

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимский
федеральный исследовательский центр Российской академии наук
(УФИЦ РАН)

Институт нефтехимии и катализа - обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук
(Институт нефтехимии и катализа УФИЦ РАН)

На правах рукописи

МОЗГОВОЙ ОЛЕГ СЕРГЕЕВИЧ

**ЯМР-ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И МОДЕЛИРОВАНИЕ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *insilico*НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 20-
ГИДРОКСИЭКДИЗОНА**

02.00.03 – органическая химия

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

Уфа 2019

Работа выполнена в Институте нефтехимии и катализа – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Научный руководитель: – Халилов Леонард Мухибович, доктор химических наук, профессор РАН

Рецензенты:

- Куковинец Ольга Сергеевна, доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВО "Башкирский Государственный Университет
- Ахметова Внира Рахимовна, доктор химических наук, профессор, Институт нефтехимии и катализа УФИЦ РАН

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Экдистероиды, или полигидроксилированные стероиды, обнаружены в большинстве классов беспозвоночных, включая насекомых, а также изолированы из многочисленных видов растений. В организмах насекомых физиологическая роль данных соединений заключается в контроле процессов линьки и метаморфоз, в регулировании репродуктивной функции и главных физиологических процессов, подобных метаболизму. Предполагается, что функция экдистероидов в растениях (фитоэкдизоны) заключается в защите от фитофагов.

Общим структурным признаком всех идентифицированных на настоящий момент экдистероидов служит наличие в стероидном каркасе γ -гидрокси- Δ -7-6-кето-фрагмента, в то время как отличительные особенности проявляются в строении боковой цепи, в количестве и конфигурации гидроксильных групп остова молекулы, что обуславливает степень сродства рассматриваемых низкомолекулярных полициклических соединений в отношении экдистероидного рецептора различных видов насекомых.

Наиболее доступным и изученным представителем полифункциональных стероидов является 20-гидроксиэкдизон (20HE) – самый распространенный гормон развития и жизнедеятельности насекомых и ракообразных. Выявленные разнообразные фармакологические эффекты 20-гидроксиэкдизона (адаптогенный, анаболический, гепатопротекторный, иммунопротекторный) предопределили перспективу создания различных экдистероидсодержащих препаратов, применяемых в реабилитационной медицине при нарушениях сердечно-сосудистой, центральной нервной и репродуктивной систем.

Структура природной молекулы 20HE представляет из себя синтетически привлекательную матрицу для направленного синтеза практически важных и перспективных (благодаря нативной активности) биологически активных соединений, обладающих сродством к различным

биологическим мишеням, а также является интересным объектом для получения новых структур, не имеющих аналогов в природе.

До настоящего времени основные исследования в химии экистероидов были сосредоточены на проведении традиционных для природных молекул трансформаций, которые затрагивали в основном функциональные группы стероидного каркаса и боковой цепи молекулы.

Развитие современных методов активации С-Н и С-С связей, в том числе с привлечением физических методов, создало методологическую базу для осуществления нетривиальных трансформаций экистероидов, результатом которых может стать получение новых гибридных соединений и принципиально новых структур.

Результаты структурного анализа в совокупности с данными квантово-химических расчетов и компьютерного моделирования имеют определяющее значение в процессах исследования механизмов каркасных перегруппировок и прогнозирования реакционной способности новых потенциально активных соединений. Наиболее универсальным методом структурной идентификации в органической химии является спектроскопия ЯМР ^1H и ^{13}C . Спектроскопия ЯМР выступает мощным инструментом установления конформационного и конфигурационного состояния сложных полициклических молекул, а использование современных двумерных методик позволяет получать исчерпывающую информацию не только о трехмерной структуре, но также о динамическом состоянии молекул в растворе. Современные методы молекулярного докинга и DFT-исследований вносят существенный вклад в разработку стратегии повышения биологической активности природных соединений.

Таким образом, диверсификация природных структур является на данный момент важным трендом развития химии экистероидов.

Цель исследования. ЯМР- и DFT-исследование структурных трансформаций и прогнозирование биологической активности *insilico* новых производных 20-гидроксиэкидизона.

В рамках диссертационной работы определены следующие наиболее важные задачи:

- Структурный анализ новых полусинтетических производных 20-гидроксиэкдизона;
- Установление механизма 13(14 → 8) перегруппировки в молекулах экдистероидов;
- Моделирование *insilico* новых экдистероидов с потенциальной агонистической активностью.

Научная новизна. Впервые проведен комплексный конформационный анализ короткой С-20 боковой цепи молекул производных постстерона с использованием методов ЯМР- и DFT-исследований. Установлены термодинамические параметры интермедиатов процессов образования 20-гидрокси- и 20-аминопроизводных постстерона.

Впервые методами DFT исследован механизм 13(14 → 8) перегруппировки в молекулах экдистероидов. Определены переходные состояния полифункциональных стероидов в процессах 1,2-миграции сигма связи С(13)-С(14).

Предложен метод повышения сродства экдистероидов с короткой боковой цепью С-20 к белку-мишени.

Практическая ценность работы. Установленные в процессе исследования структурные закономерности экдистероидного ряда будут способствовать развитию стратегии направленного синтеза как фармакологически ценных препаратов, так и наиболее эффективных инсектицидов.

Публикации. По материалам работы опубликовано 7 научных трудов, из них 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК и включенных в Scopus и WebofScience.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. ЯМР- и DFT-конформационный анализ короткой С-20 боковой цепи молекул производных постстерона с использованием методов

Конформационное исследование выполнено для двух экистероидов: (20R/S)-2 β ,3 β -тригидрокси-7 α -метил-5 β -прегн-8(14)-ен-6-она¹(1) и (20R/S)-амино-2,3-диацетокси-14 α -гидрокси-5 β -прегн-7-ен-6-она² (2).

В общем случае сигналы атомов С-6, С-8, С-14, С-18, С-19 и С-21 в спектрах ЯМР ¹³С исследуемых полиоксистероидов являлись характеристическими, которые давали ключевые корреляции с сигналами протонов в спектрах НМВС (Рис.1).

Кросс-пикимежду протонами метильной группы Н₃С-18 ($\delta \sim 0.72 - 1.09$ м.д.) и атомом углерода С-14, а также корреляции атома углерода в пятом положении с протонами группы Н₃С-19 в эксперименте НМВС позволили выбрать данные сигналы в качестве реперных для проведения стереохимического исследования молекул. Эффекты Оверхаузера, наблюдаемые в спектрах NOESY между протонами метильной группы Н₃С-19 ($\delta \sim 0.74 - 0.85$ м.д.) и протоном при атоме С-5 ($\delta \sim 2.44 - 3.10$ м.д.), указывают на цис-сочленение колец А и В во всех исследуемых соединениях. Сигналы атома углерода С-20 в области $\delta \sim 67.54$ м.д. и $\delta \sim 68.72$ м.д. в спектрах ЯМР ¹³С свидетельствуют о наличии в двадцатом положении гидроксильных групп в молекулах 20R- и 20S-2 β ,3 β -тригидрокси-7 α -метил-5 β -прегн-8(14)-ен-6-она(1), соответственно. Присутствие аминогруппы при атоме С-20 молекулы (20R/S)-амино-2,3-диацетокси-14 α -гидрокси-5 β -прегн-7-ен-6-она (2) подтверждается соответствующим сигналом $\delta \sim 48.94$ м.д.

