

А. Г. Шавва, Г. Л. Старова, С. И. Селиванов, С. Н. Морозкина

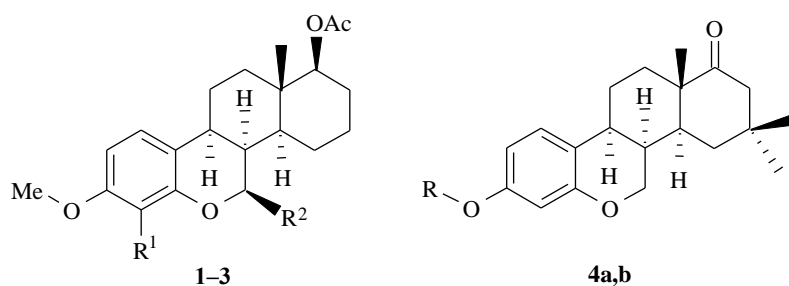
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СТРУКТУРЫ НЕКОТОРЫХ  
D-ГОМО-6-ОКСА-8 $\alpha$ -АНАЛОГОВ СТЕРОИДНЫХ ЭСТРОГЕНОВ

Методами РСА и спектроскопии ЯМР показано, что конформации нескольких исследованных D-гомо-6-окса-8 $\alpha$ -аналогов стероидных эстрогенов близки в кристалле и в растворе. Расстояния между атомами водорода в этих молекулах, вычисленные методами *ab initio* и ММ<sup>+</sup>, соответствуют экспериментальным.

**Ключевые слова:** аналоги стероидных эстрогенов, молекулярная структура, молекулярное моделирование.

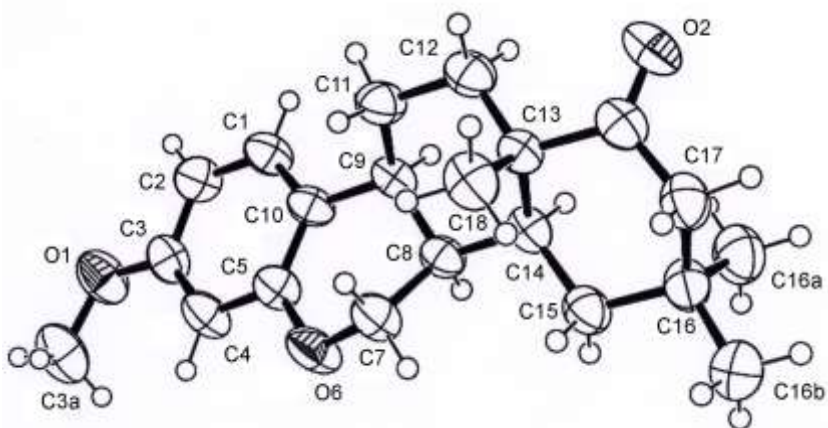
В настоящее время ведется интенсивный поиск специфических ингибиторов ферментов, ответственных за метаболизм стероидных гормонов [1–7]. Такие ингибиторы необходимы для лечения различных заболеваний, как связанных с дисбалансом содержания гормонов в организме, так и онкологических. Важным условием для отбора новых стероидов для детального исследования является отсутствие у них гормонального действия.

Стероидоподобные соединения, ковалентно связанные с биологически активными веществами других классов, могли бы служить для транспорта последних в органы-мишени эстрогенов, а в случае пептидилстероидов – и для их защиты от деструкции под действием протеаз [8–10]. D-Гомо-6-окса-8 $\alpha$ -аналоги стероидных эстрогенов **1–4** перспективны для синтеза на их основе соединений с указанными свойствами [11, 12].



