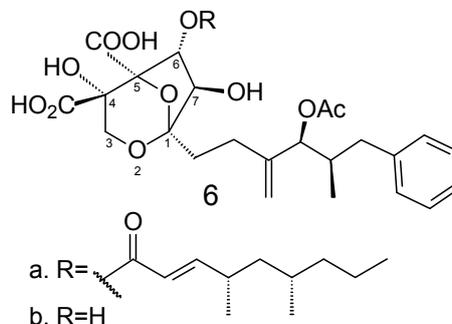
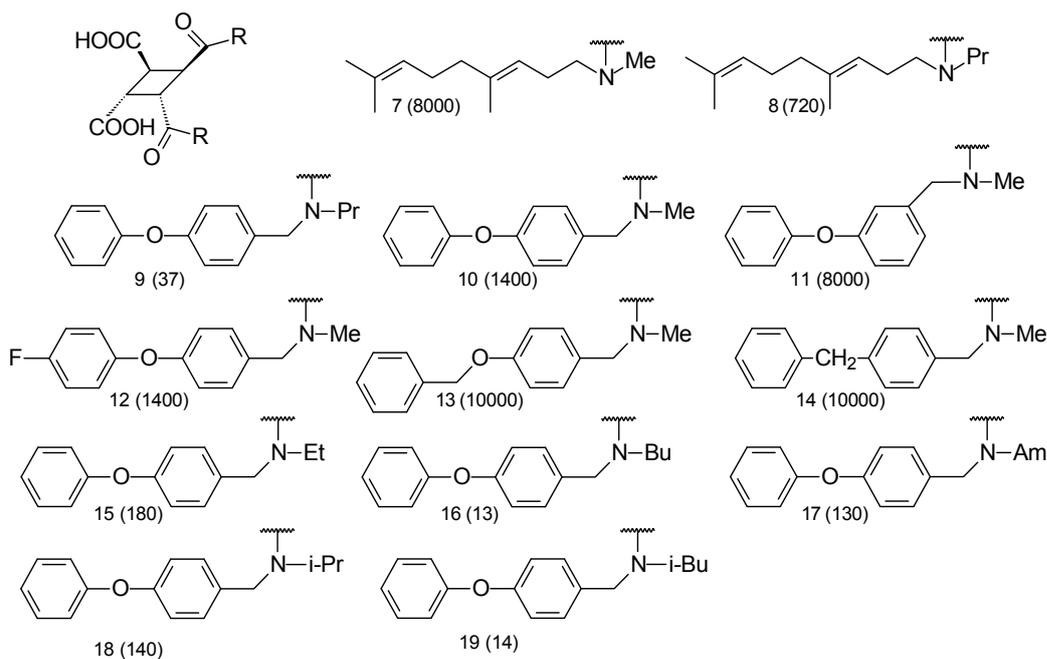


Рис. 8. С-3 декарбоксии-аналоги саракозовой кислоты



*В скобках указана величина IC_{50} в нМ.

Рис. 9. Диамиды циклобутан-дикарбоксикислот

Синтезирована серия диамидов циклобутан-дикарбоксикислотных синтетических аналогов сквалестатина (рис. 9), проявляющих ингибиторную активность по отношению к сквален синтазе *in vitro*. Активность соединения 9 изучена *in vivo* на обезьянах вида *Сynomolgus*. Вещество снижает уровень холестерина в плазме на 12% и уровень ЛПНП на 36% [22].

Фэйрлэмбом и др. представлены синтез, антимикробная активность, а также активность против СС млекопитающих (на примере СС печени свиней) аналогов сквалестатина на основе бицикло[3.2.0]гептана и бицикло[3.3.0]октана (рис. 10) [23].

Синтезирован ряд 2-[4-(гетеро)ароматических]-фенил-2-гидрокси-тетрагидро-1,4-оксазин производных (рис. 11), ингибирующих как перекисное окисление липидов ($IC_{50 \text{ max}} = 20$ мкМ), так и активность СС ($IC_{50 \text{ max}} = 1-10$ мкМ).

Табл. 2. Ингибиторная активность аналогов Саракозовой кислоты

| Соединение | Тривиальное название | Формула | Средняя величина IC ₅₀ , нМ |
|------------|-----------------------|--|--|
| S1 серия | | | |
| | Сквалестатин I | C ₃₅ H ₄₆ O ₁₄ | 12±5 |
| 2a | C-4 деокси S1 | C ₃₅ H ₄₆ O ₁₃ ·H ₂ O | 12 |
| 3a | C-4 эпидеокси S1 | C ₃₅ H ₄₆ O ₁₃ ·2H ₂ O | 120 |
| 4a | C-4 деокси S1 | C ₃₅ H ₄₄ O ₁₂ ·1.5H ₂ O | 6 |
| 5a | C-4 декарбоксии S1 | C ₃₅ H ₄₆ O ₁₂ ·H ₂ O | 60 |
| 5b | C-4 эпидекарбоксии S1 | C ₃₅ H ₄₆ O ₁₂ ·1.3H ₂ O | 60 |
| 6a | C-3 декарбоксии S1 | C ₃₅ H ₄₆ O ₁₄ | 24 |
| H1 серия | | | |
| | H1 | C ₂₅ H ₃₀ O ₁₃ | 24 |
| 2b | C-4 деокси H1 | C ₂₅ H ₃₀ O ₁₂ ·2.5H ₂ O | 300 |
| 3b | C-4 эпидеокси H1 | C ₂₅ H ₃₀ O ₁₂ ·2.5H ₂ O | 600 |
| 4b | C-3 декарбоксии H1 | C ₂₄ H ₃₀ O ₁₁ | 24000 |

Табл. 3. Замещенные гидроксиморфолины с мультиактивностью

| Соединение | R ¹ | R ² | R ³ | Ar |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------|
| 20 | H | H | CH ₃ | |
| 21 | H | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | то же |
| 22 | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | CH ₃ | то же |
| 23 | H | H | CH ₃ | |
| 24 | H | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | то же |
| 25 | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | CH ₃ | то же |
| 26 | H | H | CH ₃ | |
| 27 | H | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | то же |
| 28 | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | CH ₃ | то же |
| 29 | H | H | CH ₃ | |
| 30 | H | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | то же |
| 31 | C ₂ H ₄ | C ₂ H ₄ | CH ₃ | то же |

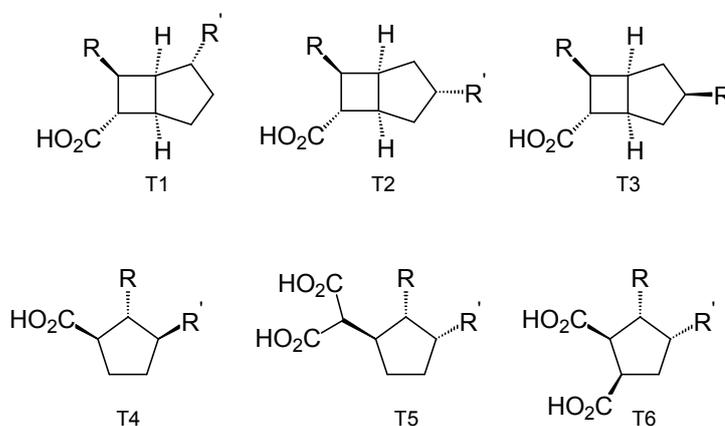
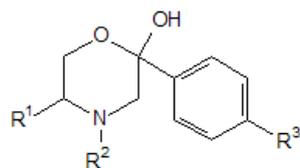
R, R¹ = аналоги фарнезила

Рис. 10. Бициклические аналоги сквалестатина



R¹= C₄H₉, H

R²= CH₃, C₄H₉

R³= Ph, 2-тиенил, 2-бромо-5-тиенил,
2-бензотиазолил, 2-FPh, 4-ClPh,
4-BrPh, 4-FPh

Рис. 11. 1,4-оксазин производные со смешанной активностью

Наряду с указанным действием, эти соединения обладают гипохолестеринемическим эффектом (снижение уровня триглицеридов, холестерина и ЛПНП-холестерина на 64, 67 и 82%, соответственно), что показано *in vivo* на крысах с гиперлипидемией [24].

В продолжение поиска полифункциональных соединений совсем недавно синтезированы новые ингибиторы СС с антиоксидантной и противовоспалительной активностями (табл. 3) [25].

Активность синтезированных антигиперлипидемических производных морфолина, в которых скомбинированы несколько фармакофорных фрагментов, изучена *in vitro* (антиоксидантная активность, ингибирование СС и липоксигеназы) и *in vivo* (антидислипидемический и противовоспалительный эффекты) (табл. 4).

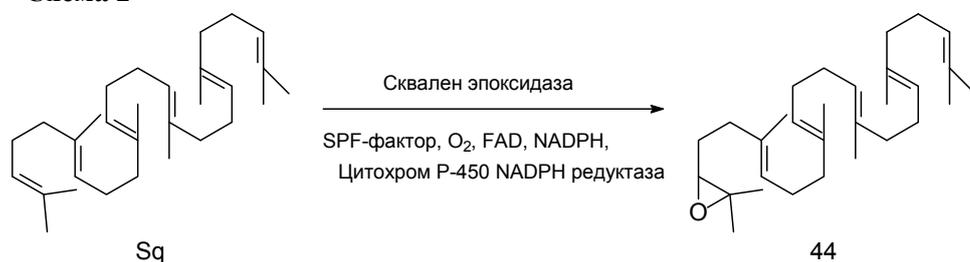
Табл. 4. Активность гидроксизамещенных морфолинов

| Соединение | Ингибирование пероксидации липидов, IC ₅₀ (мкМ) | Ингибирование микросомальной СС, IC ₅₀ (мкМ) | Ингибирование липоксигеназы, IC ₅₀ (мкМ) | % снижения по отношению к контрольной гиперлипидемической группе | | |
|------------|--|---|---|--|-----------------|--------------|
| | | | | Весь холестерин | ЛПНП-холестерин | Триглицериды |
| 32 | 900 | 155.0 | 20 | 62 | 24 | 51 |
| 33 | 390 | 18.7 | 53 | 45 | 46 | 37 |
| 34 | 220 | 40.0 | 84 | 36 | 33 | 47 |
| 35 | 640 | 135.0 | >300 | 51 | 36 | 40 |
| 36 | 440 | 130.0 | >300 | 33 | 42 | 41 |
| 37 | 600 | 15.1 | >300 | 43 | 39 | 51 |
| 38 | 30 | 6.9 | >100 | 41 | 9 | 30 |
| 39 | 65 | 18.0 | >100 | 19 | 29 | 6 |
| 40 | 48 | 1.4 | >100 | 32 | 54 | 82 |
| 41 | 71 | 1.9 | >100 | 37 | 59 | 28 |
| 42 | 117 | Не определено | >100 | 49 | 33 | 34 |
| 43 | 118 | 0.8 | >100 | 43 | 48 | 32 |

2. Ингибиторы сквален эпоксидазы

Скваленэпоксидаза (СЭ) катализирует переход сквалена (Sq) в (3S)2,3-оксидосквален (44) (схема 2). Это белок, связанный с мембранной. На ряду с кислородом СЭ необходимы

Схема 2



флавинадениндинуклотид (FAD), NADPH-цитохром Р450-редуктаза, NADPH, и SPF-фактор для активности СЭ позвоночных. СЭ из печени крыс была изучена Блохом и его группой [26-28]

и очищена до гомогенного состояния Оно и другие [29].

Также была представлена очистка СЭ свиной печени. [30] Очищенная СЭ не содержит гема и не нуждается в металле, встроенном в активный центр белка, хотя его присутствие и не исключается. Ген ERG1, кодирующий синтез СЭ, был клонирован из модифицированных клеток *Saccharomyces cerevisiae*, устойчивых к аллиламинам [31]. Уровень СЭ *in vivo* может контролироваться концентрацией как эндогенных, так и экзогенных стеролов, возможно, через механизм обратной связи. Таким образом СЭ контролирует первый этап превращения

скавалена на пути биосинтеза холестерина, и является привлекательной целью для создания гипо холестеринемических препаратов [32, 33].

3. Ингибиторы СЭ грибов

Аллиамин-фунгицидные средства нафтифин (**45**) [34] его приемник тербинафин (terbinafen) (**46**) и актуальные фунгициды толнафтат (**47**) и толциклат (**48**) [35] (рис. 12) селективно ингибируют СЭ грибов, давая альтернативную стартовую точку для создания ингибиторов, не являющихся аналогами субстрата.

Сотрудниками компании SAR синтезирован ряд соединений (рис. 12, 13) и изучена их способность ингибировать СЭ грибов (табл. 5) [35-37]. Так как аллиамины (**45-51**) несхожи структурно со скаваленом, они не могут быть аналогами субстрата фермента.

Один из предложенных механизмов действия ингибиторов СЭ включал их взаимодействие или с активным центром ко-фактора флавина, или со специфическим липидно-связанным участком СЭ, приводящее к изменению структуры самого фермента [38]. Сходная модель ингибирования показывает, что молекулы аллиламинов слабо связываются с двумя участками СЭ [39].