¹ I.V. Galyautdinov, Z.R. Sadretdinova, O.S. Mozgovoi, G.G. Gibadullina, L.M. Khalilov, Z.S. Muslimov, V.N. Odinokov 7 α -Alkylation, 7,7-Bisalkylation, and Reduction of the 20-Oxo Group of Poststerone in Reactions with Alkyl Halides in Lithium–Ammonia Solution, Zhurnal Organicheskoi Khimii, 2017, Vol. 53, No. 1, pp. 112–119;

² R.G. Savchenko, et al. Synthesis of novel α -aminoecdysteroids via regio- and stereoselective oximation/hydrogenation of 20-hydroxyecdysone derivatives // Can. J. Chem., 2016, Vol. 00, pp. 1-4;



Рис.1 Корреляционные взаимодействия в молекулах: **1.**(20R/S)-2β,3β-Тригидрокси-7α-метил-5β-прегн-8(14)-ен-6-она;**2.** (20R/S)-Амино-2,3-диацетокси-14α-гидрокси-5β-прегн-7-ен-6-она.

С целью определения наиболее энергетически выгодных конформационных состояний 20R- и 20S-диастереомеров 20-гидрокси-(**1**) и 20-аминопроизводных (**2**) постстерона для каждого конформационного изомера была определена свободная энергия образования. Поиск наиболее энергетически выгодных конформационных изомеров для каждого энантиомера осуществлялся с помощью релаксированного сканирования поверхности потенциальной энергии молекулы в зависимости от величины двугранного угла $C^{13}-C^{17}-C^{20}-C^{21}$ с шагом в 15 градусов (общее количество шагов составило 24). В результате для каждого из диастереомеров найдены три локальных минимума, соответствующих конформерам с определённым значением указанного торсионного угла (Рис.2)

Из расчетных данных, полученных для молекулы 20-гидроксипроизводного постстерона **1**, следует, что наиболее термодинамически выгодными конформерами являются соединения со значениями торсионного угла -179° и -164° , отвечающие анти-перипланарной и син-клиальной конформациям 20R- и 20S-эпимеров, соответственно (Рис.2).

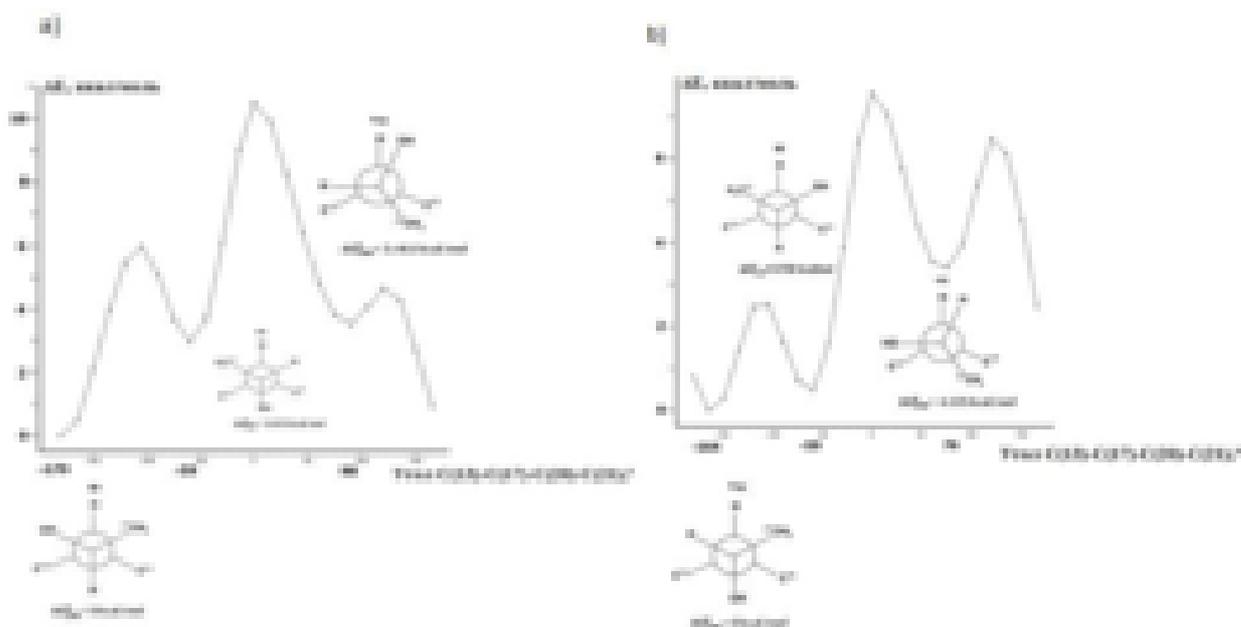


Рис.2. Результаты сканирования ППЭ 20R-(a) и 20S-стереоизомеров (b) молекулы **1** от величины двугранного угла C(13)-C(17)-C(20)-C(21); ap – анти-перипланарная конформация, sc – синклиальная конформация

Сравнение абсолютных значений свободных энергий Гиббса предпочтительных конформеров 20R- ($\Delta G_{298}^0 = -727411,35$ ккал/моль) и 20S- ($\Delta G_{298}^0 = -727410,33$ ккал/моль) диастереомеров показывает, что эпимер с R-конфигурацией стереогенного центра C²⁰ является более термодинамически выгодным (Таблица 1).

Таблица 1. Значения свободной энергии Гиббса ΔG (ккал/моль), полученные для конформеров R- и S-конфигураций хирального центра C-20 молекулы **1**

Конформация	R	S
ap	-727411,35	-727409,60
-sc	-727408,27	-727406,21
+sc	-727407,89	-727410,33

Квантово-химические исследования интермедиатов процессов образования 20R/S-диастереомеров 2 β ,3 β ,20-Тригидрокси-7 α -метил-5 β -прегн-8(14)-ен-6-она (**1**) (Рис. 3), также указывают на предпочтительное получение аддукта с R-конфигурацией стереогенного центра C-20 (Таблица 2).

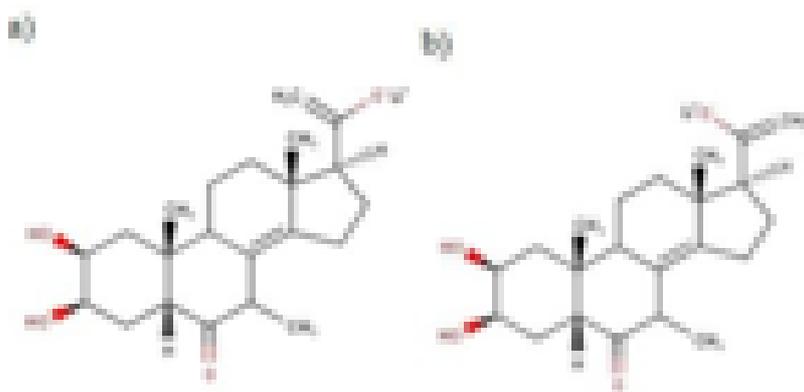


Рис. 3. Интермедиаты процессов образования: а) 20R-гидроксипроизводного постстерона (*анти*-ориентация О-анионного центра относительно группы 18-CH₃); б) 20S-гидроксипроизводного постстерона (*син*-ориентация О-анионного центра относительно группы 18-CH₃)

Таблица 2. Значения свободной энергии Гиббса ΔG (ккал/моль), интермедиатов процесса восстановления 2 β ,3 β ,20-тригидрокси-7 α -метил-5 β -холест-8(14)-ен-6-она (**1**) с *анти*- и *син*-ориентацией О-анионного центра относительно метильной группы Н₃С-18

Пространственная ориентация О-анионного центра	ΔG
Анти-ориентация	-730934.00
Син-ориентация	-730932.86

В ходе релаксированного сканирования поверхности потенциальной энергии 20R/S-диастереомеров экдистероида **2** (Рис.4) от величины двугранного угла C¹³-C¹⁷-C²⁰-C²¹ также были получены три локальных минимума, каждый из которых соответствует конформационному изомеру с определенным значением указанного торсионного угла. Полученные относительные значения свободной энергии позволили определить наиболее предпочтительные конформации для каждого энантиомера. Абсолютные значения свободной энергии 20R- ($\Delta G_{298}^0 = -929037,8712$ ккал/моль) и 20S- ($\Delta G_{298}^0 = -929037,6446$ ккал/моль) диастереомеров демонстрируют, что для 20-аминопроизводных постстерона **2** также характерна R-конфигурация хирального центра С-20