**1** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H; **2** R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = Me; **3** R<sup>1</sup> = Me, R<sup>2</sup> = H; **4 a** R = Me, **b** R = H

Биологическая активность модуляторов рецепторов эстрогенов в значительной степени определяется структурой их комплексов с рецепторами этих гормонов [13–15]. Поэтому все большее внимание уделяется анализу



Пространственное строение молекулы стероида **4a** по данным РСА

таких комплексов для выявления критериев, позволяющих оценить потенциальные биологические свойства новых лигандов, опосредованные данным рецептором, на стадии планирования отбора новых веществ для синтеза [16].

Поскольку ряд компьютерных программ позволяет осуществить моделирование связывания протеинов с лигандами [17–20], актуален вопрос о целесообразности применения того или иного метода расчета конформации лиганда как для ее докинга в гормон, связывающий участок белка, так и для сравнения конформаций лиганда в растворе и в комплексе с белками. Первым этапом исследований является сравнение конформаций лигандов, найденных экспериментально и вычисленных различными методами [21–24].

Представлялось необходимым провести такое исследование в ряду стероидов **1–4a**. РСА соединений **1**, **2** проведен в работе [25], соединения **3** – в [26]. Нами осуществлен РСА соединения **4a**, атомы водорода размещены в расчетные позиции (рисунок). Поглощение не учитывалось. Расчеты проводились с использованием комплексов программ SHELX-97 [27].

Конформация стероида **4a** аналогична конформации изученных ранее эстрогенов 6-окса-8 $\alpha$ -ряда: кольцо *A* – плоское, кольцо *B* – *искаженное полукресло*, основание которого находится в плоскости кольца *A*, а атомы C(7) и C(8) отклонены от этой плоскости на равные расстояния (0.41 Å), но в разные стороны: C(7) – вниз, а C(8) – вверх. Кольца *C* и *D* – практически правильные *кресла*, имеющие *транс*-сочленение. Их основания C(8)–C(11)–C(12)–C(14) и C(13)–C(15)–C(16)–C(17a) составляют с плоскостью цикла *A* углы в 141.0 и 138.8° соответственно. Атом углерода метоксигруппы при C(3) немного отклоняется от плоскости цикла *A* и занимает *транс*-положение относительно связи C(2)–C(3). Расстояние между атомами кислорода при кольцах *A* и *D* (важное для связывания с рецепторами эстрогенов) составляет 10.508(5) Å, что значительно меньше, чем в молекуле природного гормона эстрадиола (10.93 Å) [17].