Табл. 5. Ингибирование СЭ *Candida albicans* аналогами, синтезированными на основе нафтифина

| Соединение | IC ₅₀ , мкМ или % ингибирования | Соединение | IC ₅₀ , мкМ или % ингибирования |
|------------|--|------------|--|
| 45 | 0.93 | 57 | 100% (1000 мкМ) 63% (100 мкМ) |
| 46 | 0.03 | 58 | 84% (1000мкМ) 37% (100 мкМ) |
| 47 | 1.0 | 59 | 2.16 |
| 48 | 0.11 | 60 | 0.04 |
| 49 | 0.045 | 61 | 0.09 |
| 50 | 0.011 | 62 | 0.05 |
| 51 | 84% (1000 мкМ) 16% (100 мкМ) | 63 | 0.05 |
| 52 | 85% (1000 мкМ) 0% (100 мкМ) | 64 | 0.42 |
| 53 | 0% (1000мкМ) | 65 | 3.87 |
| 54 | 26% (1000мкМ) 0% (100 мкМ) | 66 | 47.9 |
| 55 | 100% (1000 мкМ) 0% (100 мкМ) | 67 | 0.37 |
| 56 | 0.11 | | |

Замещение нафтифина 6,6-диметил-2-гептен-4-инильной группой приводит к образованию тербинафина (**46**) – соединения с высокой эффективностью и оральной антигрибковой активностью у млекопитающих [40-42]. Замещение цанамильной группы 4-*трет*-бутилбензиллом у **46** приводит к образованию бутенафина (**49**) [43, 44] с активностью сходной с тербинафином. Замена цинамильной группы нафтифила приводит к новому противогрибковому соединению SDZ SBA 586 (**50**) которое показало высокую эффективность и широкий спектр активности [45].

Соединение **60** также обладает широким спектром антигрибковой активности и высокой эффективностью ингибирования СЭ грибов [46, 47].

Антигрибковые аллиламины **45-49**, **51** (рис. 12) являются селективными ингибиторами СЭ грибов по отношению к СЭ млекопитающих [35, 37]. Низкая эффективность ингибирования СЭ млекопитающих отражает невозможность этих соединений влиять на биосинтез холестерина млекопитающих [48].

4. Ингибиторы СЭ млекопитающих

Ряд аналогов скавалена синтезирован и исследован на ингибиторную активность в отношении СЭ (табл. 7, 8). Триспорскваленол (**69**) был первым соединением, полученным из

сквалена, который обладал ингибиторной активностью по отношению к СЭ млекопитающих [49]. Были получены аналоги сквалена с увеличенной или уменьшенной углеродной цепью, включая изопреновые аналоги **69**, и протестированы на эффективность ингибирования СЭ печени свиньи.

Табл. 6. Различия в ингибировании СЭ противогрибковыми средствами

| Соединение | IC ₅₀ , мкМ | | | |
|-----------------|-------------------------|-----------------------------|----------------|----------------|
| | <i>Candida Albicans</i> | <i>Candida Parapsilosis</i> | Печень крыс | Свиная печень |
| (45) нафтифин | 1.1 | 0.34 | 144 | >100 |
| (46) тербинафин | 0.03 | 0.04 | 77 | 4 |
| (47) толнафат | 1.0 | Не проводилось | Не проводилось | Не проводилось |
| (48) толциклат | 0.11 | Не проводилось | Не проводилось | Не проводилось |
| (49) бутенафин | 0.045 | Не проводилось | Не проводилось | 23 |
| (50) SDZ 87-469 | 0.011 | 0.02 | 43 | 1.2 |

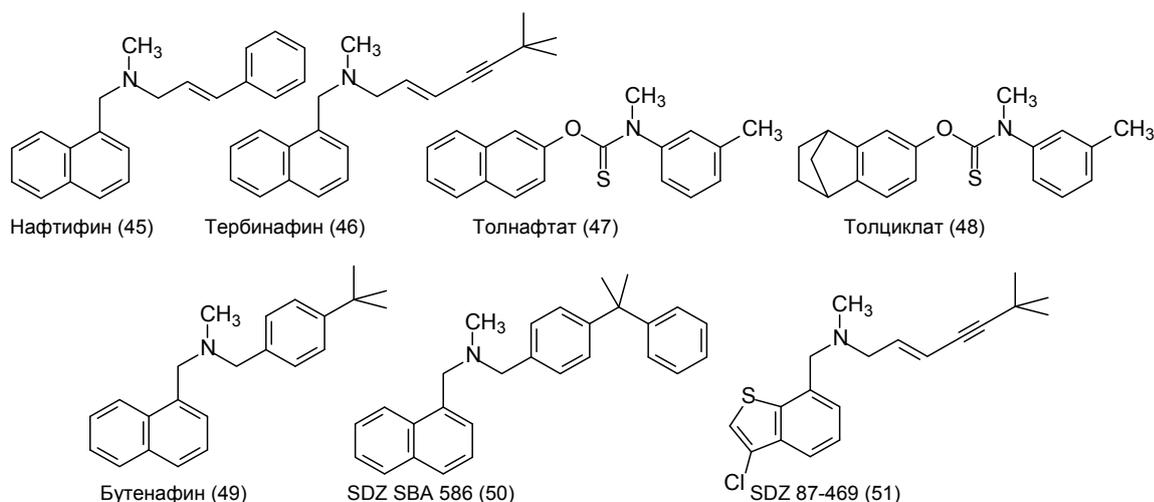


Рис. 12. Фунгициды

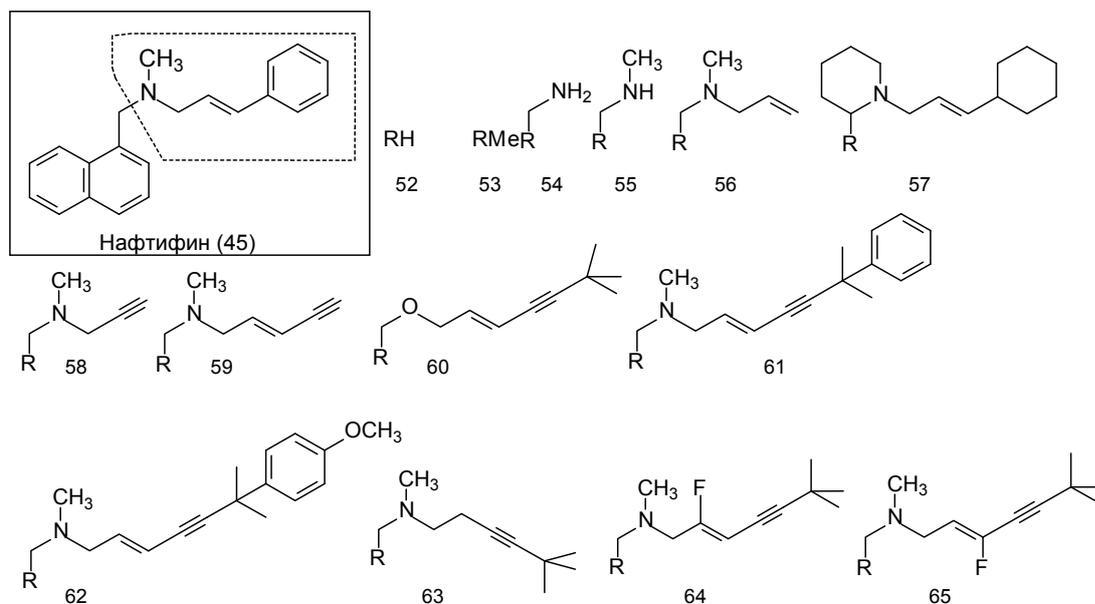


Рис. 13. Ингибиторы СЭ на основе нафтифина

Как и ожидалось, за исключением биснорскваленола (**111**), обладающего той же активностью, что и триснорскваленол, большинство структурных аналогов оказались менее эффективными ингибиторами СЭ [50]. Первичная спиртовая группа и полный фрагмент триснор-

сквалена необходимы для ингибирования СЭ. Триснорсквален гидропероксид (**74**) и триснорсквалентиол также (**75**) показали высокую эффективность [49].

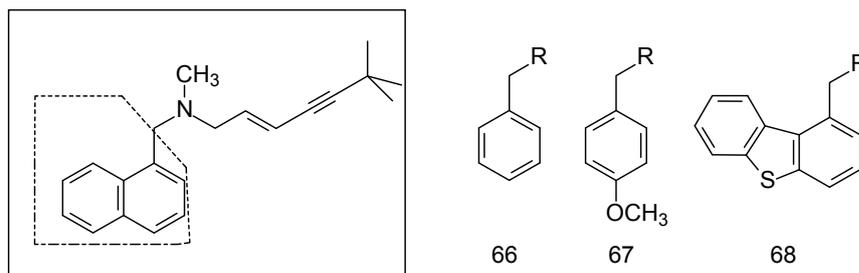
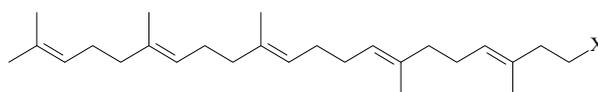


Рис. 14. Ингибиторы СЭ на основе тербинафина

Табл. 7. Ингибирование СЭ свиной печени аналогами сквалена



| Соединение | X | IC ₅₀ , мкМ | Ссылка | Соединение | X | IC ₅₀ , мкМ | Ссылка |
|------------|--|------------------------|--------|------------|---|------------------------|--------|
| 69 | CH ₂ OH | 4 | 50 | 89 | CH=C(CH ₃)F | 47* | 55 |
| 70 | CH ₂ OCH ₃ | 300 | 50 | 90 | CH ₂ CH=CF ₂ | >100* | 55 |
| 71 | CHO | 200 | 50 | 91 | (CH ₃) ₂ C=CF ₂ | >100* | 55 |
| 72 | COOH | >400 | 50 | 92 | CH=C(CH ₃)F ₂ H | -** | 72 |
| 73 | COOCH ₃ | >400 | 50 | 93 | CH=C(CH ₃)CH ₂ F | - | 72 |
| 74 | CH ₂ OOH | 4 | 50 | 94 | CH=C(CH ₃)CN | - | 72 |
| 75 | CH ₂ SH | 30 | 50 | 95 | CH=C(CH ₃)CH ₂ Si(CH ₃) ₃ | - | 72 |
| 76 | CH ₂ NH ₂ | 200 | 50 | 96 | (E)-CH=C(CH ₃)-c-C ₃ H ₅ | >400 | 60 |
| 77 | CH ₂ N(CH ₃) ₂ | 20 | 53 | 97 | CH=c-C ₃ H ₄ | >400- | 60 |
| 78 | CH ₂ NHEt | 200 | 53 | 98 | CH=C=CH ₂ | Не ингибитор | 60 |
| 79 | CH ₂ NH(<i>i</i> Pr) | Не ингибитор | 53 | 99 | CH=CCl ₂ | Не ингибитор | 60 |
| 80 | CH ₂ NH-c-C ₃ H ₅ | 2 | 53 | 100 | CH=CBr ₂ | Не ингибитор | 60 |
| 81 | CH ₂ N(CH ₃)-c-C ₃ H ₅ | 100 | 53 | 101 | CH(OH)C≡CH | 400 | 60 |
| 82 | CH ₂ N(O)(CH ₃)-c-C ₃ H ₅ | 200 | 53 | 102 | CH(O)C≡CH | Не ингибитор | 60 |
| 83 | NH-c-C ₃ H ₅ | 4 | 53 | 103 | (E)-CH=C(CH ₃)CH=CH ₂ | >400 | 60 |
| 84 | CH ₂ O-c-C ₃ H ₅ | 42* | 54 | 104 | (E)-CH=C=CHCH ₃ | 60* | 59 |
| 85 | N(NO)-c-C ₃ H ₅ | >400 | 17 | 105 | C≡CH | 200* | 59 |
| 86 | N ₃ | >400 | 17 | 106 | C≡CCH ₃ | 100* | 59 |
| 87 | CH=CF ₂ | 5.4* | 55 | 107 | CH ₂ N(OH)CH ₃ | 13 | 61 |
| 88 | CH=CHF | 100* | 55 | 108 | CH(OH)CH ₂ NO ₂ | 270 | 61 |

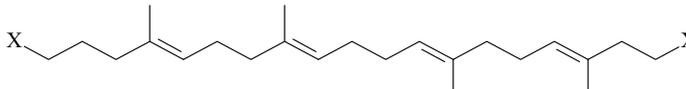
*СЭ печени крыс

**активность не установлена

Триснорсквален циклопропиламин (**80**) был первым высоко-селективным, образующим сильную связь с ферментом, ингибитором СЭ млекопитающих [51]. Аналоги соединения **80** триснорсквален *N*-метилциклопропиламин (**81**) [51], триснорсквален циклопропиловый эфир (**84**) [52] и триснорсквален циклопропил-*N*-нитрозоамин (**85**) [17] показывают более низкую силу ингибирования. Для триснорскваленциклопропиламина (**80**) и триснорсквален *N*-циклопропиламина (**83**) [53] проведены испытания на ингибирование биосинтеза холестерина в раковых HerG2 клетках: IC₅₀ = 1.0 мкМ и 0.5 мкМ соответственно. При этом **83** ингибирует как СЭ, так и эпоксистскваленциклазу [54].

Терминальный дифторолефиновый аналог сквалена (**87**) [55] и его бифункциональный аналог **109**, синтезированные Дж. Манном и Г.П. Смиттом [56], показали зависимость влияния на СЭ печени крыс от времени, связанную с необратимостью ингибирования [57].