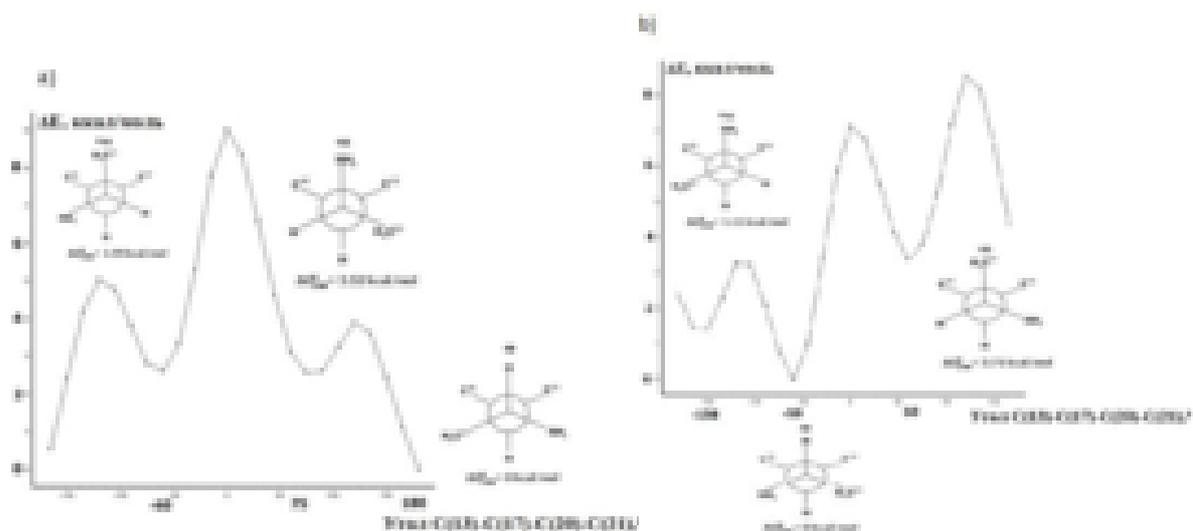


Рис. 4. Результаты сканирования ППЭ молекулы 20R-(а) и 20S-диастереомеров от величины двугранного угла C(13)-C(17)-C(20)-C(21); ар – анти-перипланарная конформация, sc – синклиальная конформация.

Таблица 3. Значения свободной энергии Гиббса ΔG (ккал/моль), полученные для конформеров R- и S-конфигураций хирального центра C-20 молекулы 20-амино-2,3-дицетокси-14 α -гидрокси-5 β -прегн-7-ен-6-она (**2**).

Конформация	R	S
ар	-929037,87	-929037,64
-sc	-929035,35	-929033,93
+sc	-929035,87	-929036,53

С целью определения потенциального барьера процесса образования 20R/S-стереоизомеров аминопроизводного постстерона **2**, было проведено релаксированное сканирование поверхности потенциальной энергии в зависимости от расстояния между молекулами исходного оксима и катализатора никеля-Ренея, на поверхности которого осуществлялось протонирование гидроксиминогруппы. В первом случае (Рис. 5) подход катализатора к экдистероиду выполнялся со стороны наименее объемного заместителя, что соответствует образованию диастереомера с R-конфигурацией стереогенного центра C-20.

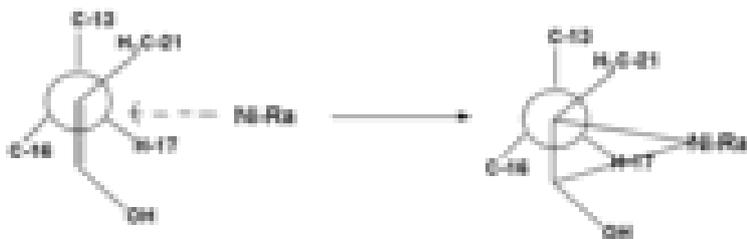


Рис.5. Образование интермедиата процесса восстановления исходного оксима до 20R-аминопроизводного

Во втором случае – со стороны наиболее объемного заместителя (Рис. 6), что отвечает получению 20S-стереоизомера.



Рис.6. Образование интермедиата процесса восстановления исходного оксима до 20S-аминопроизводного

Как видно из представленных на Рис.7 энергетических диаграмм, оба процесса являются без барьерными.

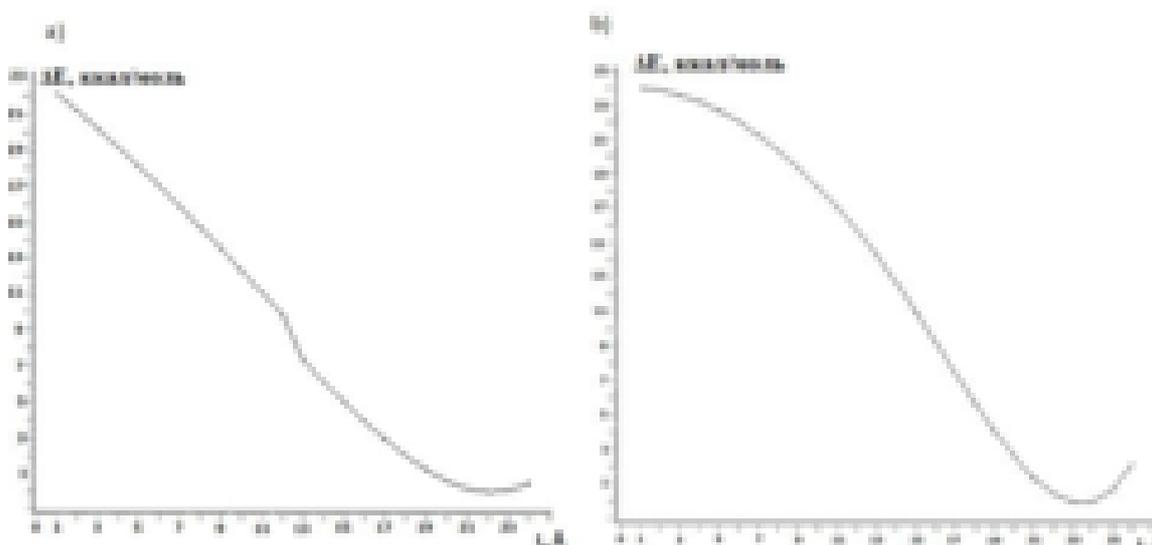


Рис. 7. Результаты сканирования ППЭ 2β,3β-диацетокси-20Е-гидроксиимино-14α-гидрокси-5β-прегн-7-ен-6-она от расстояния с катализатором никель-Ренея: а) Процесс образования 20R-аминопроизводного постстерона; б) Процесс образования 20S-аминопроизводного постстерона.

Однако сравнение абсолютных значений свободных энергий образования соответствующих интермедиатов (Рис.5, Рис.6) ($\Delta G_{298}^0 =$

1730384.0345371 ккал/моль и $\Delta G_{298}^0 = -1730382.7756434$ ккал/моль) показывает, что подход катализатора со стороны меньшего заместителя является более термодинамически выгодным (Таблица 4).

Таблица 4. Значения свободной энергии Гиббса ΔG (ккал/моль), интермедиатов процесса восстановления 2 β ,3 β -диацетокси-20E-гидроксиимино-14 α -гидрокси-5 β -прегн-7-ен-6-она с аксиальным и экваториальным положением никеля-Ренея у двойной связи 20-гидроксииминогруппы

Пространственное расположение катализатора	ΔG
Аксиальное	-1730384.03
Экваториальное	-1730382.77

Таким образом, процесс восстановления исходного оксима, в конформации с трансoidalным расположением большого радикала С-13 при хиральном атоме С-17 S-конфигурации и гидроксииминогруппы, приводит к преимущественному образованию промежуточного соединения с аксиальным расположением никеля-Ренея у двойной связи С=Ni продукта с R-конфигурацией стереогенного центра С-20.

