



УДК 547.92+541.6

СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ
16 α , 17 α -ЦИКЛОАЛКАНОПРОГЕСТЕРОНОВ
(ПРЕГНА- D' -ПЕНТАРАНОВ)

Симонов В. И., Цейкинский В. М.

Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова Академии наук СССР, Москва

Бамерницкий А. В., Гусикова Л. Е., Левина И. С.

Институт органической химии им. П. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва

Проведено сравнение конформационных характеристик и контрацептивной активности пяти 16 α ,17 α -циклоалканопрогестеронов. Три из них (прегна- D'_3 -, - D'_6 - и 6 α -метил- D'_6 -пентараны) обладают в разной степени способностью к контрацепции, а два остальных (прегна- D'_4 - и прегна- D'_3 -пентараны) лишены такой активности. В результате сопоставления конформационных параметров молекул и биологической активности соединений делается вывод о корреляции контрацептивного действия стероида с пространственным расположением 17 β -ацетильной группы, определяемой торсионным углом С(15)—С(16)—С(17)—С(20). По-видимому, эта корреляция обусловлена в конечном счете возможностью образования водородной связи между атомом О(20) стероида и рецептором.

Взаимодействие стероидного гормона с белковым рецептором — необходимая стадия проявления его биологической функции. Установление закономерностей такого взаимодействия создает основу для выяснения молекулярного механизма действия стероидных гормонов. Прямой путь таких исследований складывается из структурных определений гормона, рецептора и комплекса гормон — рецептор. К сожалению, этот подход в ближайшее время вряд ли может быть реализован для гормонов типа прогестерона. Дело не только в том, что на этом пути необходимо выполнить структурный анализ белкового рецептора и его комплекса со стероидной молекулой, но и в том, что соответствующие рецепторы пока еще однозначно не идентифицированы. Нет даже единой точки зрения, выступает ли в качестве рецептора один какой-либо белок или их несколько [1].

Второй, не менее важный момент выявления механизма действия стероидных гормонов — вопрос об одноцентровом либо двухцентровом взаимодействии стероида с рецептором [2]. К сожалению, в настоящее время нет возможности получить однозначный ответ и на этот вопрос.

Однако существенную информацию для решения проблемы «строение — функция» могут дать систематические рентгеноструктурные исследования ряда специальным образом модифицированных стероидных соединений, различающихся по своей активности. Естественно, что в таком наборе объектов изменению должен подвергаться по возможности лишь один какой-либо параметр: пространственное положение ограниченной

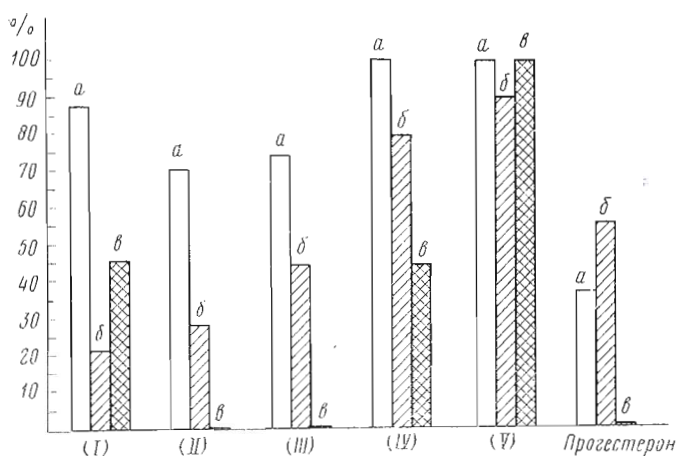
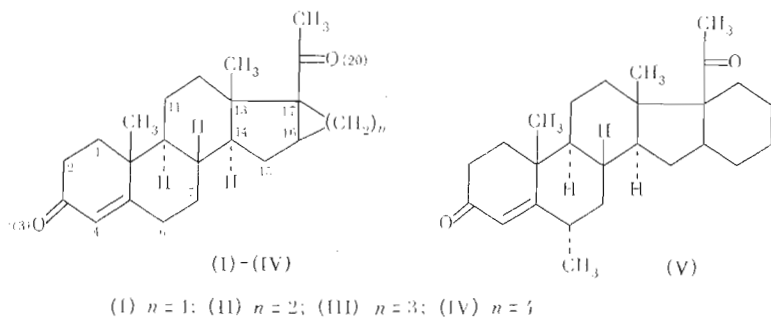


Рис. 1. Биологическая активность соединений (I)–(V): а — тест Клауберга — Мак-Фейла; б — тест сохранения бластоцистов; в — контрацептивный эффект

группы атомов, полярность одного из центров, степень экранирования предполагаемого активного центра и т. п.