Табл. 8. Ингибирование СЭ свиной печени бисфункциональными аналогами сквалена



| Соединение | X | IC ₅₀ , мкМ | Ссылка |
|------------|--|------------------------|--------|
| 109 | CH=CF ₂ | 4.5* | 58 |
| 110 | CH=CHF | >100* | 58 |
| 111 | CH ₂ OH | 400 | 50 |
| 112 | C≡CH | >400 | 59 |
| 113 | C≡CCH ₃ | 80* | 59 |
| 114 | (E)-CH=C=CHCH ₃ | 50* | 59 |
| 115 | CH(OH)C≡CH | >400 | 60 |
| 116 | CH=c-C ₃ H ₄ | Не ингибитор | 60 |
| 117 | (E)-CH=C(CH ₃)CH=CH ₂ | Не ингибитор | 60 |
| 118 | (E)-CH=C(CH ₃)-c-C ₃ H ₅ | Не ингибитор | 60 |
| 119 | CH=C=CH ₂ | Не ингибитор | 60 |
| 120 | CH=CBr ₂ | Не ингибитор | 60 |
| 121 | CH=CCl ₂ | >400 | 60 |

*для СЭ печени крыс

Соизмеримость активностей дифторпроизводного **87** и симметричного тетрафтор-производного **109** [58] демонстрирует возможность наличия в субстрате фермента как дифторэтиленовой группы как на одном, так и на двух концах ингибитора. Соединение **84** проявляет активность на мышах при оральном применении, доза 2 мг/кг вызывает снижение уровня холестерина на 67%, ланостерола на 60%, оксидосквалена на 33%, наряду с увеличением содержания диоксидосквалена на 152% и сквалена на 116% по сравнению с контрольной группой [17].

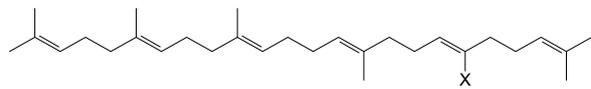
Ряд аналогов сквалена, содержащих ацетилен- (**101**, **102**, **105**, **106**, **112**, **113**), аллен- (**98**, **104**, **114**, **119**) и диен- (**103**, **117**) функциональные группы были синтезированы и исследованы на способность ингибировать СЭ [17, 59]. Для большинства соединений найдена слабая ингибиторная активность (IC₅₀ > 400 мкМ), за исключением аллена **104** (IC₅₀ = 60 мкМ для СЭ печени крыс), метилацетилена **320** (IC₅₀ = 100 мкМ для СЭ печени крыс) и бис(метилацетилена) **113** (IC₅₀ = 80 мкМ для СЭ печени крыс) [17]. Расчеты молекулярной механики говорят о том, что хороший ингибитор должен содержать гидрофобные заместители в неполярной, ненасыщенной системе, к тому же наличие про-С-3 гидроксильной группы может улучшить силу ингибирования [59].

Аналог триснорскваленола (**69**) триснорскваленметилгидроксиламин (**107**) стал первым соединением с равной силой ингибирования как для СЭ, так и для оксидоскваленциклазы (ОСЦ) [60].

Модификация С-26 метильной группы молекулы сквалена (табл. 9) дает ингибиторы, которые сначала проявили себя как конкурентные ингибиторы СЭ с механизмом связывания аналогичным субстрату. 26-Гидроксисквален (**122**) ингибирует СЭ свиной печени с IC₅₀ = 16 мкМ и превращается в смесь соответствующих 2,3-эпоксида и 22,23-эпоксида в соотношении 3:1 [61]. Более того, связывание **122** с полимером на основе N-гидроксисукцинимидом приводит к образованию родственной матрицы, подходящей для очистки СЭ. В противоположность 26-гидроксисквалену 26-альдегид (**123**) – более слабый ингибитор, а 26-амин (**313**) и 26-диазоацетат (**314**) более, чем в 100 раз менее активны [17].

Программа поиска новых соединений на базе тербинофина (**46**) привела к первым сильным ингибиторам СЭ млекопитающих из соединений этого класса (рис. 15, 16) [62].

Табл. 9. Ингибирование СЭ свиной печени 26-замещенными производными сквалена



| Соединение | X | IC ₅₀ , мкМ |
|------------|-------------------------------------|------------------------|
| 122 | CH ₂ OH | 16 |
| 123 | CHO | 70 |
| 124 | CH ₂ NH ₂ | 109 |
| 125 | CH ₂ OCOCHN ₂ | Не ингибитор |

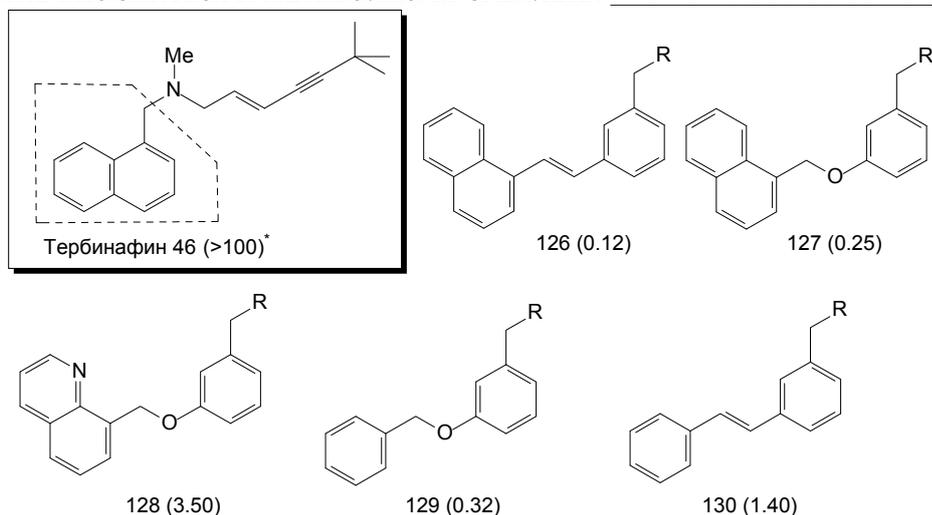


Рис. 15. Ингибиторы СЭ млекопитающих.

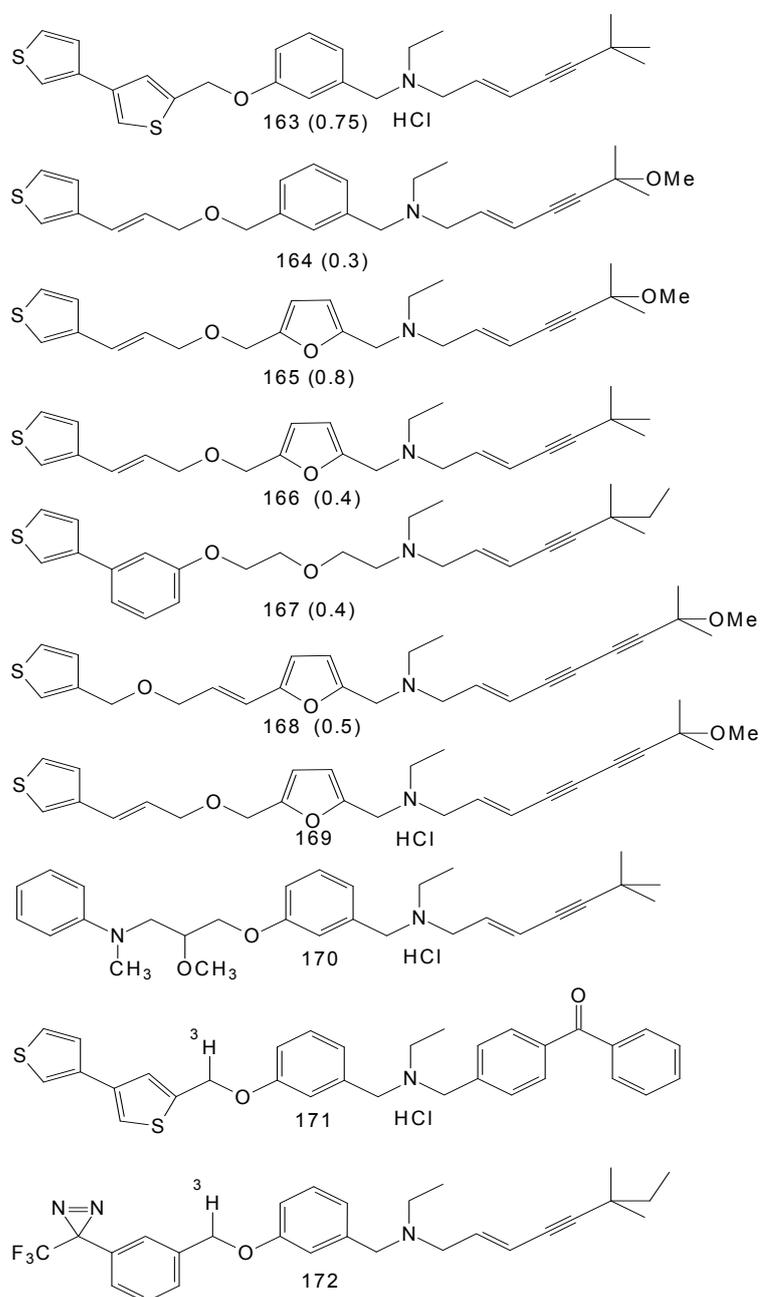
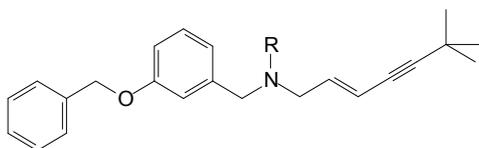
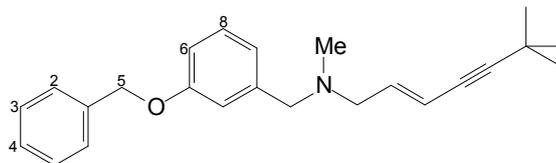
* В скобках указаны значения IC_{50} для СЭ печени крыс в мкМ.Рис. 16. Ингибиторы СЭ млекопитающих. В скобках указаны значения IC_{50} в нМ для HepG2 СЭ.

Табл. 10. Ингибирование СЭ печени крыс производными **105** с различными *N*-заместителями



| Соединение | R | IC ₅₀ , мкМ |
|------------|---|------------------------|
| 130 | CH ₃ | 1.40 |
| 131 | H | 6.80 |
| 132 | CH ₂ CH ₃ | 0.30 |
| 133 | CH ₂ CH ₂ CH ₃ | 0.27 |
| 134 | CH ₂ CH=CH ₂ | 2.10 |
| 135 | CH ₂ C≡CH | 9.60 |
| 136 | c-C ₃ H ₅ | 3.90 |

Табл. 11. Ингибирование СЭ печени крыс производными **105** с заместителем в разных позициях фенильного кольца



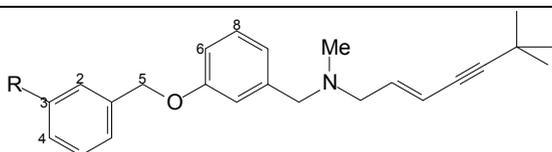
| Соединение | Позиция метильного заместителя | IC ₅₀ , мкМ |
|------------|--------------------------------|------------------------|
| 130 | | 1.40 |
| 137 | 2 | 0.56 |
| 138 | 3 | 0.66 |
| 139 | 4 | 1.80 |
| 140 | 5 | 1.40 |
| 141 | 6 | 5.60 |
| 142 | 8 | 5.10 |

Удлинение углеродного скелета между третичным атомом азота и нафтильной группой или замещение фенолом нафтильной группы в этом ряду соединений приводит к увеличению ингибиторной активности в 100 раз [62].

Изучение замещения *N*-метильной группы соединения **130** показало, что как этильная, так и пропильная группы обеспечивают оптимальную активность (табл. 10) [62].

Замещение метильной группой различных позиций бинзилоксибензильной группы соединения **130** показывает, что ее наличие предпочтительно во 2-ом или в 3-ем положении терминального фенильного кольца, так как приводит к умеренному росту активности (табл. 11) [62].

Табл. 12. Ингибирование СЭ печени крыс аналогами **105** с разными заместителями в 3-ем положении фенильной группы



| Соединение | R | IC ₅₀ , мкМ |
|------------|--|------------------------|
| 130 | H | 1.40 |
| 138 | CH ₃ | 0.66 |
| 143 | CH ₃ CH ₂ (HCl соль) | 0.36 |
| 144 | изопренил | 0.51 |
| 145 | 2-метил-1-пропенил | 3.10 |
| 146 | 2-метил-2-пропенил | 0.54 |
| 147 | 3-метил-3-бутенил | 9.70 |
| 148 | CF ₃ (HCl соль) | 3.10 |
| 149 | HO | 4.60 |
| 150 | CH ₃ O (HCl соль) | 1.40 |
| 151 | 3-метил-2-бутенилокси | 2.30 |
| 152 | нитрил (HCl соль) | 0.51 |
| 153 | формил | 6.80 |
| 154 | гидроксиметил | 0.84 |
| 155 | фенил (HCl соль) | 0.57 |
| 156 | 2-фурил (HCl соль) | 0.14 |
| 157 | 2-оксазолил | 1.20 |
| 158 | 2-циазолил | 1.20 |
| 159 | 5-оксазолил | 0.063 |
| 160 | 5-циазолил | 0.089 |
| 161 | 1-пирролил | 0.014 |
| 162 | 3-тиенил | 0.011 |

NB-598, (*E*)-*N*-этил-*N*-(6,6-диметилгепт-2-ен-4-инил)-3-[(3,3'-битиофен-5-ил)метокси]бензиламин (**163**) – высокоэффективный ингибитор СЭ позвоночных (IC₅₀ = 0.75 нМ, K_i = 0.68 нМ для СЭ HepG2 клеток человека и IC₅₀ = 4.4 нМ для СЭ печени крыс) [64].

Соединение **163** не проявляет антигрибковой активности и не ингибирует активность ОСЦ. NB-598 сильно ингибирует биосинтез холестерина в HepG2 клетках и снижает уровень холестерина в сыворотке крови собак при оральном применении [64, 65].

Более того NB-598 увеличивает активность ГМГ-СоА редуктазы и активность рецепторов ЛПНП раковых HepG2 клеток [66].

Дополнительные исследования SAR показали, что ингибирование активности СЭ может быть осуществлено, если внутренняя ароматическая группа будет заменена на другую, приводящую к изменению физических свойств вещества [67].