2. DFT-исследование механизма 13(14→8) перегруппировки в молекулах экистероидов

В рамках исследования механизма 13(14→8) *abeo*-перегруппировки в экистероидном ряду нами были рассмотрены реакции 2,3-мезилат производного постстерона³ (**3**) и 2,3-ацетонида постстерона⁴ (**9**) с кислотами Льюиса и Бренстода, соответственно.

³R.G. Savchenko, et al. Sonochemically assisted 2,3- dideoxygenation and skeletal rearrangement of ecdysteroid derivatives // *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018;

⁴R.G. Savchenko, et al. Molecular Rearrangements of Poststerone Derivative Steroid Core with Formation of Unique D-homostructures of Pregnane and Androstane Series // *Steroids*, 2019, pp. 28-35.

2.1. Взаимодействие экистероидов с кислотами Льюиса

В качестве кислоты Льюиса использовался ион йодида цинка, который был получен при смешивании цинка и йодида натрия в диметилформамиде. Реакция проходила в условиях ультразвука (Рис.8). Предполагается, что действие ультразвука способствует повышению потенциальной энергии молекулы **3**, что приводит к элиминированию заместителей в положениях C2 и C3 с образованием экистероида **4**. Поскольку 14-гидрокси-7-еноновый фрагмент экистероидов по структуре является третичным аллильным спиртом, ожидается, что процесс будет отвечать механизму семипинаколиновой перегруппировки.

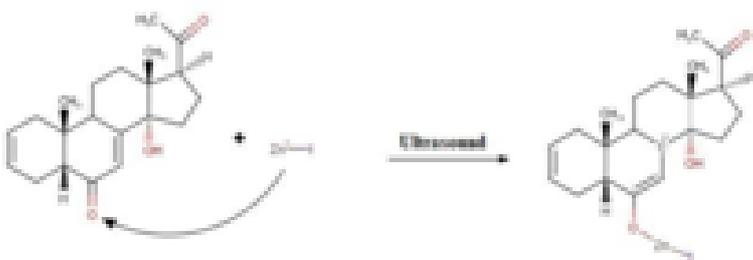
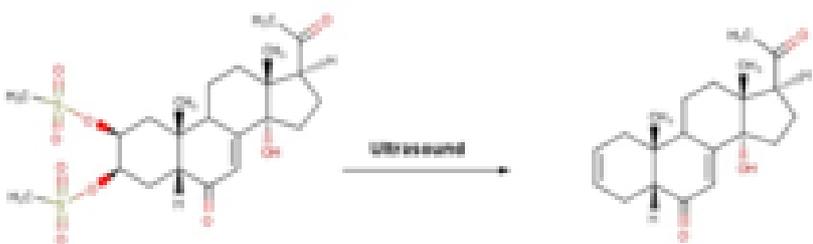
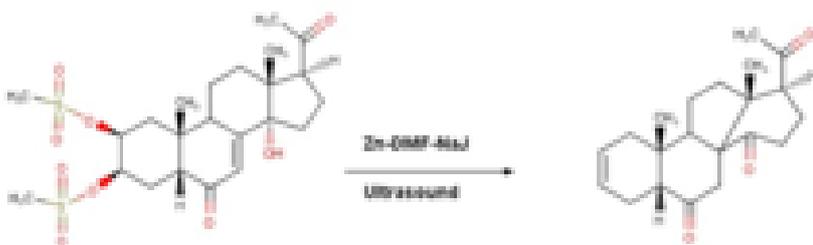


Рис.8. Взаимодействие исходного экистероида **3** с кислотой Льюиса

В соответствии с принципом жестких и мягких кислот и оснований ион галогенида цинка, как жесткая кислота, образует донорно-акцепторную связь с атомом кислорода карбонильной группы в шестом положении, как с жестким основанием. При взаимодействии с кислотой Льюиса прогнозируется смещение двойной и связи C7-C8 в положение C6-C7 с образованием положительного заряда на атоме C8.

В результате проведенных дополнительных квантово-химических экспериментов нами был установлен энергетический вклад ультразвука в процесс активации соединения **4** в размере 14,57 ккал/моль, что обеспечило образование карбокатиона **5**.

В молекуле **5** наблюдается сближение атомов C13 и C8 на расстояние 1.63 Å, обусловленное процессом разрыва сигма-связи C13-C14. Изменение значения торсионного угла C15-C16-C17-C20 до 65°58' свидетельствует о расширении циклопентанового кольца D. Образование циклогексанового фрагмента в конформации «ванна» свидетельствует о наличии Питчеровского (торсионного) напряжения в структуре образовавшегося карбокатиона **5** (Рис.9).

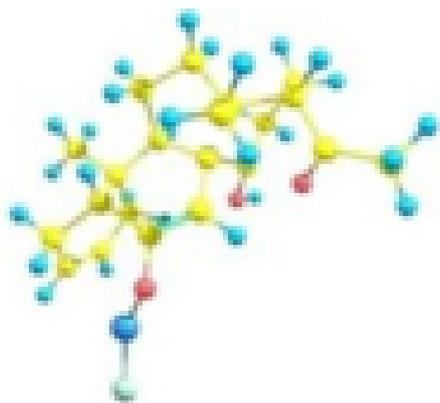


Рис.9. Трехмерная структура карбокатиона **5**.

Согласно теории семипинаколиновой перегруппировки для третичных аллильных спиртов, 1,2-миграция связи C13-C14, вызванная образованием карбокатиона **5**, приводит к получению устойчивого катиона **7** (Рис.10). На конечной стадии синтеза целевого *abeo*-экистероида происходит

отщепление протона от атома кислорода в положении C14 соединения **7** с последующим гидрированием ненасыщенной связи C6-C7 и образованием двух карбонильных групп в положениях C6 и C14. Предполагается, что энергетический барьер между соединениями **7** и **8** (Таблица 5) невелируется действием ультразвука (Рис.10).

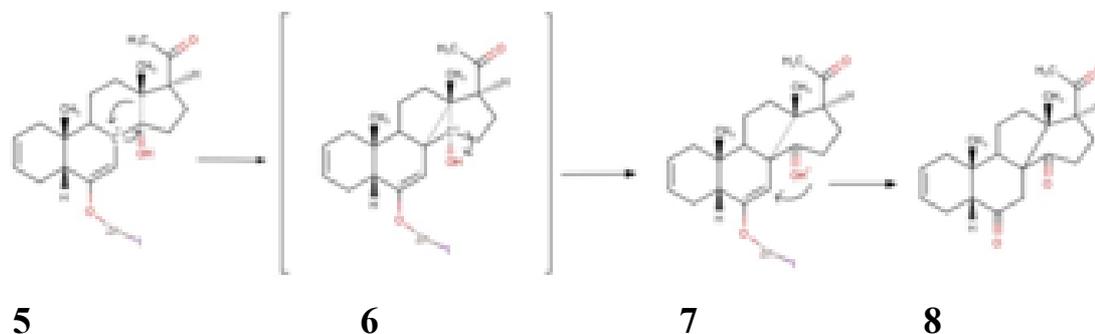
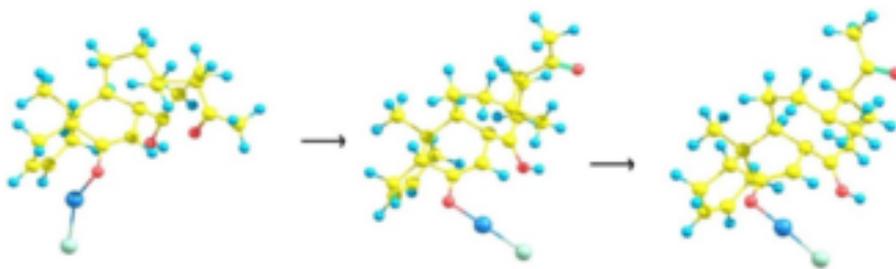


Рис.10. Предполагаемый механизм 1,2-миграции связи C13-C14 в комплексе 2,3-дидезокси- $\Delta^{2,3}$ -постстерона с галогенидом цинка

Структура катиона **7** была смоделирована на основании ретросинтетического анализа процесса получения продукта **8**. Для данного соединения по сравнению с интермедиатом **5** наблюдается менее напряженная форма кольца D, которая соответствует конформации «кресло». Однако, более высокое значение свободной энергии образования катиона **7**, обусловлено существенными вкладами торсионного напряжения кольца C (Таблица 5).