В связи с этим несколько лет назад был предпринят синтез [3, 4], изучение биологического действия [5, 6] и структуры [7–11] ряда модифицированных прогестагенов.

Синтезированный ряд $16\alpha,17\alpha$ -циклоалканопрогестеронов [3, 4], названных прегна- D' -пентаранами, характеризуется наличием в стероидной молекуле дополнительного цикла D' , число атомов в котором изменяется от трех до шести.



Оказалось, что все синтезированные D' -пентараны (I)–(V) являются высокоактивными гестагенами. Максимальным контрацептивным эффектом (100%) среди изученных соединений обладает 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексанопрогестерон (V). Это соединение является основным компонентом первого отечественного контрацептивного препарата «мецигепрон». Эффект его 6 -дезметиланалога (IV) и $16\alpha,17\alpha$ -циклопропанопрогестерона (I) составляет 44%, а у $16\alpha,17\alpha$ -циклобутано- (II) и $16\alpha,17\alpha$ -циклопентано- (III) прогестеронов контрацептивная активность вообще отсутствует (см. диаграмму). Как следует из диаграммы, нет монотонной зависимости контрацептивной активности от величины дополнительного цикла молекулы.

Задача данного исследования сводится к установлению корреляции между строением и биологической активностью этих производных прогестерона. Нами было проведено сопоставление данных по гестагенной и контрацептивной активности 5 изученных соединений (I)–(V) с их конформациями в кристаллах. При этом мы пытались найти конформацион-

ные особенности, которые можно было бы признать ответственными за отсутствие симбатной зависимости между гестагенной активностью и контрацептивным действием.

Обобщение результатов рентгеноструктурного исследования всего ряда синтезированных соединений позволяет отметить следующие факты. Во всех случаях [7—11] имеет место характерный для стероидов обидий изгиб скелета молекул, причем выпуклой оказывается их β -сторона. Величины изгиба всех пяти молекул близки между собой и не коррелируют с биологической активностью. Величины скручивающих деформаций молекул (I)—(V), характеризуемые псевдоторсионным углом $C(19)-C(10)\dots C(13)-C(18)$, равны соответственно 1,9; 5,0; 7,1; 5,1; $0,6^\circ$.

Принято считать [12, 13], что одним из определяющих факторов биологической активности у прегнановых стероидов является расстояние между кислородными атомами $O(3)$ и $O(20)$, которые, как полагают, вовлекаются в водородные связи с рецепторами. В нашем случае эти расстояния для D'_3 -, D'_4 -, D'_5 -, D'_6 - и 6α -метил- D'_6 -пентаранов составляют 11,04; 11,90; 12,02; 11,83; 11,78 Å соответственно. Для пентаранов, проявляющих контрацептивный эффект, эти расстояния лежат в пределах 11,04—11,83 Å, а для неактивных соединений — в пределах 11,90—12,02 Å. Хотя эти интервалы не перекрываются, вряд ли можно считать, что столь малые различия в межатомных расстояниях могут определить разный биологический эффект.

В работе [13] биологическая активность связывается с некоторой механической моделью, в которой 13β -метильной группе отводится роль своеобразного клина, вносящего специфические изменения в конформацию комплекса стероид — рецептор. В нашем случае высоты атомов $C(18)$ над средней плоскостью, проведенной через циклы B и C молекул, лежат в интервале 1,84—1,90 Å, а значения гестагенной активности по тесту Клауберга изменяются от 100 до 70%. Таким образом, эти данные не противоречат гипотезе [13].