Одно из соединений – (**170**), гидрофильный ингибитор с улучшенной биологической активностью *in vitro* и *in vivo* [68].

Соединение (**171**) также является сильны-

ИНГИБИРОВАНИЕ БИОСИНТЕЗА И МЕТАБОЛИЗМА СКВАЛЕНА 50-75
 ми ингибитором СЭ позвоночных ($IC_{50} = 9.6$ нМ для СЭ печени крыс) [17]. Были синте-
 зированы несколько светочувствительных аналогов NB-598, таких как соединения **171** и **172**
 для исследования взаимодействия ингибитора с рецептором и выделения чистого фермента
 [17].

Исследованы различные заместители в 3-ей позиции терминального фенильного кольца
 с целью получения соединения с максимальной ингибиторной активностью (табл. 12) [62, 63].

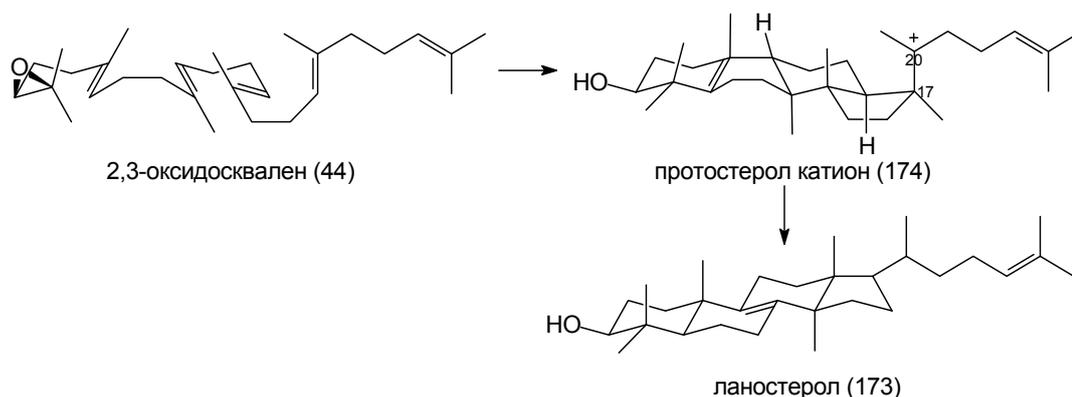
5. Ингибиторы оксидоскваленциклазы

Оксидоскваленциклаза (ОСЦ) катализирует превращение (3*S*)-1,3-оксидосквалена (**44**) в
 ланостерол (**173**), первый циклический прекурсор стеролов животных и грибов. В растениях
 оксидосквален циклизуется в циклоартенол, прекурсор фитостеролов, или в ряд тетра- и
 пентациклических тритерпенов.

Образование ланостерола и циклоартенола идет при подобию конформации кресла у 2,3-
 оксидосквалена и является протонно-катализируемой циклизацией, проходящей через ряд
 карбокатионных промежуточных соединений. Промежуточный С-20 протостеролкатион (**174**)
 подвергается перегруппировке связей, приводя к образованию ланостерола (или в случае
 растений, циклоартенола) (схема 3).

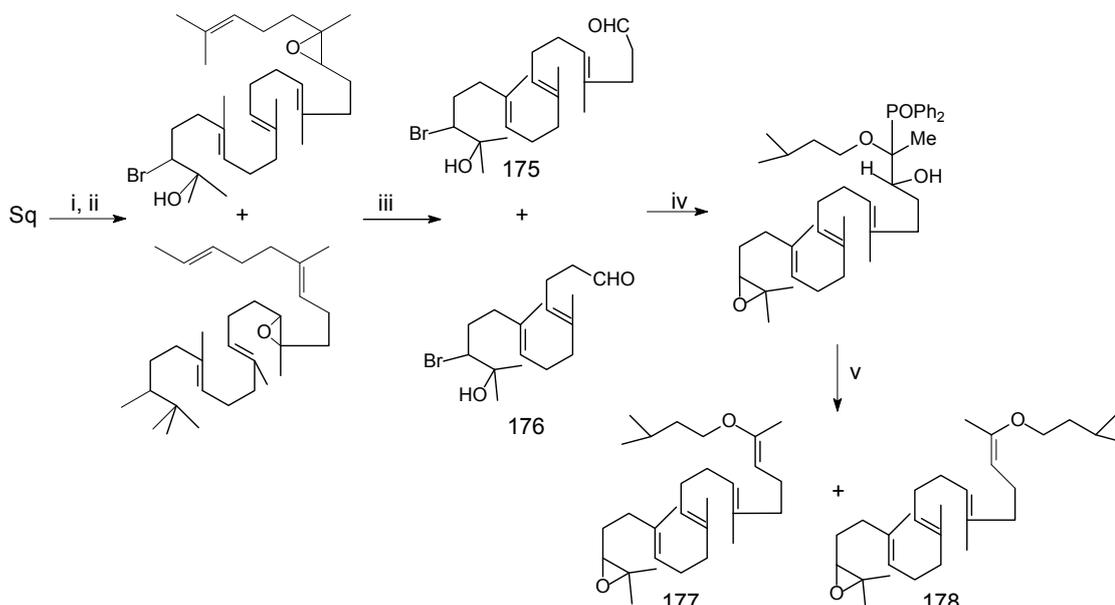
Было выделено в чистом виде несколько ОСЦ позвоночных [69-72], растений [73-76] и
 дрожжей [77-79]. Был клонирован, расшифрован [80-82], и воспроизведен в каталитически-
 активной форме [17] ген ERG7, кодирующий синтез ОСЦ у *Candida albicans*.

Схема 3



Начиная с 1988 года, был найден ряд интересных и сильных ингибиторов ОСЦ.

Схема 4

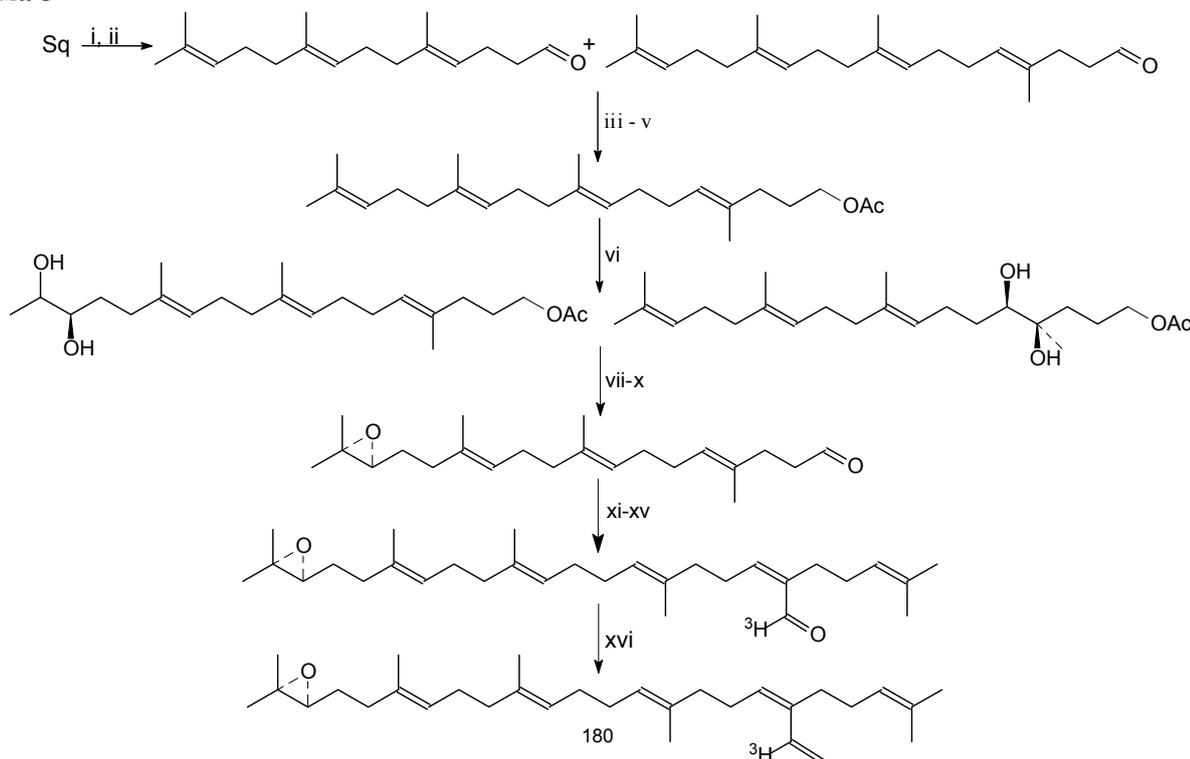


i. NBS, THF, H₂O; ii. *m*-Cl-надбензойная кислота, CH₂Cl₂; iii. HIO₄·2H₂O, Et₂O; iv.
 Ph₂P(O)CH(CH₃)OCH₂CH₂CH(CH₃)₂, Li-диизопропиламид, ТГФ, -78 °С; v. NaN, ТГФ

Первыми соединениями с ингибиторной активностью были 20-оксавиниловые эфиры (**177**) и (**178**) аналоги 2,3-оксидосквалена [83]. Синтез **177** и **178** включает получение бромгидрина C₂₂ скваленоид альдегида (**175**) и (**176**) методом одностадийной эпоксидации с использованием сильной кислоты и с последующим проведением реакции Виттига-Хорнера соединений (**175**) и (**176**) с (1-изопентилоксиэтил)дифенилфосфиноксидом (схема 4). Оба виниловых эфира – конкурентные ингибиторы ОСЦ (IC₅₀ = 80 и 120 мкМ и K_i = 40 и 60 мкМ, соответственно, для ОСЦ печени крыс).

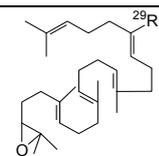
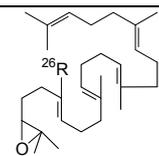
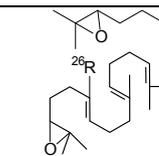
29-Метилиден-2,3-оксидосквален (29-МОС) (**179**), полученный в рацемической форме, стал первым ингибитором, дающим необратимое связывание с ОСЦ. [84] Для ОСЦ свиной печени IC₅₀ 29-МОС 0.5 мкМ, K_i = 4.4 мкМ и k_{инакт} = 221 мин⁻¹. Разработан синтез энантиомерно-обогащенного субстрата (3S)-[³H]-29-МОС (**180**) с использованием реакции асимметрического дигидроксилирования Шарплесса [14, 16] по схеме 5 [17].

Схема 5



Также были синтезированы несколько других 26- и 29-функционализованных 2,3-оксидоскваленов, которые оказались менее активными, чем 29-МОС (табл. 13) [17]. Более того 26-МОС (**185**) оказался простым субстратом с необратимым механизмом ингибирования. Бисэпоксид (**190**) так же, как и 29-МОС, является необратимым ингибитором ОСЦ. Циклопропильные аналоги (**183**, **188** и **193**) не проявили активности по отношению к ОСЦ. А 29-гидрокси- (**181**) и 26-гидрокси-2,3-оксидосквален (**186**) количественно превращаются в соответствующие аналоги ланостерола ОСЦ дрожжей [85].

Табл. 13. Ингибирование ОСЦ свиной печени 29-функционализованными 2,3-оксидоскваленами

| R |  | |  | |  | |
|-----------------------------------|---|------------------------|---|------------------------|---|------------------------|
| | Соединение | IC ₅₀ , мкМ | Соединение | IC ₅₀ , мкМ | Соединение | IC ₅₀ , мкМ |
| CH=CH ₂ | 179 | 0.5 | 185 | 78 | 190 | 1.6 |
| CH ₂ OH | 181 | 145 | 186 | >400 | 191 | 76 |
| CHO | 182 | 40 | 187 | 400 | 192 | 60 |
| Циклопропил | 183 | >400 | 188 | >400 | 193 | 16 |
| Si(CH ₃) ₃ | 184 | >400 | 189 | >400 | 194 | Не определяли |

Следующие метилиденпроизводные (**195-197**) оксидосквалена (рис. 17) были синтезированы и изучены на ингибиторную активность [86]. Из них соединение **197** оказалось очень слабым ингибитором по отношению к ОСЦ *S. cerevisiae* и свиной печени ($IC_{50} > 100$ мкМ), в то время как **195** и **196** ингибируют ОСЦ с $IC_{50} = 15$ и 1.5 мкМ для *S. cerevisiae* и $IC_{50} = 20$ и 3.5 для свиной печени, соответственно. Данные аналоги оксидосквалена были исследованы на способность ингибировать скваленгопенциклазу бактерий [87]. Самым эффективным оказалось соединение **196** с $IC_{50} = 0.2$ мкМ в сравнении с 3.5 мкМ для ОСЦ свиной печени.

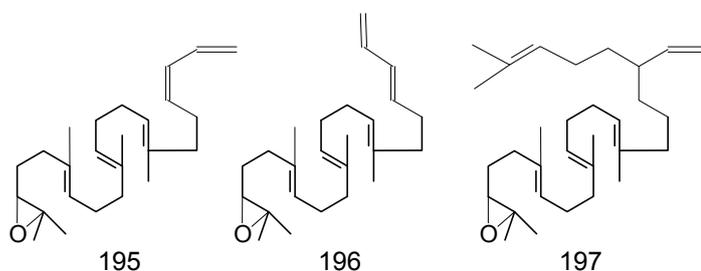


Рис. 17. Метилиден-производные 2,3-оксидосквалена

С учетом биологической активности 29-метилиденэпоксисквалена (**179**) получены метилидиновые производные сквалена (рис. 18), обладающие сходной ингибиторной активностью. Все они оказались слабыми ингибиторами ОСЦ ($IC_{50} > 20$ мкМ для ОСЦ свиной печени и > 30 для ОСЦ *S. cerevisiae*) [88].