Поиск переходного состояния между соединениями **5** и **7** проводился с помощью метода QST2 последующей оптимизацией полученной структуры методом Берни (Рис.11.).



567

Рис.11 Результат поиска интермедиата методом квадратично-синхронного транзита (QST2) между соединениями **5** и **7**

Таблица 5. Значения свободной энергии Гиббса ΔG (ккал/моль), полученные для соединений **II** – **VI** с использованием программных обеспечений Gaussian и Priroda методом DFT B3LYP 6-31G(d) и PBE 3 ξ , соответственно

№	ΔG , ккал/моль Priroda	ΔG , ккал/моль Gaussian
4	-653500,78	-
5	-2058522,81	-2059166,29
6	-	-2059146,55; ZPE = 286,49
7	-	-2059154,74
8	-653503.58	-

При образовании неустойчивого карбокатиона **6** наблюдается конверсия конформации кольца D соединения **5** в твист-форму, которая отличается самым напряженным строением и является переходным состоянием между конформациями «ванна» и «кресло».

Продукт **8** по сравнению с 2,3-дидезокси- $\Delta^{2,3}$ -постстероном **4** демонстрирует более низкие значения свободной энергии Гиббса вследствие

меньшего напряжения *abeo*-структуры, которое обуславливается отсутствием двойной связи в кольце В (Таблица 5).

Таким образом, взаимодействие 2,3-дидезокси- $\Delta^{2,3}$ -постстерона с кислотой Льюиса проходит через стадии образования интермедиатов **5**, **6** и **7**. Реакция является разновидностью семипинаколиновой перегруппировки третичных аллильных спиртов и проводится в условиях наличия физических методов активации субстрата через стадию 1,2-миграции связи C13-C14, сопровождающейся сжатием/расширением циклов С и D, соответственно, и заканчивается образованием карбонильной группы в положении C14.

2.2. Взаимодействие экистероидов с кислотами Бренстода

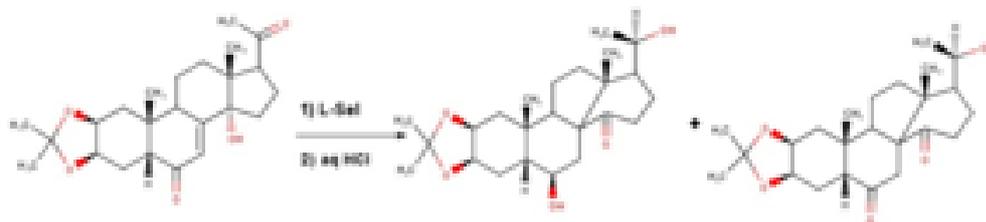
Процесс инициации 13(14 \rightarrow 8) *abeo*-перегруппировки кислотой Бренстода исследовался на примере реакции стереоселективного восстановления 20-кето-группы 2,3-ацетонида постстерона (Рис.12).

При обработке продукта взаимодействия 2,3-ацетонида постстерона **9** и L-selectride разбавленной кислотой HCl параллельно процессу восстановления енолят-иона в положении C-20 происходит активация связи C13-C14 с последующим формированием *abeo*-стероидного каркаса. Предполагается, что реакция отвечает механизму семипинаколиновой перегруппировки для третичных аллильных спиртов.

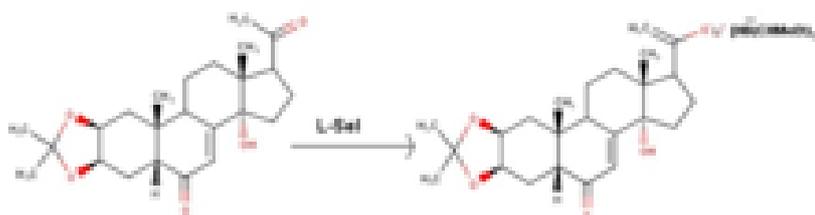
Атака электрофильного агента на 14-гидрокси-7-еноновый фрагмент молекулы **10** осуществляется в соответствии с правилом Марковникова и приводит к образованию энергетически выгодного карбокатиона **11** (Рис.12) (Таблица 6).

Появление положительного заряда, вицинально расположенного к стереогенному центру C14, инициирует процесс разрыва сигма-связи C13-C14, который выражается в пространственном сближении атомов C8 и C14 на расстояние 1.63 Å, а также в расширении кольца D. Образование незаконченного циклогексанового фрагмента в твист-конформации указывает на наличие в молекуле **11** торсионного и байеровского

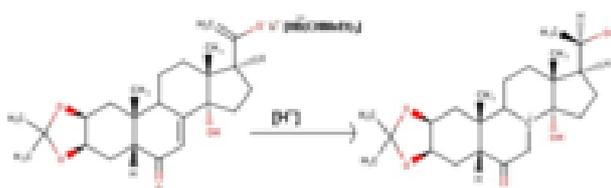
напряжений. Процесс 1,2-миграции связи C13-C14 заканчивается образованием устойчивого катиона **13с** последующим формированием карбонильной группы в положении C14 (Рис.13).



91415



910

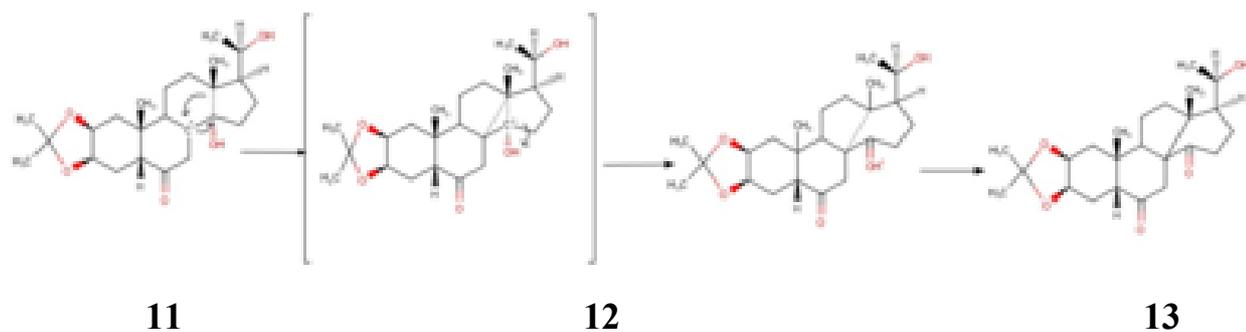


1011



1011

Рис.12. Реакция исходного экидестероида **9** с кислотой Бренстодапри селективном восстановлении кето-группы C20



15(14)

Рис.13. Предполагаемый механизм 1,2-миграции связи C13-C14 в структуре 2,3-ацетонида постстерона вследствие его взаимодействия с кислотой Бренстода

Структура соединения **13** смоделирована на основании ретросинтетического анализа заключительной стадии всей реакции – получении целевых продуктов **14** и **15**. Для данного катиона наблюдается наименее напряженная форма циклогексанового кольца D, которая соответствует конформации «кресло», что обуславливает более низкое, относительно молекулы **11**, значение свободной энергии Гиббса (Таблица 6).