Авторами работы [14] высказано предположение об особой роли ангулярных метильных групп, которые выполняют роль своеобразных фиксаторов, для однозначного примыкания молекулы гормона ее β -стороной к рецептору. Если исходить из данной модели, то правомерно было ожидать корреляции между активностью соединений данного ряда и расстояниями между углеродными атомами ангулярных метильных групп. Эти расстояния в исследованных нами соединениях составляют 4,58; 4,67; 4,82; 4,86; 4,82 Å соответственно для D'_3 -, D'_4 -, D'_5 -, D'_6 -, 6α -метил- D'_6 -пентаранов, что не коррелирует с изменением контрацептивного действия соединений.

Анализ конформаций отдельных циклов показывает, что во всех молекулах $16\alpha,17\alpha$ -циклоалканопрогестероидов циклы B и C имеют конформации, близкие к идеальному креслу. Наиболее мобильны циклы A и D , изменения которых от соединения к соединению заметны, но, к сожалению, не позволяют говорить о какой-либо корреляции между строением этих циклов и контрацептивным действием рассматриваемого ряда D' -пентаранов. Так, для активных D'_3 -, D'_6 - и 6α -метил- D'_6 -пентаранов конформации циклов A соответственно 1α -полуванна, $1\alpha,2\beta$ -полукресло, $1\alpha,2\beta$ -полукресло. Для D'_4 -пентарана конформация цикла A промежуточна между 1α -полуванной и $1\alpha,2\beta$ -полукреслом, а для неактивного D'_5 -пентарана — 1α -полуванна. Соответственно конформации циклов D для активных стероидов D'_3 -, D'_6 - и 6α -метил- D'_6 -пентаранов промежуточны между 13β -копвертом и $13\beta,17\alpha$ -полукреслом. Для D'_4 - и D'_5 -пентаранов эти конформации — 14α -копверт и $13\beta,14\alpha$ -полукресло.

Количественное сравнение конформаций молекул ряда
16 α ,17 α -циклоалканопрогестеронов

Сравниваемые молекулы	(I) и (V)	(II) и (V)	(III) и (V)	(IV) и (V)	(I) и (IV)	(II) и (IV)	(III) и (IV)	(I) и (III)	(II) и (III)	(I) и (II)
$S, \text{ \AA}$	0,09	0,11	0,14	0,12	0,05	0,04	0,01	0,06	0,04	0,01
$\sqrt[3]{\overline{R^2}}, \text{ \AA по атомам}$	0,25	0,18	0,26	0,19	0,22	0,15	0,17	0,15	0,11	0,11
C(1)–C(20), O(20)										

Для количественного сравнения геометрии исследуемых молекул нами был использован метод совмещения молекул [15]. В его основе лежит совмещение сравниваемых молекул или их фрагментов, которое достигается минимизацией специального критерия S — обобщенной характеристики расстояний между атомами сравниваемых молекул:

$$S = (\sum W_i R_i^2 / \sum W_i)^{-2},$$

где R — расстояние между одноименными атомами молекул или их фрагментов, W_i — весовые множители. Невязки $\sqrt[3]{\overline{R^2}}$, отвечающие минимуму S , дают информацию о близости геометрий сравниваемых молекул. Если для части атомов положить веса W_i равными нулю, то можно совместить молекулы только некоторыми их фрагментами. Нами было проведено совмещение молекул (I)–(V) попарно друг с другом. Весовые множители W_i выбирались равными 1 для атомов наиболее устойчивых средних циклов B и C (атомы C(5)–C(14)). Для всех остальных атомов весовые множители задавались нулями. Результаты такого количественного сравнения представлены в таблице, в которой приводятся среднеквадратичные величины невязок для соответствующих атомов сравниваемых молекул и значения критерия S для совмещаемых фрагментов молекул.

Обе эти величины, так же как и индивидуальные невязки, не позволяют провести дифференциацию молекул в соответствии с их биологической активностью.

И только анализ величин внешних торсионных углов молекул ряда 16 α ,17 α -циклоалканопрогестеронов позволил выявить корреляцию контрацептивного действия данного ряда соединения с величинами торсионных углов, определяющих положение ацетильной боковой цепи при атоме C(17). Наиболее наглядно эта зависимость проступает в величинах торсионного угла C(15)–C(17)–C(20). Для активных D_3' -, D_6' - и 6 α -метил- D_6' -пентанов эти углы лежат в интервале 149,1–151,3°, а для неактивных они составляют 132,8–133,5°, т. е. различия в их значениях для обеих групп соединений превосходят 15° и лежат в пределах 15,6–18,5°*.