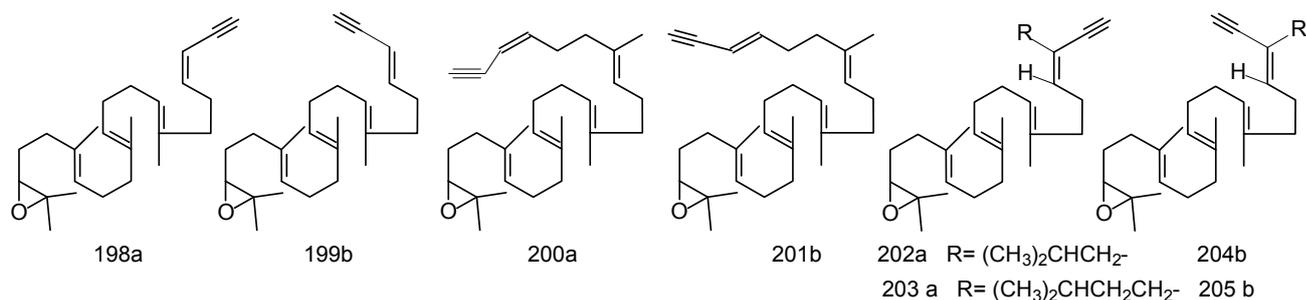
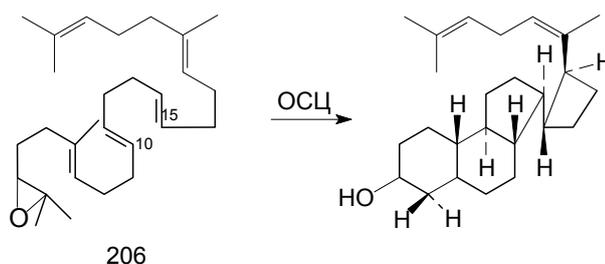


Рис. 18. Метилидиновые производные 2,3-оксидосквалена

10,15-Дидесметил-2,3-оксидосквален (**206**) – весьма эффективный неконкурентный ингибитор ОСЦ дрожжей [89]. Он также инактивирует циклазу свиной печени, но с гораздо меньшей активностью. Препаративная инкубация субстрата с гомогенизированной свиной печенью привела к уникальному тетрациклическому соединению с 6.6.5-соединенными ABC кольцами и отдельным четырехчленным D кольцом (схема 6) [89].

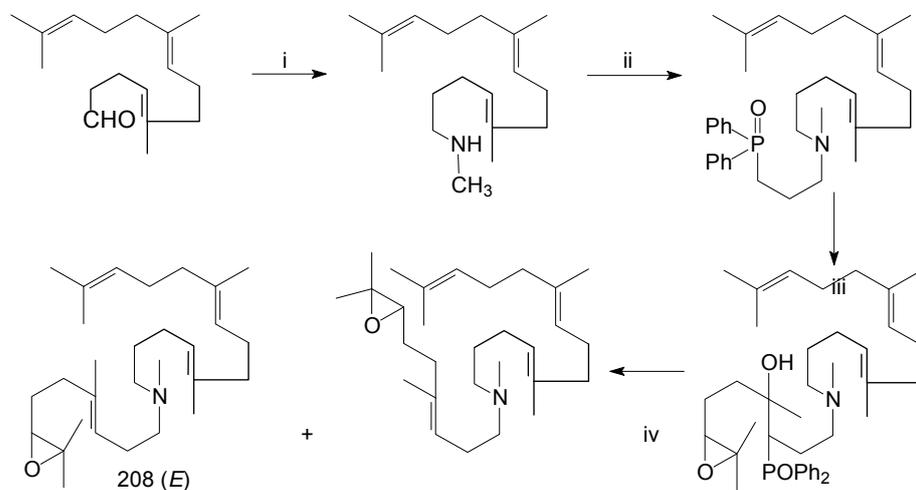
Схема 6



Азасквален (**207**) и его производные (рис. 19), содержащие атом азота, расположенный в месте, соответствующем карбеновому иону высокоэнергетических промежуточных соединений или промежуточных состояний, входящих в циклизацию 2,3-оксидосквалена, является эффективным ингибитором активности циклазы [90].

10-Аза-10,11-дигидро-2,3-оксидосквален (**208**) был смоделирован как активируемый циклазой, высокоэнергетический интермедиат, который может имитировать бициклический С-8 карбонильный ион, образующийся во время циклизации оксидосквалена [91, 92]. Синтез **208** включает модифицированную реакцию Виттига-Хорнера на последней стадии процесса (схема 7).

Схема 7



Только 6*E* изомер ингибирует ОСЦ из печени крыс, свиной печени, дрожжей и грибов (IC_{50} варьируется от 3 до 5 мкМ). 19-Аза-2,3-оксидосквален (**209**), был смоделирован по тому же принципу (имитирует С-20 карбокатион), что и (**208**) и он ингибирует ОСЦ свиной печени с $IC_{50} = 1.5$ мкМ [93].

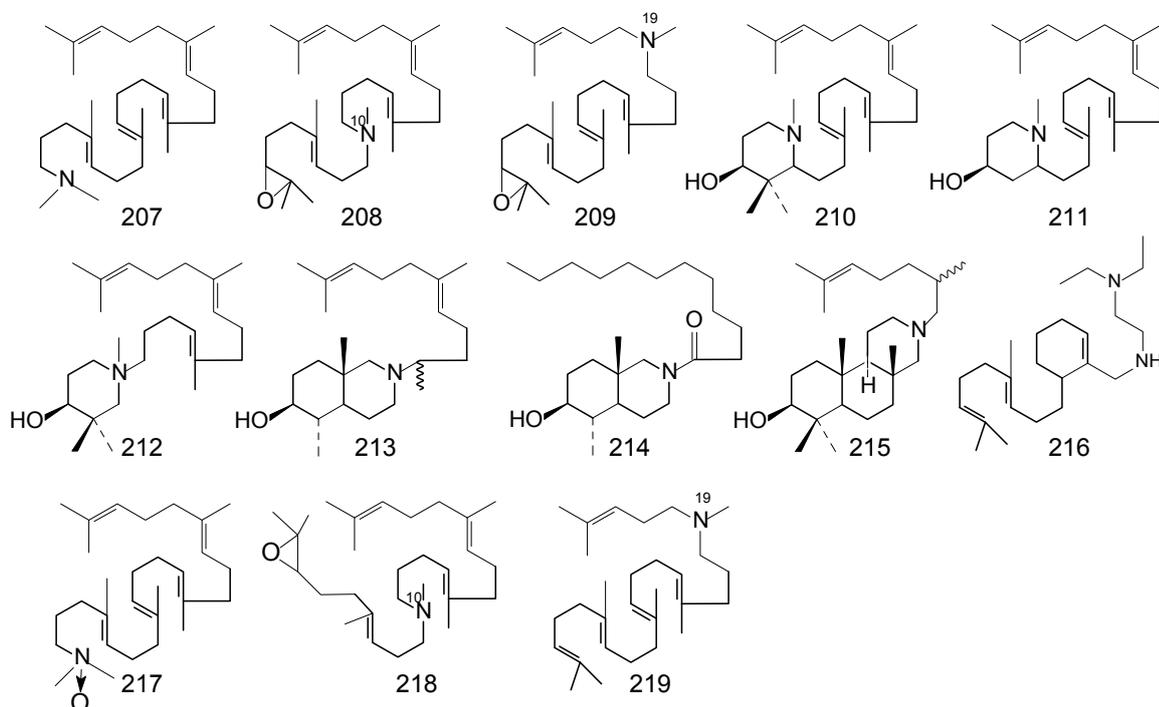


Рис. 19. Азот-содержащие ингибиторы ОСЦ

Были синтезированы и изучены на ингибиторную активность моноциклические, бициклические и трициклические соединения, содержащие атом азота, расположенный в про-С-8, про-С-10 и про-С-13 позициях, соответствующих карбонильному иону высоко энергетического интермедиата или промежуточного интермедиата, образующегося во время циклизации 2,3-оксидосквалена (табл. 14). Два моноциклических соединения являются сильными

ингибиторами ОСЦ крысиной печени: 4,4-диметил-производное (**210**) с $IC_{50} = 1.4$ мкМ [17] и (**211**) с $IC_{50} = 0.3$ мкМ [17]. Моноциклический *N*-алкилгидроксипиперидин (**212**) – сильный ингибитор ОСЦ растений с $IC_{50} = 1$ мкМ для циклоартенолциклазы семян маиса [94].

Табл. 14. Ингибирование ОСЦ соединениями с атомом азота

| Фермент | IC_{50} , мкМ | | | | | | | | | |
|--------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|--------|------|------|------|
| | 207 | 208 | 209 | 210 | 211 | 212 | 213 | 214 | 215 | 216 |
| Свиная печень | Н.о.* | 5 | 1.5 | 1.4 | 0.3 | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. |
| Крысиная печень | 7.5 | 4.8 | 7.5 | Н.о. | Н.о. | 20 | 2 | 0.11 | >300 | 7.5 |
| Дрожжи | 10 | 5 | 35 | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. |
| <i>S. albicans</i> | Н.о. | 22 | 0.23 | 0.67 | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | 0.7 |
| Маис (циклоартенол) | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | 1 | 2 | Н.о. | 100 | Н.о. |
| Горох (β -амирин) | 1.3 | Н.о. | Н.о. | Н.о. | Н.о. | 25 | Н.И.** | Н.о. | Н.И. | Н.о. |

*не определено

** не ингибитор

Бициклическое 8-азадекалин производное (**213**) [95] сильный ингибитор ОСЦ печени крыс ($IC_{50} = 2$ мкМ) и циклоартенолциклазы семян маиса ($IC_{50} = 2$ мкМ). Также соединение (**213**) не оказывает эффекта на $\beta(\alpha)$ -амиринциклазы [95].

Бициклический амидный аналог (**214**) в десять раз более сильный конкурентный ингибитор ОСЦ *in vitro*, он также ингибирует биосинтез холестерина в HepG 2 раковых клетках ($IC_{50} = 0.70$ мкМ) [96, 97]. Наоборот, 13-аза-трициклические производные такие, как (**215**), показывают маленькую ингибиторную способность по отношению к ОСЦ ($IC_{50} = 100$ мкМ для циклоартенолциклазы семян маиса, >300 мкМ для циклазы печени крыс) [94]. С другой стороны ароматический аналог (**216**) – сильный ингибитор ОСЦ *S. albicans* [98].

Аза-аналоги оксидосквалена (**217-219**) [99] являются ингибиторами ОСЦ свиной печени, из них (**217**) обладает весьма высокой активностью ($IC_{50} = 3.3$ мкМ), в то время как (**218** и **219**) весьма слабые по отношению к инактивации ОСЦ печени крыс ($IC_{50} = 44$ и 70 мкМ соответственно).

Изучение способности этих соединений ингибировать бактериальную скваленгепенициклазу [100] показало, что все три соединения обладают высокой эффективностью, причем эффективность (**218**) возросла в 11 раз ($IC_{50} = 4$ мкМ), а эффективность (**219**) более чем в 70 раз ($IC_{50} = 0.6$ мкМ) по сравнению с ингибированием ОСЦ.

Триснорсквален *N*-метилоксазиридин (**220**) (рис. 20) – самый сильный ингибитор среди производных азасквалена ($IC_{50} = 1.5$ мкМ для ОСЦ свиной печени и $IC_{50} = 2.5$ мкМ для ОСЦ дрожжей) [101]. Тем не менее, оксазиридин (**220**) не стабилен в водной среде и может быть ингибитором биосинтеза холестерина только в Т3 фибробластах.

Близкий аналог (**220**), триснорскваленметилгидроксиламин (**221**) ($IC_{50} = 5$ мкМ для ОСЦ свиной печени) обладает одинаковой ингибиторной активностью как по отношению к СЭ, так и по отношению к ОСЦ [60]. Несколько азадекалиналогов, таких как 4,10-диметил-*транс*-4-азадекал-3-он (**222**) синтезированны группой Спенсера, но не один не был так эффективен, как 4,4,10 β -триметил-*транс*-декал-3 β -ол (ТМД, $IC_{50} = 65$ мкМ для ОСЦ печени крыс) [102].

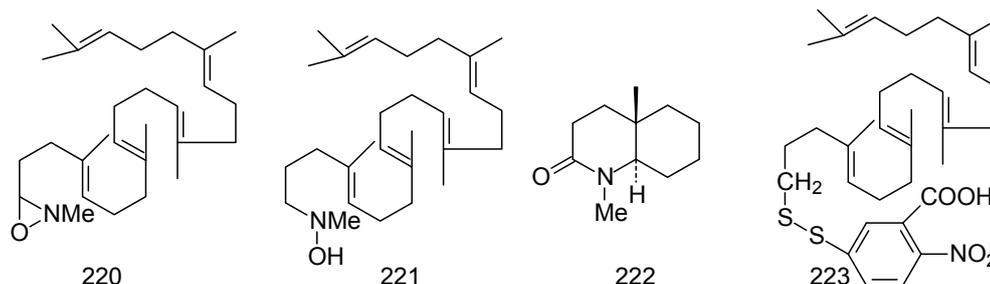


Рис. 20. Триснорсквален *N*-метилоксазиридин и его аналоги

ОСЦы позвоночных, дрожжей и растений также эффективно ингибируются *n*-Cl-меркуробензолсульфо кислотой и *N*-этилмалеимидом, показывая присутствие цистеина в активном центре фермента [103-105]. Химическая модификация ОСЦ дрожжей тиольным реагентом, 3-карбокситетрагидро-4-нитрофенил-дисульфидом (223), подтверждает возможность существования тиольной группы вблизи активного центра фермента [106].

