

УДК 54.022:577.175.1

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ  
РЯДА СИНТЕТИЧЕСКИХ И ПРИРОДНЫХ БРАССИНОСТЕРОИДОВ  
В СВЯЗИ С ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

© 2011 В.М. Андрианов\*

*Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Минск**Статья поступила 26 июля 2010 г.*

В приближении метода молекулярной механики и квантово-химического метода PM3 проведен конформационный анализ боковой цепи пяти представителей стероидных фитогормонов: синтетических (22S,23S)-(эпи- и гомобрассинолидов) и природных — брассинолид, 24-эпibrассинолид. Показано, что 22R,23R-диольная структура в стероидной боковой цепи способствует повышению ее гибкости по сравнению с 22S,23S-конфигурацией. Это приводит к высокой вероятности реализации в растворе природных брассиностероидов двух конформеров, в одном из которых гидроксил вместо образования внутримолекулярной водородной связи в пределах диольной системы боковой цепи способен образовывать межмолекулярную водородную связь, что важно для взаимодействий гормон—рецептор.

**Ключевые слова:** брассиностероиды, брассинолиды, конформеры, биологическая активность, конформационный анализ, боковая цепь, водородная связь.

Брассиностероиды (БС) представляют собой новый уникальный класс растительных гормонов, структурно родственных к стероидным гормонам животных и насекомых. Они являются регуляторами роста растений, влияют на активность системы путей метаболизма, способствуют регулированию деления клетки, стимулируют вегетативный рост и прорастание семян, взаимодействуют на эндогенном уровне с другими гормонами, регулируют экспрессию генов и обладают антистрессовой активностью [1]. Важнейшими представителями этого класса соединений являются брассинолиды и кастастероны. Для брассинолида характерно наличие в стероидном скелете семичленного цикла, в который входят карбонильная группа C=O и эфирная связь C—O—C, в то время как для кастастерона — шестичленного цикла с карбонильной группой. В настоящее время выделено из растений и синтезировано более 50 аналогов этих соединений, обладающих различной биологической активностью. Изучение взаимосвязи структура—активность брассиностероидов выявило ряд специфических структурных характеристик, необходимых для их высокой биологической активности. Это — наличие смежных гидроксильных групп в цикле A у C<sub>2α</sub> и C<sub>3α</sub>, *транс*-сочленение циклов A/B, присутствие 6-кето- или 7-окса-6-кето-группы в цикле B, существование диольной системы в положениях 22 и 23 с конфигурацией RR или SS и наличие метильной или этильной группы в положении 24 боковой цепи [2]. Для выявления механизмов проявления высокой биологической активности и объяснения ее взаимосвязи со структурными особенностями брассиностероидов в ряде работ использовались методы QSAR [3–5] и AM1 [6], где показана важная роль атомов кислорода, в частности, и боковой цепи, в их биологической активности и, следовательно, их пространственная ориентация.

---

\* E-mail: v.andrianov@dragon.bas-net.by

Высокая биологическая активность, в частности, связана с 22R,23R-диолевой структурой в стероидной боковой цепи. Синтетические аналоги с 22S,23S-гидроксилами намного менее активны [7]. В то же время в природной 22R,23R-конфигурации БС соединения с 24S-метил- или этилгруппой показывают большую биоактивность, чем соответствующие гормоны с 24R-алкил функцией [8], отражая значимость стереохимии также и у этого асимметрического центра. Выяснение путей возможного воздействия БС на ферментные системы млекопитающих на примере двух природных соединений — 28-гомобрассинолида и 24-эпибрассинолида и их синтетических (22S,23S-дигидрокси)-стереоизомеров показало [9], что степень такого влияния зависит от структуры боковой цепи и тем самым предполагает возможность направленной модификации природных соединений с целью достижения необходимых физиологических эффектов. Действительно, наличие объемной боковой цепи с длинной цепочкой связей С—С в структуре БС предполагает большие возможности для конформационных переходов в пределах этой цепи путем вращения вокруг этих связей при переходе из кристаллического состояния в раствор. В связи с этим актуален вопрос о связи биоактивности БС со структурой и конформационным поведением в растворе их боковой цепи.

Цель работы заключалась в определении возможных конформаций объемной боковой цепи в биологически активных синтетических и природных брассинолидах методами теоретического конформационного анализа и анализа имеющихся данных рентгеноструктурного анализа (РСА).