На рис. 2 представлена сводная проекция всех пяти исследованных молекул при луче проектирования вдоль связи C(16)–C(17). Совмещение молекул по азимуту осуществлялось на этой проекции путем точного перекрытия связей C(15)–C(16). При этом проекции связей C(16)–C(20) на рисунке четко разделились на две компактные группы, разобщенные значительным промежутком. Интересно, что головные части молекул также разбиваются на две группы, однако 16 α ,17 α -циклопропанопрогестерон, проявляющий контрацептивное действие на данной проекции, располагается ближе к молекулам 16 α ,17 α -циклобутано- и циклопентапрогестерона, не обладающим такой активностью.

* Для прогестерона соответствующий угол равен 143,2°.

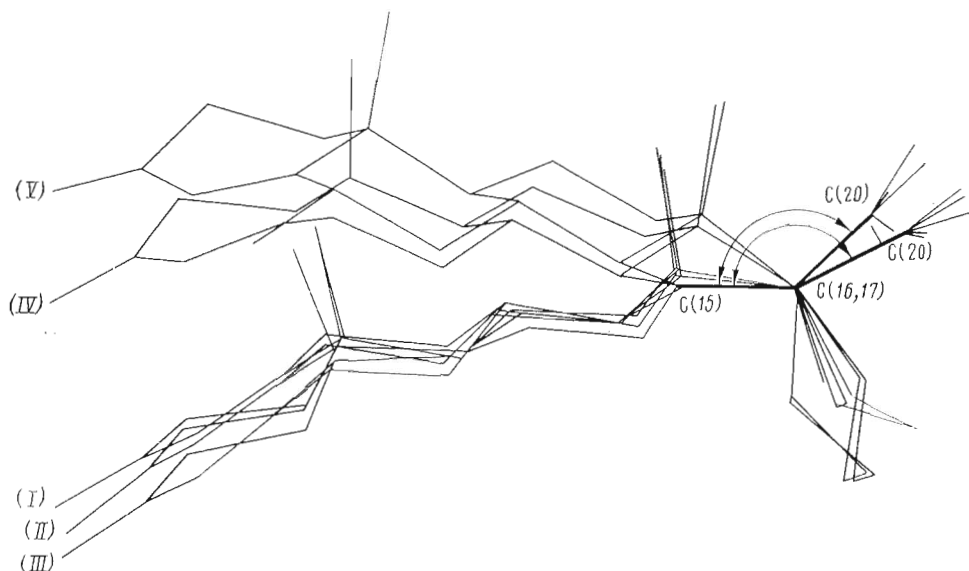


Рис. 2. Сводная проекция молекул исследованных соединений при луче зрения вдоль связи $C(16)-C(17)$ и точном перекрытии связей $C(15)-C(16)$

Другие торсионные углы, определяющие положение 17β -ацетильной группы, также позволяют, хотя и не столь резко, разделить рассматриваемые молекулы на две группы, отвечающие разной активности. Например, значение торсионного угла $C(12)-C(13)-C(20)$ (на рис. 2 обозначен стрелкой) для молекул соединений, проявляющих контрацептивное действие, лежат в интервале $71,2-83,1^\circ$, а для молекул, не обладающих таким действием, $-85,7-88,7^\circ$. Соответствующие интервалы значений для углов $C(14)-C(13)-C(17)-C(20)$ составляют $161,3-172,0^\circ$ и от $-153,3$ до $-155,6^\circ$ и $C(18)-C(13)-C(17)-C(20)$ от $-42,9$ до $-54,7^\circ$ и от $-37,2$ до $-37,8^\circ$.

Принято считать, что гестагенная активность прогестеронон неразрывно связана с их способностью к контрацепции. Исключением является, насколько можно судить, лишь ретропрогестерон [16]. Проведенное исследование не только показывает возможность разделения этих двух биологических эффектов, но и позволяет высказать предположение, что для контрацептивного действия решающее значение имеет положение ацетильной группы при $C(17)$. Положение этой группы в свою очередь определяет позицию атома кислорода $O(20)$ по отношению к наиболее жесткой части стероидной молекулы. Если считать, что с рецептором в процессе взаимодействия контактирует активная β -сторона гормона [17] и принять во внимание ограниченность по направлениям возможных водородных связей стероид — рецептор [18], то можно думать, что установленная нами корреляция между контрацептивным действием и ориентацией ацетильной группы стероидной молекулы сводится в конечном счете к возможности образования водородной связи между атомом $O(20)$ стероида и рецептором.