Синтезирована и изучена на сравнительную ингибиторную способность по отношению к ОСЦ позвоночных серия серосодержащих аналогов оксидосквалена (рис. 21) [17], например, 224 с $IC_{50} = 0.5$ мкМ для ОСЦ свиной печени [17] и 225 с $IC_{50} = 2.3$ мкМ для ОСЦ свиной печени [17].

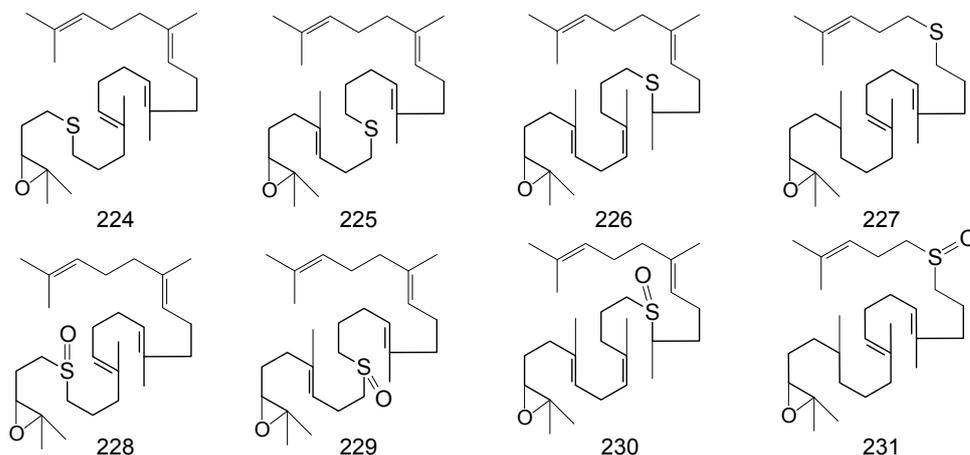


Рис. 21. Серосодержащие аналоги 2,3-оксидосквалена

К серосодержащим аналогам 2,3-оксидосквалена также относятся синтезированные сульфо- и сульфоксид-производные 2,3-оксидосквалена (226-231) [107]. Представленные аналоги являются сильными ингибиторами ОСЦ *Candida albicans* и печени крыс (табл. 15).

Табл. 15. Ингибирование ОСЦ серосодержащими производными 2,3-оксидосквалена

| Соединение | IC_{50} , мкМ | | |
|------------|--|---|---|
| | Циклаза <i>C. albicans</i> (без клеток) | Циклаза крысиной печени (без клеток) | Циклаза клеток почки собаки (целые клетки) |
| 224 | 0.069 | 0.0084 | 1.16 |
| 225 | 0.069 | 0.55 | 2.31 |
| 226 | 2.24 | 5.15 | 76.2 |
| 227 | 0.0023 | 0.00082 | 4.62 |
| 228 | 0.16 | 1.22 | 1.11 |
| 229 | 0.26 и 3.90* | Не определено и 1.73 | 0.45 и 0.87 |
| 230 | 5.41 | 7.78 | 0.87 |
| 231 | 0.065 | 0.29 | 0.45 |

*две разные фракции после колоночной хроматографии

Синтезированы различные винилсульфидные и дитиоацетальные производные 2,3-оксидосквалена (рис. 22) [108]. Эти соединения с функциональными во 2-ой, 15-ой и 19-ой позициях углеродного скелета сквалена были изучены на ингибиторную активность по отношению к ОСЦ свиной печени и *S. cerevisiae* и по отношению к сквален-гопенциклазе *Alicyclobacillus acidocaldarius* (табл. 16).

В работах [109, 110] представлен синтез и ингибиторная активность нескольких оксидосквален- и диоксидоскваленрегиоизомеров (табл. 17). Среди них 2,3:18,19-диоксидосквален (ДОС) (245), синтезированный и выделенный в качестве смеси четырех диастереомеров, лучший ингибитор ОСЦ. Региоизомеры (242 и 243) также показали хорошую ингибиторную активность для ОСЦ печени крыс. Тот факт, что эти соединения могут быть генерированы *in vivo* дает им превосходство над другими ингибиторами ОСЦ. Действительно, инкубация (240 и 241) с микросомами печени крыс привела к образованию смеси соответствующих ДОС, благодаря эпоксидированию их терминальной связи [111].

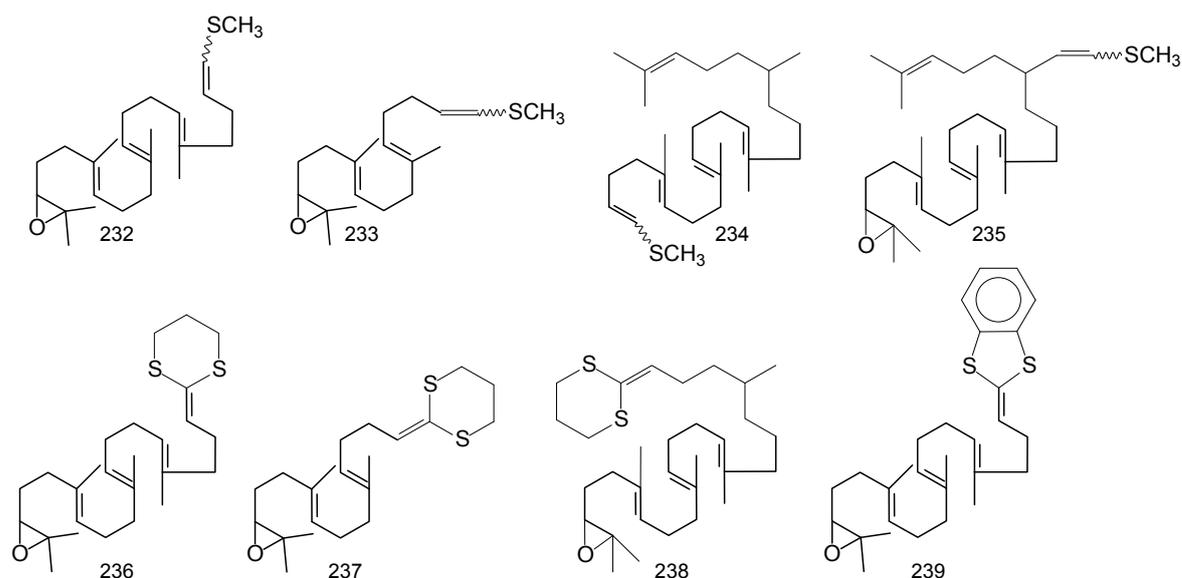


Рис. 22. Винилсульфидные и дитиоацетальные производные 2,3-оксидосквалена

Табл. 16. Ингибирование ОСЦ и сквален-гопенциклазы финилсульфидными и дитиоацетальными производными 2,3-оксидосквалена

| Соединение | IC ₅₀ , мкМ | | |
|------------|------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| | ОСЦ (свиная печень) | ОСЦ (<i>S. Cerevisiae</i>) | СГЦ (<i>A. Acidocaldarius</i>) |
| 232 | 1 | 0.05 | 0.05 |
| 233 | 5 | 1.5 | 0.5 |
| 234 | 100 | 50 | 3.1 |
| 235 | 2.2 | 12 | 9 |
| 236 | 0.35 | 0.17 | 10 |
| 237 | 6 | 2.5 | 0.6 |
| 238 | >100 | 35 | 25 |
| 239 | 12 | 3.5 | 0.9 |

Табл. 17. Ингибирование ОСЦ печени крыс рацемической смесью оксидо- и диоксидоскваленами

| Соединение | Название | IC ₅₀ , мкМ |
|------------|---------------------------|------------------------|
| 240 | 6,7-оксидосквален | 83.5 |
| 241 | 10,11-оксидосквален | 220 |
| 242 | 2,3:6,7-диоксидосквален | 21.3 |
| 243 | 2,3:10,11-диоксидосквален | 13.0 |
| 244 | 2,3:14,15-диоксидосквален | Не ингибитор |
| 245 | 2,3:18,19-диоксидосквален | 0.11 |
| 246 | 2,3:22,23-диоксидосквален | 142 |
| 247 | 6,7:14,15-диоксидосквален | 9.3 |
| 248 | 6,7:18,19-диоксидосквален | Не ингибитор |

Представлены сильные оральные ингибиторы ОСЦ такие, как (249) [112], (250) [113], (252) [114] и (252) [115] (рис. 23).

Синтезированы 3-замещенные хинуклидины (рис. 24), ингибирующие биосинтез холестерина, снижая активность ОСЦ *in vivo*. Так же разработан новый замещенный хинуклидиновый фармакофор (257 а-с) для ингибирования ОСЦ с использованием методов QSAR [116].

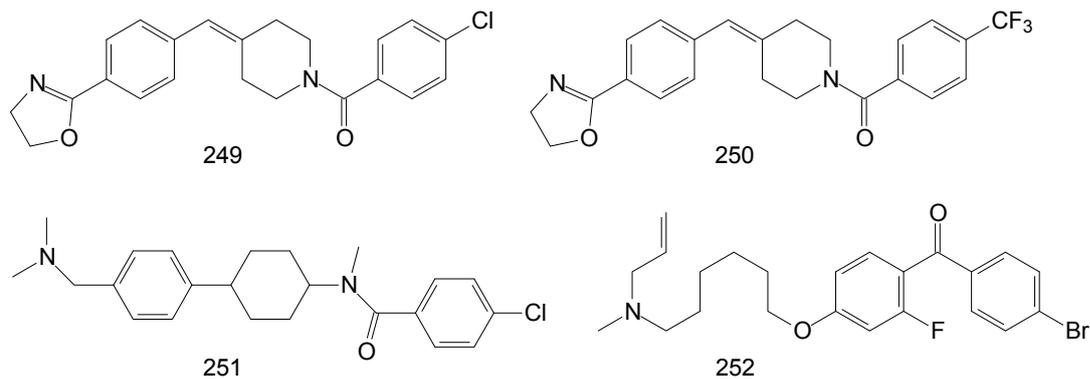


Рис. 23. Оральные ингибиторы ОСЦ

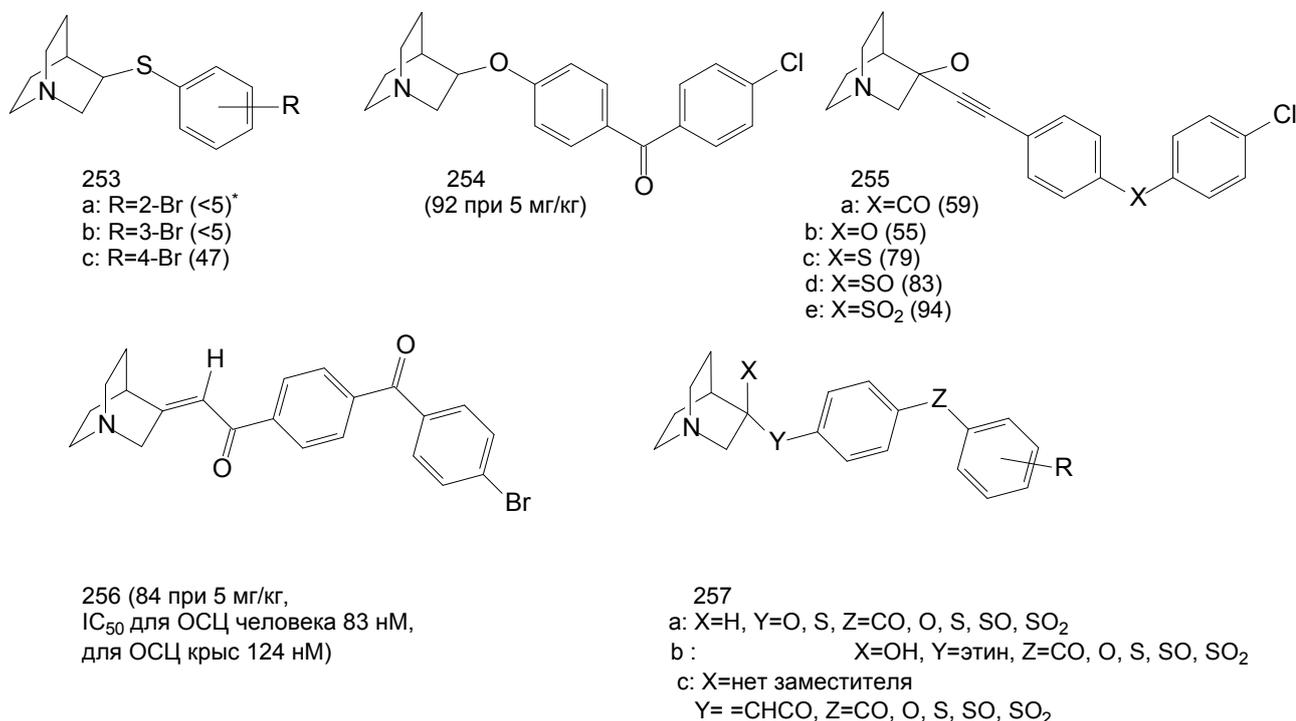


Рис. 24. 3-Замещенные хинуклидины.

*В скобках указаны величина ингибирования биосинтеза холестерина у крыс при оральном применении квинуклидинов в % при 20 мг/кг в течение 5 дней.