Расстояния (*l*) между атомами водорода в стероидах 1–3 и 4а\*

Позиции атомов Н	<i>l</i> , Å															
	1				2				3					4а		
	РСА	ЯМР	Ab initio	ММ <sup>+</sup>	РСА	ЯМР	Ab initio	ММ <sup>+</sup>	РСА		ЯМР	Ab initio	ММ <sup>+</sup>	РСА	Ab initio	ММ <sup>+</sup>
									Конформация 1	Конформация 2						
1–9α	2.60	2.60	2.57	2.56	2.73	2.71	2.70	2.68	2.53	2.52	2.50	2.59	2.55	2.47	2.60	2.51
1–11α	2.55	2.64	2.62	2.44	2.38	2.45	2.35	2.25	2.66	2.61	2.60	2.55	2.44	2.61	2.59	2.49
7α–8α	2.47		2.46	2.51	2.37	2.43	2.32	2.34	2.44	2.44	2.56	2.46	2.51	2.44	2.46	2.51
7α–15α	2.73		2.83	2.82	2.37	2.35	2.51	2.46	2.81	2.85		2.81	2.83	2.78	2.84	2.86
7α–15β	2.19		2.40	2.37	2.40		2.56	2.53	2.27	2.33		2.37	2.37	2.25	2.38	2.34
7β–11β	2.22		2.31	2.38	–	–	–	–	2.19	2.12	2.30	2.39	2.38	2.45	2.40	2.38
7β–15β	3.21		3.23	3.07	–	–	–	–	3.24	3.30		3.21	3.32	3.26	3.22	3.29
8α–Н9α	2.41	2.42	2.37	2.37	2.37		2.27	2.26	2.45	2.47	2.40	2.35	2.37	2.42	2.35	2.37
8α–14α	2.24	2.35	2.32	2.31	1.97	2.14	2.21	2.19	2.21	2.27		2.30	2.31	2.24	2.31	2.33
8α–15α	2.41		2.49	2.49	2.43	2.60	2.55	2.57	2.36	2.39	2.38	2.49	2.49	2.37	2.48	2.47
9α–11α	2.39	2.60	2.45	2.47	2.40	2.56	2.43	2.43	2.41	2.44	2.58	2.45	2.47	2.50	2.43	2.46
9α–12α	2.57	2.54	2.56	2.59	2.67	2.50	2.49	2.56	2.51	2.53	2.52	2.58	2.59	2.57	2.61	2.61
9α–14α	2.58	2.56	2.52	2.55	2.53		2.59	2.67	2.44	2.48	2.62	2.54	2.55	2.52	2.50	2.52
11α–12α	2.46		2.46	2.45	2.47	2.62	2.46	2.45	2.43	2.45	2.55	2.44	2.45	2.36	2.45	2.45
12α–17αα	2.36	2.39	2.34	2.36	2.33	2.43	2.36	2.39	2.31	2.36		2.33	2.35	–	–	–
14α–16α	2.52		2.48	2.49	2.45		2.47	2.48	2.55	2.52	2.42	2.52	2.49	–	–	–
14α–17αα	2.18	2.30	2.33	2.35	2.15	2.21	2.27	2.30	2.23	2.21		2.30	2.34	–	–	–
15α–16α	2.43		2.44	2.46	2.36		2.43	2.45	2.43	2.43	2.25	2.42	2.46	–	–	–

\* Расстояние между атомами О(3)–О(17), Å: **1** – 10.76 (РСА), 10.64 (*ab initio*), 10.89 (ММ<sup>+</sup>); **2** – 10.89 (РСА), 10.75 (*ab initio*), 10.68 (ММ<sup>+</sup>); **3** – 10.72 (РСА, конф. 1), 10.70 (РСА, конф. 2), 10.72 (*ab initio*), 10.64 (ММ<sup>+</sup>); **4а** – 10.51 (РСА), 10.57 (*ab initio*), 10.49 (ММ<sup>+</sup>).

Расстояния между протонами в стероидах **1–4a** вычислено методами *ab initio* и неограниченной молекулярной механики (ММ<sup>+</sup>), а в соединениях **1–3** в растворе найдено методами спектроскопии ЯМР, как предложено в работе [24] (таблица).

Легко видеть, что экспериментальные данные удовлетворительно соответствуют вычисленным значениям. Это позволяет рекомендовать метод неограниченной молекулярной механики ММ<sup>+</sup> для расчета структуры лигандрецепторных комплексов в тех случаях, когда требуется найти структуры стероидов, не обладающих гормональной активностью.

Результаты моделирования мы покажем на примере соединения **4b**, поскольку эстрогены с гидроксильной группой при атоме С(3) должны иметь большее сродство к соответствующим рецепторам, чем аналоги с метоксильной группой [28]. В комплекс эстрадиола с  $\alpha$ -рецептором эстрогенов, построенный по данным РСА [29], вместо природного гормона вручную докировали аналог **4b**. Оказалось, что структура этого соединения плохо совместима с геометрией лиганд-связывающего кармана рецептора. Наличие метильных групп при атоме С(16) вынуждает лиганд занять энергетически невыгодное положение в комплексе с белком, исключая образование водородных связей между группой NH His524 и кетогруппой при атоме С(17a), что должно заметно снизить сродство стероида к рецептору. Кроме того, возникают неблагоприятные взаимодействия между атомами Н-4 и Н-7 $\alpha$  и Met-388, Н-11 $\alpha$  и Н-11 $\beta$  стероида и метильной группой Ala 350 рецептора (расстояние между ними 1.9 и 2.2 Å соответственно).