Поиск переходного состояния между соединениями **11** и **13** проводился с помощью метода QST2 с последующей оптимизацией полученной структуры методом Берни (Рис.14)

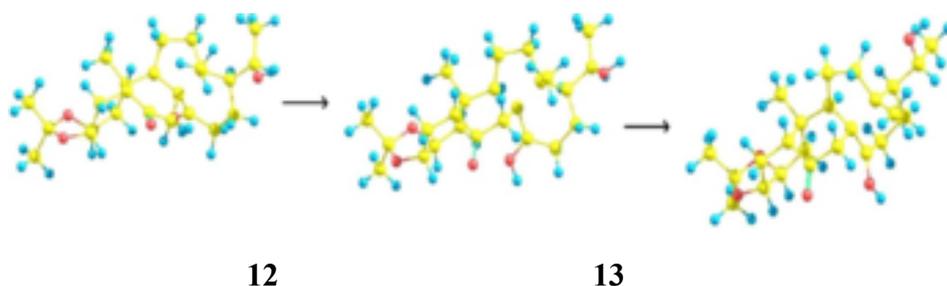


Рис.14. Результат поиска интермедиата методом квадратично-синхронного транзита (QST2) между соединениями **11** и **13**

При образовании неустойчивого карбокатиона **12** наблюдается переход в менее напряженную конформацию «кресло» (Рис.14), однако увеличение расстояния между атомами C8 и C9 до 1.62Å указывает на наличие байеровского напряжения

кольца С, что отражается в высоком значении энергии образования молекулы **12** относительно соединений **11** и **13** (Таблица 6).

Процесс гидрирования карбонильной группы кольца В соединения **13** после отщепления протона от атома кислорода в положении С14 (Рис.13) позволяет получить абео-экидистероид **14** (Рис.12) с наименее напряженной структурой по сравнению с дикетоном **15**, что подтверждается сопоставлением значений свободных энергий образования данных соединений (Таблица 6).

Таблица 6. Значения свободной энергии Гиббса ΔG (ккал/моль), полученные для соединений VII – XIII методом DFT B3LYP 6-31G(d)

№	ΔG , ккал/моль Gaussian
10	-822438.3682
11	-823 381.6488
12	-823374.4852; ZPE = 368.3146
13	-823390.4678
14	-823179.0335
15	-823911.4768

Взаимодействие 2,3-ацетонида постстерона с кислотой Бренстода проходит через стадии образования интермедиатов **11**, **12** и **13**.

Таким образом, изученная разновидность семипинаколиновой перегруппировки третичных аллильных спиртов и проводится в естественных условиях через стадию 1,2-миграции связи С13-С14,

сопровождающейся сжатием/расширением циклов С и D, соответственно, и заканчивается образованием карбонильной группы в положении С14.

3. Моделирование *insilico* новых производных природных экдистероидов с потенциально высокой агонистической активностью

С целью исследования моделирования *insilico* экдистероидов с высокой агонистической активностью была сформирована обучающая выборка из 40 соединений (16 – 55), 36 из них являются потенциально биологически активными (Рис.15).

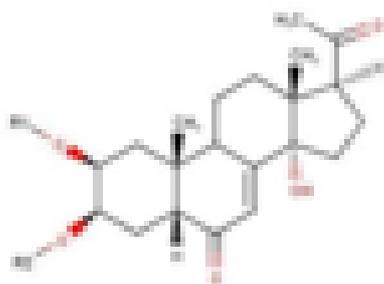
Ввиду активного участия гидроксильных групп в положениях 2 и 3 в процессе взаимодействия молекул полиоксистероидов с белком-мишенью⁵, нами была рассмотрена возможность повышения сродства к рецептору двух известных экдистероидов - постстерона и 20-гидроксиэкдизона - за счет модифицирования гидроксильных групп кольца А (Таблица 7).

Основная идея моделирования заключается в модифицировании 2,3-гидроксильных групп молекул экдистероидов путем образования простых эфирных связей с молекулами, содержащими электрон-донорные и электрон-акцепторные группы, позволит увеличить показатель сродства «рецептор-лиганд» и, следовательно, повысить реакционную способность полициклического соединения в отношении белка-мишени. В качестве электроотрицательных заместителей нами рассмотрены молекулы с терминальными карбоксильными группами.

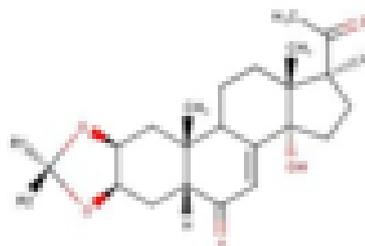
Понастерон А (16)

⁵Billas I. M. L., Iwema T., Garnier, J.-M., Mitschler A., Rochel N., Moras D. Structural adaptability in the ligand-binding pocket of the ecdysone hormone receptor // Nature, 2003, Vol. 426, pp. 91–96

Производные постстерона



(17-31)



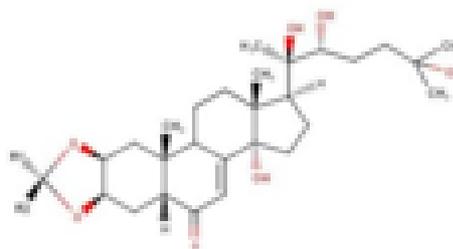
(32-38)

- | | |
|--|---|
| 17. R1 = R2 = H | 32. R1 = -CH ₃ R2 = -CH ₃ |
| 18. R1 = R2 = -CH ₂ COOH | 33. R1 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -H |
| 19. R1 = R2 = -CH ₂ CH ₂ COOH | 34. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -H |
| 20. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₂ COOH | 35. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ R2 = -H |
| 21. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₃ COOH | 36. R1 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ |
| 22. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₄ COOH | 37. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ |
| 23. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₅ COOH | 38. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ |
| 24. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₈ COOH | |
| 25. R1 = R2 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ | |
| 26. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ | |
| 27. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ | |
| 28. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₄ -C ₆ H ₅ | |
| 29. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₅ -C ₆ H ₅ | |
| 30. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₆ -C ₆ H ₅ | |
| 31. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₇ -C ₆ H ₅ | |

Производные 20-гидроксиэксдизона



(39-48)



(49-55)

- | | |
|--|---|
| 39. R1 = R2 = H | 49. R1 = -CH ₃ R2 = -CH ₃ |
| 40. R1 = R2 = -CH ₂ COOH | 50. R1 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -H |
| 41. R1 = R2 = -CH ₂ CH ₂ COOH | 51. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -H |
| 42. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₂ COOH | 52. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ R2 = -H |
| 43. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₃ COOH | 53. R1 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ |
| 44. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₄ COOH | 54. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ |
| 45. R1 = R2 = -CH ₂ (CH ₂) ₅ COOH | 55. R1 = -CH ₂ -(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ |
| 46. R1 = R2 = -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅ | |
| 47. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅ | |
| 48. R1 = R2 = -CH ₂ -(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ | |

Рис.15. Объекты исследования

Основная идея моделирования заключается в модифицировании 2,3-гидроксильных групп молекул экистероидов путем образования простых эфирных связей с молекулами, содержащими электрон-донорные и электрон-акцепторные группы, позволит увеличить показатель сродства «рецептор-лиганд» и, следовательно, повысить реакционную способность полициклического соединения в отношении белка-мишени. В качестве электроотрицательных заместителей нами рассмотрены молекулы с терминальными карбоксильными группами. Действительно, для гетеродимерного комплекса EcR/USP с производными постстерона, полученных при формировании простых эфирных групп в положениях 2 и 3 с молекулами различных карбоновых кислот (**8-24**), наблюдаются более высокие значения оценочной функции, чем для гетеродимерного комплекса EcR/USP с незамещенной молекулой постстерона**17**, выступающей в качестве низкомолекулярного лиганда (Таблица 7). Увеличение длины алкильной цепочки в гомологическом ряду карбоновых кислот до шести атомов углерода включительно (**18-22**) для каждого заместителя симбатно росту значений весовых коэффициентов неполярных и внутренних Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, что в совокупности с образованием дополнительных водородных связей и конформационной подвижности всей молекулы лиганда, приводит к образованию более устойчивого гетеродимерного комплекса с высокими значениями показателя сродства «рецептор-лиганд» (Таблица 7).