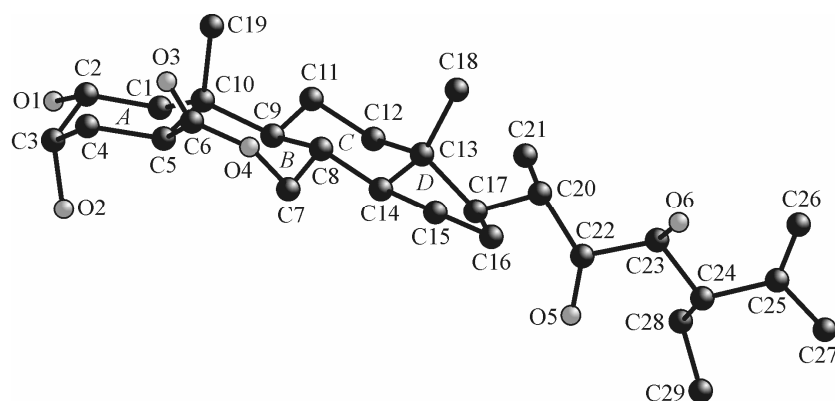
#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов исследования выбраны пять представителей стероидных фитогормонов: синтетические (22S,23S)-24-эпибрассинолид (1), (22S,23S)-28-гомобрассинолид (2) и природные — 24-эпибрассинолид (3), брассинолид (4). Они имеют идентичный остов, состоящий из двух шестичленных (A, C), семичленного (B) и пятичленного (D) циклов, и объемную боковую цепь, которая различается как конфигурацией диольной системы в положениях 22 и 23 боковой цепи (SS, RR), так и природой заместителя (метильный и этильный) в положении 24 (эпи-, гомо-). Кроме того, два природных стереоизомера — 24-эпибрассинолид и брассинолид — имеют различную конфигурацию метильной группы в положении 24 (24R- (3) и 24S- (4) конфигурация) (рис. 1).

Конформационный анализ боковой цепи проведен в приближении метода молекулярной механики (ММ) и квантово-химического метода РМЗ с использованием известных из литературы данных РСА [10—13] (табл. 1). На первом этапе при нахождении локальных минимумов в исследуемых молекулах в рамках метода ММ применялся метод расчета строения переходного состояния в декартовом пространстве, предложенный Вайбергом и Бойдом [14]. Он состоит в принудительном проведении торсионного угла через диапазон определенных величин путем изменения силового поля в ходе минимизации энергии добавлением очень сильного торсионного потенциала (большая константа  $U^1$ ) с минимумом при желаемом торсионном угле  $\varphi^1$ :

$$U = U^1/2 \cdot [1 + \cos 3(\varphi - \varphi^1)].$$

Рис. 1. Молекулярная структура (22S,23S)-28-гомобрассинолида, построенная по данным РСА (атомы водорода не показаны)



Т а б л и ц а 1

Двугранные углы и конформации групп атомов у соответствующих связей С—С боковой цепи ряда brassinosteroidов по данным PCA