Экспериментальная часть

Монокристаллы всех пяти соединений для рентгеноструктурных исследований получены кристаллизацией при комнатной температуре из растворов в органических растворителях. Кристаллы бесцветны, прозрачны, имеют призматическую форму, стабильны при комнатной температуре.

Кристаллографические параметры исследованных соединений приведе-

ны в работах [7—11]. Полные наборы экспериментальных интенсивностей дифракционных отражений были получены на автоматическом четырех-крупном дифрактометре. Съемка проводилась на MoK_α -излучении, монохроматизированном с помощью графитового монохроматора. Определение структуры выполнено прямыми методами по комплексу программ «Рентген» [19] с существенным использованием процедуры автоматического уточнения фаз структурных амплитуд [20]. Уточнение структур проводили по программам «Кристалл» [21]. Атомы водорода были локализованы частично непосредственно из разностных синтезов электронной плотности, частично размещены с учетом обычных кристаллохимических соображений. Неводородные атомы уточнялись в анизотропном приближении их тепловых параметров. Атомы водорода для двух структур уточнялись в изотропном приближении, а в остальных случаях были взяты со средними значениями изотропных тепловых параметров [7—11].

Биологическая активность была определена ранее [5, 6] по методу Клауберга — Мак-Фейла (гестагенная активность) и по методу Корнера (процент сохранения blastocysts на овариэктомированных кроликах). Контрацептивный эффект изучали в комбинации с местранолом на крысах и оценивали по отсутствию беременности на 20-й день после оплодотворения; 100% эффект — полное отсутствие беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Физиология эндокринной системы. Л.: Наука, 1979, с. 18, 19.
2. *Duax W. L., Gody V., Griffin J. F., Rohrer D. C., Weeks G. M.* Molecular conformation and protein binding affinity of progestins.— *J. toxicol. and envic. health*, 1978, v. 4, p. 205—207.
3. *Ахрем А. А., Куликова Л. Е., Левина И. С., Титов Ю. А.* Трансформированные стероиды. 43. Синтез пентациклических аналогов прогестерона с добавочным кольцом в положении 16, 17.— *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1972, № 6, с. 1358—1362.
4. *Камерницкий А. В., Куликова Л. Е., Левина И. С.* Трансформированные стероиды. 97. Синтез D_5' -пентаранов — пентациклических стероидов с дополнительным кольцом D' в положении 16, 17.— *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1978, № 6, с. 1395—1397.
5. *Камерницкий А. В., Игнатов В. Н., Левина И. С., Серебряков Э. П., Никитина Г. В., Корхов В. В.* Биологическая активность трансформированных стероидов. X. Синтез и гормональное действие D_4' -пентаранов.— *Хим.-фарм. ж.*, 1977, № 10, с. 96—98.
6. *Камерницкий А. В., Куликова Л. Е., Левина И. С., Корхов В. В., Никитина Г. В., Терехина А. И., Ангипова Л. А.* Биологическая активность трансформированных стероидов. 13. Синтез и биологическая активность D_5' -пентаранов — циклопентано-16 α ,17 α -прогестеронов.— *Хим.-фарм. ж.*, 1979, № 12, с. 40—44.
7. *Цейкинский В. М., Рыбаков В. Б., Симонов В. И., Камерницкий А. В., Куликова Л. Е., Левина И. С.* Молекулярная и кристаллическая структура 16 α ,17 α -циклопентанопрогестерона.— *Биооргани. химия*, 1980, т. 6, № 1, с. 99—107.
8. *Цейкинский В. М., Рыбаков В. Б., Симонов В. И., Камерницкий А. В., Куликова Л. Е., Левина И. С.* Молекулярная и кристаллическая структура 16 α ,17 α -циклогексанопрогестерона.— *Биооргани. химия*, 1980, т. 6, № 2, с. 259—266.
9. *Цейкинский В. М., Рыбаков В. Б., Симонов В. И., Камерницкий А. В., Игнатов В. Н., Левина И. С.* Молекулярная и кристаллическая структура 16 α ,17 α -циклопропанопрогестерона.— *Биооргани. химия*, 1980, т. 6, № 5, с. 752—756.
10. *Цейкинский В. М., Рыбаков В. Б., Симонов В. И., Камерницкий А. В., Куликова Л. Е., Левина И. С.* Молекулярная и кристаллическая структура 6 α -метил-16 α ,17 α -дигексанопрогестерона.— *Биооргани. химия*, 1980, т. 6, № 9, с. 1409—1414.
11. *Цейкинский В. М., Рыбаков В. Б., Симонов В. И., Камерницкий А. В., Игнатов В. Н., Левина И. С.* Молекулярная и кристаллическая структура 16 α ,17 α -циклобутанопрогестерона.— *Биооргани. химия*, 1980, т. 6, № 12, с. 1872—1876.
12. *Duax W. L., Weeks M. C., Rohrer D. C.* Crystal structure of steroids: molecular conformation and biological function.— *Recent progress in hormone research*, 1976, v. 32, p. 81—116.
13. *Dideberg O., Dupont L., Campstejn H.* Possible interaction with hydrogen bonds of steroid hormones. II Corticosteroids.— *J. Steroid Biochem.*, 1976, v. 7, p. 757—760.
14. *Allton C., Geise H. J., Romers C.* Geometry and conformation of ring D in some steroids from X-ray structure determinations.— *Tetrahedron*, 1968, v. 24, p. 13—32.
15. *Черникова Н. Ю., Лавут Е. Э., Зоркий П. М.* Сравнение строения симметрически независимых молекул в кристаллах координационных соединений.— *Коорд. химия*, 1979, т. 5, в. 8, с. 1421—1424.