Для производных постстерона и жирных кислот (**23,24**), неразветвленная цепь которых состоит из более шести углеродных атомов, наблюдаются низкие значения оценочной функции вследствие значительных вкладов энергии внутренних Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий рецептор-лиганд. Карбоксильные группы эфирных фрагментов данных экистероидов активно взаимодействуют с аминокислотными остатками спиралей H7, H10 и H12, выходя за границы сайта-связывания рецептора EcR и демонстрируя тем

самым структурное несоответствие рассматриваемых лигандов и выбранной кристаллической структуры белка (1r1k).

Высокая активность бисацилгидразильных инсектицидов в отношении экдизонного рецептора EcR⁶ свидетельствует о склонности аминокислотных остатков сайта-связывания данного белка к взаимодействиям с ароматическими заместителями низкомолекулярных лигандов. В этой связи, бензольные кольца на концах эфирных фрагментов в положениях 2 и 3 молекул производных постстерона **25 - 31** были рассмотрены в качестве электрон-донорных функциональных групп.

Согласно результатам молекулярного докинга, соединения **25 – 27с** короткими алифатическими цепочками при атомах С-2 и С-3, по сравнению с 20-гидроксиэкдизоном **24**, в сайте связывания рецептора *HvEcR* образуют относительно небольшое количество водородных связей (от двух до четырех), однако демонстрируют более высокие значения оценочной функции, обусловленные существенными вкладами энергии неполярных взаимодействий в процесс формирования гетеродимерного комплекса.

Увеличение длины алкильных цепочек эфирных фрагментов, приводит к получению экдистероидных молекул **28 – 31** с дополнительными вкладами внутренних взаимодействий с белком-мишенью и, как следствие, с более низкими значениями оценочной функции, что обуславливается отсутствием требуемой стерической комплементарности между объемными лигандами и выбранным рецептором.

Для диоксолановых производных постстерона **32 - 35** с неразветвленной боковой цепью кольца А по сравнению с 20-гидроксиэкдизоном получены более высокие значения оценочной функции, что обуславливается наличием дополнительных вкладов неполярных взаимодействий между лигандом и рецептором. Данные молекулы активно взаимодействуют с

⁶Billas I.M.L., Browning C., Lawrence M.C., Graham L.D., Moras D., Hill R.J. The Structure and Function of Ecdysone Receptors // In: Smagghe G. (eds) Ecdysone: Structures and Functions. Springer, Dordrecht, 2009

аминокислотными остатками спиралей Н3 и Н12, ориентируя боковую цепь С20 по направлению к β -листу между спиральями Н5 и Н6.

Соединения **36-38** с разветвленной боковой цепью кольца А, включающей в свой состав две ароматические группы, также проявляют сродство в отношении белка-мишени. Однако, по сравнению с 20-гидроксиэкдизоном рассматриваемые экдистероиды демонстрируют более низкие значения оценочной функции, ввиду ограниченной конформационной подвижности в сайте-связывания белка, вызванной относительно большими объемами полициклических молекул.

Диоксолановые производные 20-гидроксиэкдизона с ароматическими функциональными группами в составе боковой цепи кольца А **50 – 52**, по аналогии с соответствующими производными постстерона, демонстрируют высокие значения показателя сродства «рецептор-лиганд», что объясняется большими вкладами неполярных взаимодействий. При этом, для соединений **53-65** с разветвленной алифатической цепью, входящей в состав диоксоланового фрагмента, по сравнению с экдистероидами **50 – 52** характерны более низкие значения оценочных функций, ввиду стерических факторов, обусловленных размерами данных экдистероидов. Ароматические фрагменты рассматриваемых молекул взаимодействуют с аминокислотными остатками спиралей Н7, Н12, Н10.

Таблица 7. Значения оценочной функции СНЕМPLP для соединений 1-40 и значения энергетических вкладов, ответственных за формирование комплекса рецептор-лиганд.

№	PLP fitness	PLP.Che. Hbond	PLP.Che. Int. Cor.	PLP.Che. Prot.En.	PLP.PLP	PLP.S. Bar	PLP.lig clash	PLP.ligand tors	PLP.part. buried	PLP.part. hbond	PLP.part. nonpolar	PLP.part. Repulsiv
16	105.6563	7.3920	0.9549	1.3663	-91.3361	6.0000	0.000	0.7222	-6.3156	-13.8596	-73.9855	0.0070
17	82.5579	6.7600	0.0058	0.0000	-68.2782	6.0000	0.000	0.0030	-5.2371	-12.1447	-53.1453	0.1861
18	85.1199	5.9440	0.3118	1.3531	-75.5522	6.0000	0.000	0.6116	-3.9926	-9.0485	-65.9170	2.4749
9	89.2422	6.5073	0.9423	0.000	-77.2047	6.0000	0.000	1.2132	1.5344	-10.6153	-70.5067	0.3670
20	89.2035	5.5936	1.2257	1.0753	-82.9289	6.0000	0.0236	2.3165	6.1955	-10.0701	-80.8038	0.2753
21	88.4539	4.8960	1.4651	1.0545	-86.2275	6.0000	1.5511	2.6605	6.4761	-12.2688	-81.4086	0.3546
22	94.3520	5.000	2.1178	1.3663	-86.9096	6.0000	0.000	1.1545	14.1488	-8.9908	-95.2396	2.2035
23	83.3628	4.8761	2.2991	3.3618	-78.5230	6.0000	0.1040	1.3108	21.8408	-8.4953	-99.0040	3.3191
24	59.8740	4.4593	2.7321	0.000	-58.4298	6.0000	5.7222	1.4717	37.0369	-8.1532	-100.4376	11.3162
25	100.1977	4.7363	0.7749	1.0545	-100.4558	6.0000	4.8828	1.6523	9.4217	-8.0462	-102.1254	0.2442
26	98.4441	3.8746	2.0990	1.3026	-94.9032	6.0000	0.0140	1.4327	10.8124	-8.5611	-107.2337	7.0314
27	91.1145	3.0729	1.8568	1.3585	-91.2778	6.0000	0.1530	1.8637	11.4306	-7.8428	-99.3001	3.4060
28	76.2612	4.5473	2.2539	2.5388	-82.0719	6.0000	9.5495	1.8091	21.8354	-8.3751	-105.5196	6.9677
29	79.2546	3.9152	1.6609	1.0687	-76.5258	6.0000	0.0000	1.8045	-2.6415	-7.0485	-66.2023	0.1066
30	68.8474	3.0000	1.8044	0.000	-66.9517	6.0000	0.0000	1.4543	-3.4664	-5.0485	-57.9658	0.1571
31	76.7871	3.9673	2.0021	0.000	-73.7838	6.0000	0.000	2.4503	-8.0789	-6.0485	-61.7227	0.7315
32	77.5466	5.0000	0.0057	1.0577	-69.7281	6.0000	0.0000	0.0647	4.1569	-7.7835	-67.5974	0.0517
33	102.2298	4.0000	0.0437	0.0000	-98.6823	6.0000	0.0000	1.2481	-3.0337	-6.0485	-91.0338	0.2568
34	101.3090	5.2290	0.0783	0.0000	-94.5234	6.0000	0.0000	1.4898	-0.5383	-7.0485	-90.1897	0.2184
35	96.3722	4.6739	0.1348	0.0000	-91.0969	6.0000	0.0000	1.4406	0.7685	-6.6847	-93.5487	3.9258
36	90.8226	3.8160	0.3250	1.3659	-90.6642	6.0000	0.0000	2.1243	7.1316	-7.9208	-94.1918	3.2894
37	93.6925	3.8073	0.4442	1.3671	-91.7311	6.0000	0.2692	1.1341	3.0129	-8.0628	-91.0387	3.4582
38	94.1978	3.1340	0.9263	0.0000	-96.6900	6.0000	0.0068	3.4068	13.8134	-7.5819	-105.7527	0.3495
39	95.6588	8.9336	1.1414	1.3045	-83.7015	6.0000	3.0625	2.8088	-2.4336	-13.4667	-69.6865	0.1483
40	87.4007	4.0000	3.5088	1.3554	-86.4918	6.0000	1.8802	2.6822	10.4245	-9.8280	-87.8130	0.2763
41	88.4121	5.5924	7.9558	0.0000	-87.3601	6.0000	12.4342	2.6234	-1.1481	-13.4054	-78.2066	1.9326
42	92.7550	4.5223	5.7625	0.0000	-87.4955	6.0000	2.7595	2.6551	9.3262	-8.6811	-96.9241	7.9305
43	83.7557	4.6334	3.4550	1.0056	-98.4068	6.0000	15.6867	4.6569	16.4893	-15.7959	-100.7749	0.1767
44	71.3092	4.9120	9.4689	1.1238	-78.2296	6.0000	16.2634	3.8691	22.5522	-11.3997	-99.1297	4.3410
45	64.6437	3.7760	7.6237	1.0575	-69.6875	6.0000	8.2897	4.3242	40.4100	-7.2274	-107.9460	1.2441
46	94.7200	4.5153	5.5672	0.0000	-90.3794	6.0000	2.3858	3.1932	36.5525	-10.5122	-127.4040	4.6418
47	75.2689	3.4513	5.9130	1.0545	-80.7117	6.0000	7.2975	3.6788	36.7456	-7.4869	-115.3569	0.1177
48	66.6999	5.3418	5.9368	0.0000	-80.6887	6.0000	20.2025	4.8752	25.1227	-10.6353	-100.5298	0.1293
49	81.3607	4.3048	1.4817	0.0000	-79.6494	6.0000	2.2027	2.2409	-1.5416	-9.0374	-75.5701	5.3879
50	97.7599	5.0139	4.4029	1.3589	-93.4549	6.0000	2.0415	2.8696	4.3219	-9.8009	-91.6264	1.7023
51	105.5675	4.8160	5.0623	0.0000	-108.5643	6.0000	14.1940	1.1566	0.8266	-8.5031	-102.4277	0.1714
52	102.3640	6.3039	3.2846	5.4424	-99.0986	6.0000	1.4460	3.0213	15.8386	-11.2971	-108.7717	0.1781
53	89.3730	6.7583	3.5500	0.0000	-85.1901	6.0000	5.9445	3.8487	24.0771	-12.2187	-99.0040	0.2127
54	104.1062	5.1673	6.2226	0.0000	-98.2586	6.0000	5.3050	2.2859	17.2942	-9.0577	-109.1158	0.2219
55	69.3897	5.9675	5.2238	0.0000	-86.0103	6.0000	22.9367	5.4050	17.6681	-9.1821	-95.9519	1.2992