| Связь   | Двугранный угол, град. | I [ 10 ]        | II [ 11 ]       | III [ 12 ]      | IV [ 13 ]     |
|---------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|
| C17—C20 | C16C17C20C22           | 57( $g^+$ )     | 69( $g^+$ )     | 71( $g^+$ )     | 53( $g^+$ )   |
|         | C16C17C20C21           | -179( $t$ )     | -168( $t$ )     | -169( $t$ )     | 178( $t$ )    |
| C20—C22 | C17C20C22C23           | -162( $t$ )     | -146( $g_1^-$ ) | -146( $g_1^-$ ) | -176( $t$ )   |
|         | C17C20C22O5            | 74( $g^+$ )     | -21( $c$ )      | -24( $c$ )      | 61( $g^+$ )   |
| C22—C23 | C20C22C23C24           | 96( $g^+$ )     | -178( $t$ )     | -175( $t$ )     | 53( $g^+$ )   |
|         | O5C22C23C24            | -142( $g_1^-$ ) | 55( $g^+$ )     | 61( $g^+$ )     | 174( $t$ )    |
|         | C20C22C23O6            | -141( $g_1^-$ ) | 63( $g^+$ )     | 62( $g^+$ )     | 175( $t$ )    |
|         | O5C22C23O6             | -19( $c$ )      | -65( $g^-$ )    | -62( $g^-$ )    | -64( $g^-$ )  |
| C23—C24 | C22C23C24C25           | 68( $g^+$ )     | 56( $g^+$ )     | -175( $t$ )     | -171( $t$ )   |
|         | C22C23C24C28           | -162( $t$ )     | -178( $t$ )     | 56( $g^+$ )     | 61( $g^+$ )   |
|         | O6C23C24C25            | -55( $g^-$ )    | 177( $t$ )      | -53( $g^-$ )    | 69( $g^+$ )   |
|         | O6C23C24C28            | 75( $g^+$ )     | -57( $g^-$ )    | 178( $t$ )      | -59( $g^-$ )  |
| C24—C25 | C23C24C25C26           | -148( $g_1^-$ ) | 68( $g^+$ )     | -70 ( $g^-$ )   | -170( $t$ )   |
|         | C28C24C25C26           | 84( $g^+$ )     | -56( $g^-$ )    | 57( $g^+$ )     | -43 ( $g^-$ ) |
|         | C23C24C25C27           | 87( $g^+$ )     | -169( $t$ )     | 157( $t$ )      | 70( $g^+$ )   |
|         | C28C24C25C27           | -41( $g^-$ )    | 67( $g^+$ )     | -75( $g^-$ )    | -163( $t$ )   |
| C24—C28 | C23C24C28C29           | —               | —               | -159( $t$ )     | —             |
|         | C25C24C28C29           | —               | —               | 74( $g^+$ )     | —             |

Примечание. I — 24-эпибрасинолид, моногидрат (22R, 23R, 24R) —  $g^+ t g^+ g^+ g_1^- g^+$ ; II — 24-эпибрасинолид (22S, 23S) —  $g^+ g_1^- t g^+ g^+ t$ ; III — 28-гомобрасинолид (22S, 23S) —  $g^+ g_1^- t t g^- t t g^+$ ; IV — брасинолид, моногидрат (22R, 23R, 24S) —  $g^+ t g^+ t t g^+$ .

$g^+$  — *gauche*(+),  $g^-$  и ( $g_1^-$ ) — *gauche*(-),  $t$  — *транс*,  $c$  — *цис*-конформации; для обозначения конформации (из шести букв для эпи-) всей цепи использовались данные табл. 1 — из первой строки каждой связи (для связи C24—C25 — первая и третья строки).

Минимизация энергии, использующая такое силовое поле, дает геометрию с торсионным углом при выбранной величине  $\phi^1$  и всеми другими координатами, проварьированными как обычно. Затем сильный потенциал  $U^1$  удаляется, и энергия вычисляется с первоначальным силовым полем. Таким образом, получается потенциальная энергия для модели молекулы с фиксированной величиной  $\phi^1$ .

Такое принудительное вращение групп атомов использовалось последовательно вокруг связей С—С, образующих боковую цепь: C20—C22, C22—C23, C23—C24, C24—C25 (для молекул SS- и RR-гомобрасинолида дополнительно C24—C28) (см. рис. 1). В результате такого расчета для каждой исследуемой молекулы получено около двадцати локальных минимумов. Затем структуру молекулы (каждый локальный минимум) уточняли в приближении квантово-химического метода PM3 и согласно энергетическому критерию отбирали для проведения сравнительного анализа.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 приведены структурные параметры боковой цепи исследуемых молекул в кристаллическом состоянии, полученные методом PCA [ 10—13 ]. Анализ этой таблицы показывает, что, несмотря на идентичное или близкое химическое строение боковой цепи в исследуемых

БС, наблюдается существенное расхождение в них ее структуры. Поскольку приведенные соединения обладают различной биологической активностью, естественно предположить, что при идентичном остове всех исследуемых соединений такие различия в биологической активности могут быть связаны с особенностями структуры боковой цепи. В водном растворе, где нарушается ближний порядок, характерный для кристаллического состояния, следует ожидать и структурных изменений боковой цепи.

Проведенный теоретический конформационный анализ пяти биологически активных брасиностероидов показал, что в случае квазиизолированной молекулы имеется расхождение как в количестве конформеров, находящихся в энергетическом зазоре  $\sim 1,6$  ккал/моль, так и в конформациях боковой цепи (табл. 2, рис. 2).