Литература

- [1] The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial Results, I. Reduction in Incidence of Coronary Heart Disease, Lipid Research Clinics Program. *J. Am. Med. Assoc.* **1984**. Vol.251. No.3. P.351-364.
- [2] The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial Results, II. The Relationship of Reduction in Incidence of Coronary Heart Disease to Cholesterol Lowering, Lipid Research Clinics Program. *J. Am. Med. Assoc.* **1984**. Vol.251. No.3. P.365-374.
- [3] Jones C.A., Sidebottom P.J., Cannell R.J.P., Noble D., and Rudd B.A.M. the squalostatins, novel inhibitors of squalene synthase produced by a species of phoma. *J. Antibiotics.* **1992**. Vol.45. No.9. P.1492-1498.
- [4] Dawson M.J., Farthing J.E., Marshall P.S., Middleton R.F., O'Neill M.J., Shuttleworth A., Stylli C., Tait R.M., Taylor P.M., Wildman G., Buss A.D., Langley D., Hayes M.V. The Squalostatins, Novel Inhibitors of Squalene Synthase Produced by a Species of Phoma I. Taxonomy, Fermentation, Isolation, Physico-Chemical Properties and Biological Activity. *J. Antibiot.* **1992**. Vol.45. P.639-647.
- [5] Sidebottom P.J., Highcock R.M., Lane S.J., Procopiou P.A., Watson N.S. The Squalostatins, Novel Inhibitors of Squalene Synthase Produced by a Species of Phoma II. Structure Elucidation. *J. Antibiot.* **1992**. Vol.45. P.648-658.

- [6] Procopiou P.A., Bailey E.J., Bamford M.J., Craven A.P., Dymock B.W., Houston J.G., Hutson J.L., Kirk B.E., McCarthy A.D., Sapra M., Scicinski J.J., Sharratt P.J., Snowden M.A., Watson N.S., Williams R.J. The Squalostatins: Novel Inhibitors of Squalene Synthase. Enzyme Inhibitory Activities and *in vivo* Evaluation of C1-Modified Analogues. *J. Med. Chem.* **1994**. Vol.37. P.3274-3281.
- [7] Wilson K.E., Burk R.M., Bitfu T., Ball R.G., and Hoogsteen K., Zaragozic Acid A, a Potent Inhibitor of Squalene Synthase: Initial Chemistry and Absolute Stereochemistry. *J. Org. Chem.* **1992**. Vol.57. P.7151-7158.
- [8] Bergstrom J.D., et al. Zaragozic acid: a family of fungal metabolites that are picomolar competitive inhibitors of squalene synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1993**. Vol.90. P.80-84.
- [9] Dufresne C., et al. The isolation and structure elucidation of zaragozic acid C, a novel potent squalene synthase inhibitor. *Tetrahedron.* **1992**. Vol.48. P.10221-10226.
- [10] Baxter A., Fitzgerald B.J., et al. Squalostatin 1, a potent inhibitor of squalene synthase, which lowers serum cholesterol *in vivo*. *J. Biol. Chem.* **1992**. Vol.267. P.11705-11708.
- [11] Nadin A., Nicolaou K.C. Chemistry and biology of the zaragozic acids (squalostatins), *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**. Vol.35. No.15. P.1623-1656.
- [12] Ponpipom M.M., et al. Structure-activity relationships of C1 and C6 side chains of zaragozic acid A derivatives. *J. Med. Chem.* **1994**. Vol.37. P.4031-4051.
- [13] Watson N.S., Procopiou P.A. 7 Squalene Synthase Inhibitors: Their Potential as Hypocholesterolaemic Agents. *Prog. Med. Chem.* **1996**. Vol.33. P.331-378.
- [14] Hensens O.D., Dufresne C., Liesch J.M., Zink D.L., Reamer R.A., Van-Middlesworth F. The Zaragozic Acids: Structure Elucidation of a New Class of Squalene Synthase Inhibitors. *Tetrahedron Lett.* **1993**. Vol.34. P.399-402.
- [15] Hasumi K., Tachikawa K., Sakai K., Marakawa S., Yoshikawa N., Kumazawa S., Endo A. Competitive Inhibition of Squalene Synthase by Squalostatin 1. *J. Antibiot.* **1993**. Vol.46. P.689-691.
- [16] Blows W.M., Foster G., Lane S.J., Noble D., Piercey J.E., Sidebottom P.J., Webb G. The Squalostatins: Novel Inhibitors of Squalene Synthase Produced by a Species of Phoma. V. Minor Metabolites. *J. Antibiot.* **1994**. Vol.47. P.740-754.
- [17] Abe I., Tomesch J.C., Wattanasin S., Prestwich G.D. Inhibitors of Squalene Biosynthesis and Metabolism, NATURAL PRODUCT REPORTS. **1994**. P.279-302.
- [18] Berger G. 206th ACS National Meeting, MED 19, ACS. *Washington.* **1993**.
- [19] (a) Meinz M.A. EP 0526936A2, Cholesterol-lowering compounds. **1993**. (b) Harris G.H., et al. Isolation and structure elucidation of viridifungins A, B and C. *Tetrahedron Lett.* **1993**. Vol.34. P.5235-5238.
- [20] Chan C., Inglis G.G.A., Procopiou P.A., Ross B.C., Srikantha A.R.P., Watson N.S. The Squalostatins: C-3 Decarboxylation Studies and Rearrangement to the 6,8-Dioxabicyclo[3.2.1]octane Ring System. *Tetrahedron Lett.* **1993**. Vol.34. P.6143-6146.
- [21] Chan C. et al. The Squalostatins: Decarboxy and 4-Deoxy Analogues as Potent Squalene Synthase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **1996**. Vol.39. P.207-216.
- [22] Fung A.K.L., Baker W.R., et al. 1 α ,2 β ,3 β ,4 α)-1,2-bis[(N-propyl-N-(4-phenoxybenzyl)amino)carbonyl]cyclobutane-3,4-dicarboxylic acid (A-87049): a novel potent squalene synthase inhibitor. *J. Med. Chem.* **1997**. Vol.40. P.2123-2125.
- [23] Fairlamb I.J.S., et al. Identification of Novel Mammalian Squalene Synthase Inhibitors Using a Three-Dimensional Pharmacophore. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* **2002**. Vol.10. P.2641-2656.
- [24] Kourounakis A.P., Charitos C., Rekkas E.A., Kourounakis P.N. Lipid-Lowering (Hetero)Aromatic Tetrahydro-1,4-Oxazine Derivatives with Antioxidant and Squalene Synthase Inhibitory Activity. *J. Med. Chem.* **2008**. Vol.51. P.5861-5865.
- [25] Kourounakis A.P., Matralis A.N., Nikitakis A. Design of more potent squalene synthase inhibitors with multiple activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* **2010**. Vol.18. P.7402-7412.
- [26] Yamamoto S. and Bloch K. Studies on Squalene Epoxidase of Rat Liver. *J. Biol. Chem.* **1970**. Vol.245. No.7. P.1670.
- [27] Tai H.-H. and Bloch K. Squalene Epoxidase of Rat Liver. *J. Biol. Chem.* **1972**. Vol.247. P.3767-3773.
- [28] Ono T. and Bloch K. Solubilization and Partial Characterization of Rat Liver Squalene Epoxidase. *J. Biol. Chem.* **1975**. Vol.250. P.1571-1579.
- [29] Ono T., Takahashi K., Odani S., Konno H., Imai Y. Purification of squalene epoxidase from rat liver microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**. Vol.96. P.522-528.
- [30] Bai M., Prestwich G.D. Inhibition and activation of porcine squalene epoxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**. Vol.293. P.305-313.

- [31] Jandrositz A., Turnowksy F., Hogenauer G. The gene encoding squalene epoxidase from *Saccharomyces cerevisiae*: cloning and characterization. *Gene*. **1991**. Vol.107. P.155-160.
- [32] Hidaka Y., Satoh T., and Kamei T. Regulation of squalene epoxidase in HepG2 cells. *J. Lipid Res.* **1990**. Vol.31. P.2087-2094.
- [33] Satoh T., Hidaka Y., Kamei T. Regulation of squalene epoxidase activity in rat liver. *J. Lipid Res.* **1990**. Vol.31. P.2095-2101.
- [34] Ryder N.S., Dupont M.-C. Inhibition of squalene epoxidase by allylamine antimycotic compounds A comparative study of the fungal and mammalian enzymes. *Biochem. J.* **1985**. Vol.230. P.765-770.
- [35] Ryder N.S., Frank I., Dupont M.-C. Ergosterol Biosynthesis Inhibition by the Thiocarbamate Antifungal Agents Tolnaftate and Tolciclate. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1986**. Vol.29. P.858-860.
- [36] Petranyi G., Meingassner J.G., Mieth H. Antifungal Activity of the Allylamine Derivative Terbinafine *In Vitro*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**. Vol.31. P.1365-1368.
- [37] Ryder N.S., Stiitz A., and Nussbaumer P. in 'Regulation of Isopentenoid Metabolism', ed., W. D. Nes, Parish E.J., and Trzaskos J.M. American Chemical Society. *Washington, DC*. **1992**. Vol.497. P.192.
- [38] Stutz A. Allylamine Derivatives – a New Class of Active Substances in Antifungal Chemotherapy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**. Vol.26. P.320-328.
- [39] Ryder N.S. Inhibition of squalene epoxidase and sterol side-chain methylation by allylamines. *Biochem. Soc. Trans.* **1990**. Vol.18. P.45-47.
- [40] Stutz A. Allylamine Derivatives—a New Class of Active Substances in Antifungal Chemotherapy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**. Vol.26. P.320-328.
- [41] Stutz A. Synthesis and Structure- Activity Correlations within Allylamine Antimycotics. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1988**. Vol.544. P.46-62.
- [42] Nussbaumer P. et al. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Naphthalene-Substituted Derivatives of the Allylamine Antimycotic Terbinafine. *J. Med. Chem.* **1993**. Vol.36. P.2810-2816.
- [43] Maeda T., Yamamoto T., et al. EP 164697, Amine derivatives, processes for preparing the same and fungicides containing the same. **1985**.
- [44] Stutz A., Nussbaumer P. DE 3702039, Preparation of Arylmethylamines BB Antimycotic and Agrochemical Fungicides. **1987**.
- [45] Nussbaumer P. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Phenyl-Substituted Benzylamine Antimycotics: A Novel Benzylbenzylamine Antifungal Agent for Systemic Treatment. *J. Med. Chem.* **1993**. Vol.36. P.2115-2120.
- [46] Nussbaumer P., Ryder N.S., Stutz A. Allylamine antimycotics: Recent trends in structure—activity relationships and syntheses. *Pestic. Sci.* **1991**. Vol.31. P.437-455.
- [47] Nussbaumer P., Petranyi G., Stutz A. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Benzo[b]thienylallylamine Antimycotics. *J. Med. Chem.* **1991**. Vol.34. P.65-73.
- [48] Ryder N.S. Squalene epoxidase as a target for the allylamines, *Biochem. Soc. Trans.* **1991**. Vol.19. P.774-777.
- [49] Sen S.E., Prestwich G.D. Trisnorsqualene Alcohol, a Potent Inhibitor of Vertebrate Squalene Epoxidase. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**. Vol.111. P.1508-1511.
- [50] Sen S.E., Wawrzenczyk C., Prestwich G.D. Inhibition of Vertebrate Squalene Epoxidase by Extended and Truncated Analogues of Trisnorsqualene Alcohol. *J. Med. Chem.* **1990**. Vol.33. P.1698-1701.
- [51] Sen S.E., Prestwich G.D. Trisnorsqualene Cyclopropylamine: A Reversible, Tight-Binding Inhibitor of Squalene Epoxidase. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**. Vol.111. P.8761-8762.
- [52] Rilling H.C., Epstein W.W. Mechanism of squalene biosynthesis. Presqualene, a pyrophosphorylated precursor to squalene. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**. Vol.91. P.1041-1042.
- [53] Anstead G.M., Sen S.E., Prestwich G.D. Evaluation of squalene analogs bearing photoreactive groups as inhibitors of squalene epoxidase and oxidosqualene cyclase. *Bioorg. Chem.* **1991**. Vol.19. P.300-313.
- [54] Van Sickle W.A., et al. Inhibition of Cholesterol Synthesis by Cyclopropylamine Derivatives of Squalene in Human Hepatoblastoma Cells in Culture. *Lipids*. **1992**. Vol.27. P.157-160.
- [55] Edwards M.L., Jarvi E.T., McCarthy J.R. EP 0448934A2, Di- and tetra-fluoro analogs of squalene as inhibitors of squalene epoxidase. **1991**.
- [56] Mann J., Smith G.P. Synthesis of Potential Inhibitors of Squalene Epoxidase. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **1991**. P.2884-2885.
- [57] Moore W.R. Terminal Difluoro Olefin Analogues of Squalene Are Time-Dependent Inhibitors of Squalene Epoxidase. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**. Vol.114. P.360-361.
- [58] Edwards M.L., Jarvi E.T., McCarthy J.R. EP 0448934A2, Di- and tetra-fluoro analogs of squalene as inhibitors of squalene epoxidase. **1991**.