16. Хефрман Э. Биохимия стероидов. М.: Мир, 1972, с. 76.
17. Ringold H. J. Modification of hormonal activity by stereochemical and electronic alteration of the steroid molecules.— In: Mechanism of action of steroid hormones. Oxford: 1961, v. 1, p. 200–234.
18. Duax W. L., Norton D. A. Atlas of steroid structure.— New York — Washington — London: Plenum press, 1975, v. 1, p. 45.
19. Андрианов В. И., Сафина Э. Ш., Тарнопольский Б. Л. Многогарпанный метод вычисления фаз и автоматическая расшифровка структуры нецентросимметричных кристаллов на ЭВМ.— Ж. структ. химии, 1974, т. 15, с. 911–916.
20. Буквецкая Л. В., Шишова Т. Г., Андрианов В. И., Симонов В. И. Автоматизированная процедура уточнения фаз структурных амплитуд.— Кристаллография, 1977, т. 22, с. 494–497.
21. Мурадян Л. А., Симонов В. И. Уточнение структуры кристаллов с учетом анизотропии тепловых колебаний атомов.— Кристаллография, 1973, т. 18, с. 75–80.

Поступила в редакцию
2.XII.1980

**THE STRUCTURE AND BIOLOGICAL FUNCTION
OF 16 α , 17 α -CYCLOALKANOPROGESTERONES (PREGNA-*D'*-PENTARANS)**

SIMONOV V. I., TSEIKINSKY V. M., KAMERNITSKY A. V.,
KULIKOVA L. E., LEVINA E. S.

*A. V. Shubnikov Institute of Crystallography and N. D. Zelinsky Institute
of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The conformational features and contraceptive activity of five 16 α ,17 α -cycloalkano-
pregesterones have been compared. Three of them (pregna-*D*₃'-, *D*₆'- and 6 α -methyl-
*D*₆'-pentarans) are of different contraceptive activity, and the remaining two (pregna-
*D*₄'- and pregna-*D*₅'-pentarans) do not possess such activity at all. A comparison of mo-
lecular conformational parameters and biological activity of these compounds reveals
a correlation between the contraceptive activity and spatial disposition of the 17 β -acetyl
group which is determined by the torsion angle C(15)–C(16)–C(17)–C(20). This cor-
relation seems to stem from a possibility of forming hydrogen bond between the ste-
roid O(20) atom and the receptor.