Расстояние между гидроксильной группой при атоме С(3) и кислородом карбоксильной группы Glu 353, по расчетным данным, ~3.8 Å, что намного больше, чем в комплексе с природным гормоном эстрадиолом (2.4 Å) [28]. В конечном итоге, вычисленное значение энтальпии образования лиганда в комплексе с рецептором примерно на 10 ккал/моль больше, чем в свободном состоянии. Очевидно, что данный стероид практически не должен обладать утеротропной активностью. Еще большие различия в энтальпии образования в комплексе с  $\alpha$ -рецептором эстрогенов и в свободном состоянии у антипода соединения **4b**.

В заключение следует указать, что специфические модуляторы рецепторов эстрогенов (например, ралоксифен) могут иметь серьезные побочные эффекты, характерные для природных гормонов [30]. Более того, оказалось, что длительное введение ралоксифена женщинам, находящимся в пременопаузе, приводит к повышению в крови содержания эстрадиола и сексгормон-связывающего глобулина, что свидетельствует об увеличении риска развития инвазивного рака молочной железы [31]. Поэтому для создания ингибиторов метаболизма стероидных гормонов и носителей в органы-мишени эстрогенов других классов биологически активных веществ перспективны соединения типа **2**, **3** и **4a**, не обладающие гормональными свойствами.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Кристаллы стероида **4a**, пригодные для исследования методом РСА, выращены из гексана и представляют собой бесцветные таблички. Они относятся к триклинной сингонии, пространственная группа  $P1$ ,  $a = 6.416(2)$ ,  $b = 8.733(2)$ ,  $c = 13.005(5)$  Å,  $\alpha = 88.960(5)^\circ$ ,  $\beta = 83.070(5)^\circ$ ,  $\gamma = 70.130(5)^\circ$ ,  $Z = 2$ ,  $D_x = 1.225$  г/см<sup>3</sup>. Структура решена прямыми методами и уточнена с учетом анизотропии тепловых колебаний неводородных атомов до  $R = 0.035$  на основании 5182 ненулевых независимых рефлекса, собранных на автодифрактометре SMART CCD.