- [59] Sen S.E., Prestwich G.D. Squalene Analogues Containing Isopropylidene Mimics as Potential Inhibitors of Pig Liver Squalene Epoxidase and Oxidosqualene Cyclase. *J. Med. Chem.* **1989**. Vol.32. P.2152-2158.
- [60] Anstead G.M., Lin H.-K., Prestwich G.D. Trisnorsqualene methyl hydroxylamine: a potent dual inhibitor of mammalian squalene epoxidase and oxidosqualene cyclase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**. Vol.3. P.1319-1322.
- [61] Bai M., Xiao X.-Y., Prestwich G.D. 26-Hydroxysqualene and derivatives: substrates and inhibitors for squalene epoxidase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**. Vol.1. P.227-232.
- [62] Takezawa H., Hayashi M., Iwasawa Y., Hosoi M., Iida Y., Tsuchiya Y., Horie M., Kamei T. EP 0318860A2, Substituted alkylamine derivatives. **1989**.
- [63] Takezawa H., Hayashi M., et al. EP 0395768A1, Substituted allylamine derivatives, process for their preparation and their use. **1990**.
- [64] Tsuchiya M.Y., et al. NB-598: A Potent Competitive Inhibitor of Squalene Epoxidase. *J. Biol. Chem.* **1990**. Vol.265. P.18075-18078.
- [65] Nagata Y., et al. Effect of an inhibitor of squalene epoxidase, NB-598, on lipid metabolism in Hep G2 Cells. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**. Vol.40. P.436-440.
- [66] Hidaka Y., Hotta H., Nagata Y., Iwasawa Y., Horie M., Kamei T. Effect of a Novel Squalene Epoxidase Inhibitor, NB-598, on the Regulation of Cholesterol Metabolism in Hep G2 Cells. *J. Biol. Chem.* **1991**. Vol.266. P.13171-13177.
- [67] Tsuchiya Y., et al. Eur. Pat. Appl. EP 0448078A2, Substituted amine derivatives having anti-hyperlipemia activity. **1991**.
- [68] Iwasawa Y., Tsuchiya Y., Iida Y., Hayashi M., Masaki H., Nomoto T., Sakuma Y., Kato M., Watanabe Y., Takezawa H., Hosoi M., Sawasaki Y., Kitani K., and Kamei T. Presented at the XIIth International Symposium on Medicinal Chemistry. *Basel.* **1992**.
- [69] Kusano M., Abe I., Sankawa U., Ebizuka Y. Purification and some properties of squalene-2,3-epoxide: lanosterol cyclase from rat liver. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**. Vol.39. P.239-241.
- [70] Abe I., Bai M., Xiao X.-Y., Prestwich G.D. Affinity labeling of vertebrate oxidosqualene cyclases with a tritiated suicide substrate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**. Vol.187. P.32-38.
- [71] Moore W.R., Schatzman G.L. Purification of 2,3-Oxidosqualene Cyclase from Rat Liver. *J. Biol. Chem.* **1992**. Vol.267. P.22003-22006.
- [72] Duriatti A., Schuber F. Partial purification of 2,3-oxidosqualene-lanosterol cyclase from hog-liver. Evidence for a functional thiol residue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**. Vol.151. P.1378-1385.
- [73] Abe I., Ebizuka Y., Sankawa U. Purification of 2,3-oxidosqualene: cycloartenol cyclase from pea seedlings. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**. Vol.36. P.5031-5034.
- [74] Abe I., Sankawa U., Ebizuka Y. Purification of 2,3-oxidosqualene: β -amyrin cyclase from pea seedlings. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**. Vol.37. P.536-538.
- [75] Abe I., Ebizuka Y., Seo S., Sankawa U. Purification of squalene-2,3-epoxide cyclases from cell suspension cultures of *Rabdosia japonica* Hara. *FEBS Lett.* **1989**. Vol.249. P.100-104.
- [76] Abe I., Sankawa U., Ebizuka Y. Purification and properties of squalene-2,3-epoxide cyclases from pea seedlings. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**. Vol.40. P.1755-1760.
- [77] Corey E.J., Matsuda S.P.T. Purification of the 2,3-Oxidosqualene-lanosterol Cyclase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**. Vol.113. P.8172-8174.
- [78] Hoshino T., Williams H.J., Chung Y., Scott A.I. Partial purification and characterization of oxidosqualene-lanosterol cyclase from baker's yeast. *Tetrahedron.* **1991**. Vol.31. P.5925-5932.
- [79] Balliano G., Viola F., Ceruti M., Cattel L. Characterization and partial purification of squalene-2,3-oxide cyclase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**. Vol.293. P.122-129.
- [80] Roessner C.A., Min C., Hardin S.H., Harris-Haller L.W., McCollum J.C., Scott A.I. Sequence of the *Candida albicans* erg7 gene. *Gene.* **1993**. Vol.127. P.149-150.
- [81] Kelly R., Miller S.M., Lai M.H., Kirsch D.R. Cloning and characterization of the 2,3-oxidosqualene cyclase-coding gene of *Candida albicans*. *Gene.* **1990**. Vol.87. P.177-183.
- [82] Buntel C.J., Griffin J.H. Nucleotide and Deduced Amino Acid Sequences of the Oxidosqualene Cyclase from *Candida albicans*. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**. Vol.114. P.9711-9713.
- [83] Ceruti M., Viola F., Dosio F., Cattel L., Bouvier-Nave P., and Ugliengo P. Stereospecific Synthesis of Squalenoid Epoxide Vinyl Ethers as Inhibitors of 2,3-Oxidosqualene Cyclase. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **1988**. P.461-469.
- [84] Xiao X.-Y. and Prestwich G.D. 29-Methylidene-2,3-oxidosqualene: A Potent Mechanism-Based Inactivator of Oxidosqualene Cyclase. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**. Vol.113. P.9673-9674.

- [85] Xiao X.-Y., Prestwich G.D. Enzymatic cyclizations of 26- and 29-hydroxy-2,3-oxidosqualenes give 19- and 21-hydroxylanosterols. *Tetrahedron Lett.* **1991**. Vol.32. P.6843-6846.
- [86] Ceruti M., et al. 29-Methylidene-2,3-oxidosqualene Derivatives as Stereospecific Mechanism-Based Inhibitors of Liver and Yeast Oxidosqualene Cyclase. *J. Med. Chem.* **1998**. Vol.41. P.540-554.
- [87] Viola F., et al. Rationally Designed Inhibitors as Tools for Comparing the Mechanism of Squalene-Hopene Cyclase with Oxidosqualene Cyclase. *Lipids.* **2000**. Vol.35. No.3. P.297-303.
- [88] Ceruti M., et al. Synthesis of (*E*)- and (*Z*)-29-methylidene-2,3-oxidosqualene derivatives as inhibitors of liver and yeast oxidosqualene cyclase. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* **2002**. P.1477-1486.
- [89] Corey E.J., Virgil S.C., Liu D.R., and Sarshar S. The Methyl Group at C(10) of 2,3-Oxidosqualene Is Crucial to the Correct Folding of This Substrate in the Cyclization-Rearrangement Step of Sterol Biosynthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**. Vol.114. P.1524-1525.
- [90] Cattel L., et al. Drug design based on biosynthetic studies: Synthesis, biological activity, and kinetics of new inhibitors of 2,3-oxidosqualene cyclase and squalene epoxidase. *Steroids.* **1989**. Vol.53. P.363-391.
- [91] Ceruti M., Balliano G., Viola F., Grosa G., Rocco F., and Cattel L. 2,3-Epoxy-10-aza-10,11-dihydrosqualene, a High-Energy Intermediate Analogue Inhibitor of 2,3-Oxidosqualene Cyclase. *J. Med. Chem.* **1992**. Vol.35. P.3050-3058.
- [92] Balliano G., Milla P., Ceruti M., Viola F., Carrano L., Cattel L. Differential inhibition of fungal oxidosqualene cyclase by 6E and 6Z isomers of 2,3-epoxy-10-aza-10,11-dihydrosqualene. *FEBS Lett.* **1993**. Vol.320. P.203-206.
- [93] Ceruti M., Rocco F., Viola F., Balliano G., Grosa G., Dosio F., Cattel L. Synthesis and biological activity of 19-azasqualene 2,3-epoxide as inhibitor of 2,3-oxidosqualene cyclase. *Eur. J. Med. Chem.* **1993**. Vol.28. P.675-682.
- [94] Taton M. Inhibition of 2,3-Oxidosqualene Cyclases. *Biochemistry.* **1992**. Vol.31. P.7892-7898.
- [95] Gerst N., Duriatti A., Schuber F., Taton M., Benveniste P., Rahier A. Potent inhibition of cholesterol biosynthesis in 3T3 fibroblasts by N-[(1,5,9)-trimethyldecyl]-4 α , 10-dimethyl-8-AZA-trans-decal-3 β -OL, a new 2,3-oxidosqualene cyclase inhibitor. *Biochem. Pharmacol.* **1988**. Vol.37. P.1955-1964.
- [96] Wannamaker M.W., et al. N-(1-Oxododecyl)-4 α , 10-dimethyl-8-aza-tradnescal-36-01: A Potent Competitive Inhibitor of 2,3-Oxidosqualene Cyclase. *J. Med. Chem.* **1992**. Vol.35. P.3581-3583.
- [97] Wannamaker M.W., et al. Inhibition of 2,3-oxidosqualene cyclase by N-alkylpiperidines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**. Vol.3. P.1175-1178.
- [98] Jolidon S., Polak A.-M., Guerry P., Hartman P.G. Inhibitors of 2,3-oxidosqualene lanosterol-cyclase as potential antifungal agents. *Biochem. Soc. Trans.* **1989**. Vol.18. P.47-48.
- [99] Viola F., et al. Inhibition of 2,3-oxidosqualene cyclase and sterol biosynthesis by 10- and 19-azasqualene derivatives. *Biochemical Pharmacology.* **1995**. Vol.50. No.6-7. P.787-796.
- [100] Viola F., et al. Rationally Designed Inhibitors as Tools for Comparing the Mechanism of Squalene-Hopene Cyclase with Oxidosqualene Cyclase. *Lipids.* **2000**. Vol.35. No.3. P.297-303.
- [101] Ceruti M., et al. Synthesis of a squalenoid oxaziridine and other new classes of squalene derivatives, as inhibitors of sterol biosynthesis. *Eur. J. Med. Chem.* **1988**. Vol.23. P.533-537.
- [102] Ruhl K.K., Anzalone L., Arguopoulos E.D., Gayen A.K., Spencer T.A. Azadecalin analogs of 4,4,10 β -trimethyl-trans-decal-3 β -ol: Synthesis and assay as inhibitors of oxidosqualene cyclase. *Bioorg. Chem.* **1989**. Vol.17. P.108-120.
- [103] Duriatti A., Schuber F. Partial purification of 2,3-oxidosqualene-lanosterol cyclase from hog-liver. Evidence for a functional thiol residue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**. Vol.151. P.1378-1385.
- [104] Abe I., Sankawa U., Ebizuka Y. Purification and properties of squalene-2,3-epoxide cyclases from pea seedlings. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**. Vol.40. P.1755-1760.
- [105] Hoshino T., Williams H.J., Chung Y., Scott A.I. Partial purification and characterization of oxidosqualene-lanosterol cyclase from bakers yeast. *Tetrahedron.* **1991**. Vol.31. P.5925-5932.
- [106] Balliano G., Grosa G., Milla P., Viola F., Cattel L. 3-Carboxy-4-nitrophenyl-dithio-1,1',2'-trinsorsqualene: A Site-Directed Inactivator of Yeast Oxidosqualene Cyclase. *Lipids.* **1993**. Vol.28. P.903-906.
- [107] Zheng Y.F., et al. Synthesis of Sulfur- and Sulfoxide-Substituted 2,3-Oxidosqualenes and Their Evaluation as Inhibitors of 2,3-Oxidosqualene-Lanosterol Cyclase. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**. Vol.117. P.670-680.
- [108] Ceruti M., et al. Vinyl Sulfide Derivatives of Truncated Oxidosqualene as Selective Inhibitors of Oxidosqualene and Squalene-Hopene Cyclases. *Lipids.* **2001**. Vol.36. No.6. P.629-636.
- [109] Abad J.-L., Casas J., Sanchez-Baeza F., Messeguer A. 2,3:18,19-dioxidosqualene: synthesis and activity as a potent inhibitor of 2,3-oxidosqualene-lanosterol cyclase in rat liver microsomes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**. Vol.2. P.1239-1242.

- [110] Abad J.-L., Casas J., Sanchez-Baeza F., Messeguer A. Dioxidosqualenes: Characterization and Activity as Inhibitors of 2,3-Oxidosqualene-Lanosterol Cyclase. *J. Org. Chem.* **1993**. Vol.58. P.3991-3997.
- [111] Abad, J.-L., Casas J., Abian J., Messeguer A. Epoxidation of 6,7- and 10,11-oxidosqualenes by the squalene epoxidase present in rat liver microsomes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**. Vol.3. No.12. P.2581-2586.
- [112] Eisele B., Budzinski R., Muller P., Maier R., Mark M. Effects of a novel 2,3-oxidosqualene cyclase inhibitor on cholesterol biosynthesis and lipid metabolism *in vivo*. *J. Lipid Res.* **1997**. Vol.38. P.564-575.
- [113] Maier R., et al. Preparation and cholesterol biosynthesis inhibition activity of arylideneazacycloalkanes and their salts. *Chem. Abstr.* **1994**. Vol.121. P.108807.
- [114] Eisele B., Budzinski R., Muller P., Maier R., Mark M. Effects of a novel 2,3-oxidosqualene cyclase inhibitor on the regulation of cholesterol biosynthesis in HepG2 cells. *J. Lipid Res.* **1996**. Vol.37. P.148-158.
- [115] Morand O.H., et al. Ro 48-8071 a new 2,3-oxidosqualene-lanosterol cyclase inhibitor lowering plasma cholesterol in hamster, squirrel, monkeys and minipigs: comparison to simvastatin. *J. Lipid. Res.* **1997**. Vol.38. P.373-390.
- [116] Brown G.R., et al. Quinuclidine inhibitors of 2,3-oxidosqualene cyclase-lanosterol synthase: optimization from lipid profiles. *J. Med. Chem.* **1999**. Vol.42. P.1306-1311.