Таким образом, результаты молекулярного моделирования средства низкомолекулярных полициклических соединений к эрдистероидному рецептору показывают, что модифицирование гидроксильных групп в положениях С-2 и С-3 природных и полусинтетических эрдистероидов с помощью электрон-донорных и электрон-акцепторных заместителей является потенциальным методом получения новых соединений с высокой биологической активностью. 2,3-Диоксолановые производные постстерона и 20-гидроксиэрдизона с неразветвленной боковой цепью кольца А,

включающей в свой состав не более четырех атомов углерода, с терминальным фенильным фрагментом демонстрируют высокие значения оценочной функции и могут быть предложены для синтеза как потенциально активные экистероиды. Образование простых эфирных связей в положениях С-2 и С-3 молекулы постстерона с этилбензолом, пропилбензолом и бутилбензолом позволяет получить соединения, потенциально превосходящие 20-гидроксиэкизон по активности в отношении экистероидного рецептора и представляющие тем самым интерес с точки зрения экспериментальных исследований *invitro* и *invivo*.

ВЫВОДЫ

1. Установлены энергетически выгодные конфигурационные изомеры С-20 (20R/S)-2 β ,3 β -тригидрокси-7 α -метил-5 β -прегн-8(14)-ен-6-она, (20R/S)-амино-2,3-диацетокси-14 α -гидрокси-5 β -прегн-7-ен-6-она и 2 β ,3 β -изопропилиденокси-(20R/S)-гидрокси-5 β -холест-7(8)-ен-6-она. Определены термодинамически выгодные пути образования 20-гидрокси- и 20-аминопроизводных постстерона;
2. Установлен семипинаколиновый механизм 13(14 \rightarrow 8) перегруппировки в молекулах производных постстерона с образованием соединений *cabeo*-стероидным каркасом;
3. На основании результатов молекулярного моделирования комплекса «рецептор-лиганд» предложен ряд новых диоксолановых производных постстерона и 20-гидроксиэкизона с высоким показателем сродства к рецептору EcR относительно 20-гидроксиэкизона.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

Статьи:

1. Galyautdinov I.V., Khairullina Z.R., Zaripova E.R., Sametov V.P., Mescheryakova E.S., Muslimov Z.S., Mozgovoii O.S., Khalilov L.M., Odinokov V.N. Stereospecific 7 α -alkylation of 20-

- hydroxyecdysoneinalithium-ammoniasolution // *Steroids*, 2015, 98: 122-125;
2. И.В. Галяутдинов, З.Р. Хайруллина, О.С. Мозговой, Л.М. Халилов, З.С. Муслимов, В.Н. Одинок. С- и О-Алкилирование экдистероидов в литий-аммиачном растворе // *ЖОрХ*, 2015, т. 51, № 11, 1662-1670;
 3. И.В. Галяутдинов, З.Р. Хайруллина, О.С. Мозговой, Л.М. Халилов, З.С. Муслимов, В.Н. Одинок. С- и О-Алкилирование экдистероидов в литий-аммиачном растворе // *ЖОрХ*, 2015, т. 51, № 11, 1662-1670;
 4. И.В. Галяутдинов, З.Р. Садретдинова, О.С. Мозговой, Г.Г. Гибадуллина, Л.М. Халилов, З.С. Муслимов, В.Н. Одинок. 7 α -Алкилирование, 7,7-бисалкилирование и восстановление 20-кетогруппы постстерона при взаимодействии с галогеналканами в литий-аммиачном растворе // *ЖОрХ*, 2017, т.53, №1;
 5. R.G. Savchenko, A.V. Apaeva, S. A. Kostyleva, O. S.Mozgovej, V. N. Odinokov, L. V. Parfenova Sonochemically assisted 2,3- dideoxygenation and skeletal rearrangement of ecdysteroid derivatives // *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018;
 6. R.G. Savchenko, S. A. Kostyleva, A.V. Apaeva, O. S. Mozgovej, A. L. Sauchukb, V. N. Zhabinskib, E. S. Mesheryakova, L. V. Parfenovaa, V. N. Odinokov. Molecular Rearrangements of Poststerone Derivative Steroid Core with Formation of Unique D-homostructures of Pregnane and Androstane Series // *Steroids*, 2019, pp. 28-35.

Монография:

Одинок В.Н., Велькина Н.А., Галяутдинов И.В., Савченко Р.Г., Мозговой О.С., Халилов Л.М. Синтез экдистероидов и их аналогов на основании трансформации 20-гидроксиэкдизона // моногр. , Уфа // Гилем, 2016;