Кристаллохимическая информация об этом стероиде депонирована в Кембриджской базе структурных данных (CCDC 652864).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. S. Chetrite, J. R. Pasqualini, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **76**, 95 (2001).
2. D. A. Holt, H.-J. Oh, M. A. Levy, B. W. Metcalf, *Steroids*, **56**, 4 (1991).
3. P.-K. Li, R. Pillai, L. Dibbelt, *Steroids*, **60**, 299 (1995).
4. A. Purohit, H. A. M. Hejaz, L. W. L. Woo, A. E. van Strien, B. V. L. Potter, M. J. Reed, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **69**, 227 (1999).
5. D. S. Fischer, G. M. Allan, C. Bubert, N. Vicker, A. Smith, H. J. Tutill, A. Purohit, L. Wood, G. Packham, M. F. Mahon, M. J. Reed, B. V. L. Potter, *J. Med. Chem.*, **48**, 5749 (2005).
6. H. R. Lawrence, N. Vicker, G. M. Allan, A. Smith, M. F. Mahon, H. J. Tutill, A. Purohit, M. J. Reed, B. V. L. Potter, *J. Med. Chem.*, **48**, 2759 (2005).
7. M. Numazawa, M. Ando, Y. Watari, T. Tominaga, Y. Hayata, A. Yoshimura, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **96**, 51 (2005).
8. C. Wang, M. Zhao, J. Yang, S. Peng, *Steroids*, **66**, 811 (2001).
9. C. Wang, W. Cui, M. Zhao, J. Yang, S. Peng, *Bioorg. Med. Chem. Letters*, **13**, 143 (2003).
10. C. Wang, M. Zhao, X. Qiu, S. Peng, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 4403 (2004).
11. S. N. Morozkina, A. G. Shavva, *Screening and MedChemEurope*. 20–21 February 2007, Palau De Congressor De Catalunya, Barselona, Spain, Presentation.
12. А. Г. Шавва, С. Н. Морозкина, И. В. Ищенко, И. И. Елисеев, С. И. Селиванов, Ш. Н. Абусалимов, С. С. Селиванов, И. Ю. Каменева, Н. Д. Ещенко, *Биоорганическая химия*, **33**, 310 (2007).
13. G. M. Anstead, K. E. Carlson, J. A. Katzenellenbogen, *Steroids*, **62**, 268 (1997).
14. S. C. Brooks, D. F. Skafar, *Steroids*, **69**, 401 (2004).
15. A. K. Shiau, D. Barstad, P. M. Loria, L. Cheng, P. J. Kushner, D. A. Agard, G. L. Green, *Cell*, **95**, 927 (1998).
16. J. M. Blaney, J. S. Dixon, *Perspect. Drug Discovery Design.*, **1**, 301 (1993).
17. P. M. Colman, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **4**, 868 (1994).
18. I. D. Kuntz, *Science*, **257**, 1078 (1992).
19. T. Lengauer, M. Rarey, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **6**, 402 (1996).
20. T. P. Lybrand, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **5**, 224 (1995).
21. F. Kayser, D. Maes, L. Wyns, J. Lisgarten, R. Palmer, D. Lisgarten, R. Willem, J. C. Martins, P. Verheyden, M. Biesemans, *Steroids*, **60**, 713 (1995).
22. B. Schönecker, C. Lange, M. Kötteritzsch, W. Günter, J. Weston, E. Anders, H. Görls, *J. Org. Chem.*, **65**, 5487 (2000).
23. F. Commodari, G. Sclavos, S. Ibrahimi, A. Khiat, Y. Boulanger, *Magn. Res. Chem.*, **43**, 444 (2005).

24. В. Н. Белов, В. Ю. Дудкин, Е. А. Урусова, Г. Л. Старова, С. И. Селиванов, С. В. Николаев, Н. Д. Ещенко, С. Н. Морозкина, А. Г. Шавва, *Биоорганическая химия*, **33**, 315 (2007).
25. Г. Л. Старова, С. С. Селиванов, М. С. Егоров, С. И. Селиванов, А. Г. Шавва, *Кристаллография*, **49**, 502 (2004).
26. Г. Л. Старова, К. В. Власова, Ш. Н. Абусалимов, А. Г. Шавва, *Исследование молекулярной структуры 17 $\alpha$ -ацетокси-7 $\beta$ -метил-3-метокси-6-окса-D-гомо-8-изоэстра-1,3,5(10)-триена*, в кн. Тез. докл. РСНЭ-2003, Москва, 2003, с. 94.
27. G. M. Sheldrick, *SHELXL97*, Univ. of Göttingen, Germany, 1997.
28. А. Г. Шавва, К. В. Власова, С. Б. Цогоева, М. С. Егоров, П. П. Якуцени, *Биоорганическая химия*, **28**, 236 (2002).
29. A. M. Brzozowski, A. C. Pike, Z. Dauter, R. E. Hubbard, T. Bonn, O. Engström, L. Ohman, G. L. Green, J.-Å. Gustafsson, M. Garlquist, *Nature*, **389**, 753 (1997).
30. C. L. Deal, M. W. Drapper, *Women's Health*, **2**, 199 (2006).
31. J. M. Faupel-Badger, S. A. Prindiville, D. Venzon, B. K. Vonderhaar, Jo A. Zujewski, J. Eng-Wong, *J. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, **15**, 1153 (2006).

Санкт-Петербургский государственный  
университет, химический факультет,  
Санкт-Петербург, Петродворец 198504,  
Россия  
e-mail: AGShavva@yandex.ru

Поступило 18.07.2007