Анализ табл. 2 показывает, что в соединениях 1, 2 и 3—5, имеющих разную конфигурацию диольной системы в положениях 22 и 23 боковой цепи (синтетические и природные брасинолиды), количество конформеров, относительная разность энергий которых не превышает 0,5 ккал/моль, различно. Согласно этому энергетическому критерию вероятность реализации в растворе двух конформеров природных брасинолидов 3—5, в отличие от синтетических 1, 2,

Т а б л и ц а 2

Конформации боковой цепи, расстояния O...H(O) в пределах диольной системы боковой цепи (Å), относительные энергии напряжения конформеров  $\Delta U$  (ккал/моль, РМЗ), полученные методом ММ и РМЗ для пяти исследуемых молекул, а также из данных РСА (кристалл)

| № | Молекула                                 | Конформер | $\Delta U$ | Конформация боковой цепи*                   | R(O5...HO6) | R(O6...HO5) |
|---|--|-----------|------------|---|-------------|-------------|
| 1 | (22S,23S)-24-<br>Эпибрасинолид<br>(24S)  | Кристалл  | —          | $g^+ g_1^- t g^+ g^+ t$                     | 3,742       | 3,718       |
|   |  | ebS 1     | 0          | $g^+ g^+ g_1^- t g^- t$                     | 2,555       | 2,644       |
|   |  | ebS 2     | 1,510      | $g^+ g_2^- g^- g^- g^- t$                   |             |             |
| 2 | (22S,23S)-28-<br>Гомобрасинолид<br>(24S) | Кристалл  | —          | $g^+ g_1^- t t g^- t t g^+$                 | 3,692       | 3,099       |
|   |  | gbS 1     | 0          | $g^+ g^+ g_1^- g^+ g^+ t g^- t$             | 2,534       | 2,595       |
|   |  | gbS 2     | 1,603      | $g^+ g^+ g_1^- g^+ g_1^+ g_2^- g_1^- g^+$   |             |             |
| 3 | 24-Эпибрасинолид<br>(24R)                | Кристалл  | —          | $g^+ t g^+ g^+ g_1^- g^+$                   | 2,235       | 2,622       |
|   |  | ebRRR 1   | 0          | $g^+ t g^+ g^+ g^+ t$                       | 2,915       | 2,697       |
|   |  | ebRRR 2   | 0,497      | $g^+ g^+ g_2^+ g^+ g^+ t$                   | 2,633       | 2,604       |
|   |  | ebRRR 3   | 1,503      | $g^+ g^+ g_1^+ g^- t g^-$                   |             |             |
| 4 | Брасинолид<br>(24S)                      | Кристалл  | —          | $g^+ t g^+ t t g^+$                         | 3,677       | 2,405       |
|   |  | ebRRS 1   | 0          | $g^+ g^+ g_2^+ t t g^+$                     | 2,698       | 2,620       |
|   |  | ebRRS 2   | 0,481      | $g^+ g_1^- g_2^+ g^+ t g^+$                 | 2,538       | 2,724       |
|   |  | ebRRS 3   | 1,168      | $g^+ g_1^- g_2^+ g^+ g_1^+ g_2^-$           | 2,672       | 2,545       |
|   |  | ebRRS 4   | 1,538      | $g^+ t g_1^+ t t g^+$                       |             |             |
| 5 | (22R,23R)-28-<br>Гомобрасинолид<br>(24S) | —         | —          | —   |             |             |
|   |  | gbR 1     | 0          | $g^+ g_1^- g_2^+ g^+ g_1^+ g_2^- g_1^- g^+$ | 2,629       | 2,695       |
|   |  | gbR 2     | 0,382      | $g^+ t g^+ t t g^- g_1^- g^+$               | 2,833       | 2,727       |
|   |  | gbR 3     | 1,422      | $g^+ g^+ g_1^+ g^- t g^- g_1^- g_2^+$       |             |             |

\*  $g^+$ ,  $g_1^+$ ,  $g_2^+$  — *gauche*(+),  $g^-$ ,  $(g_1^-)$ ,  $g_2^-$  — *gauche*(-),  $t$  — *транс*-конформации; буквенные обозначения конформации всей цепи соответствуют последовательности двугранных углов — C16C17C20C22, C17C20C22C23, C20C22C23C24, C22C23C24C25, C23C24C25C26, C23C24C25C27 (эпи-) плюс C23C24C28C29 и C25C24C28C29 (гомо-).

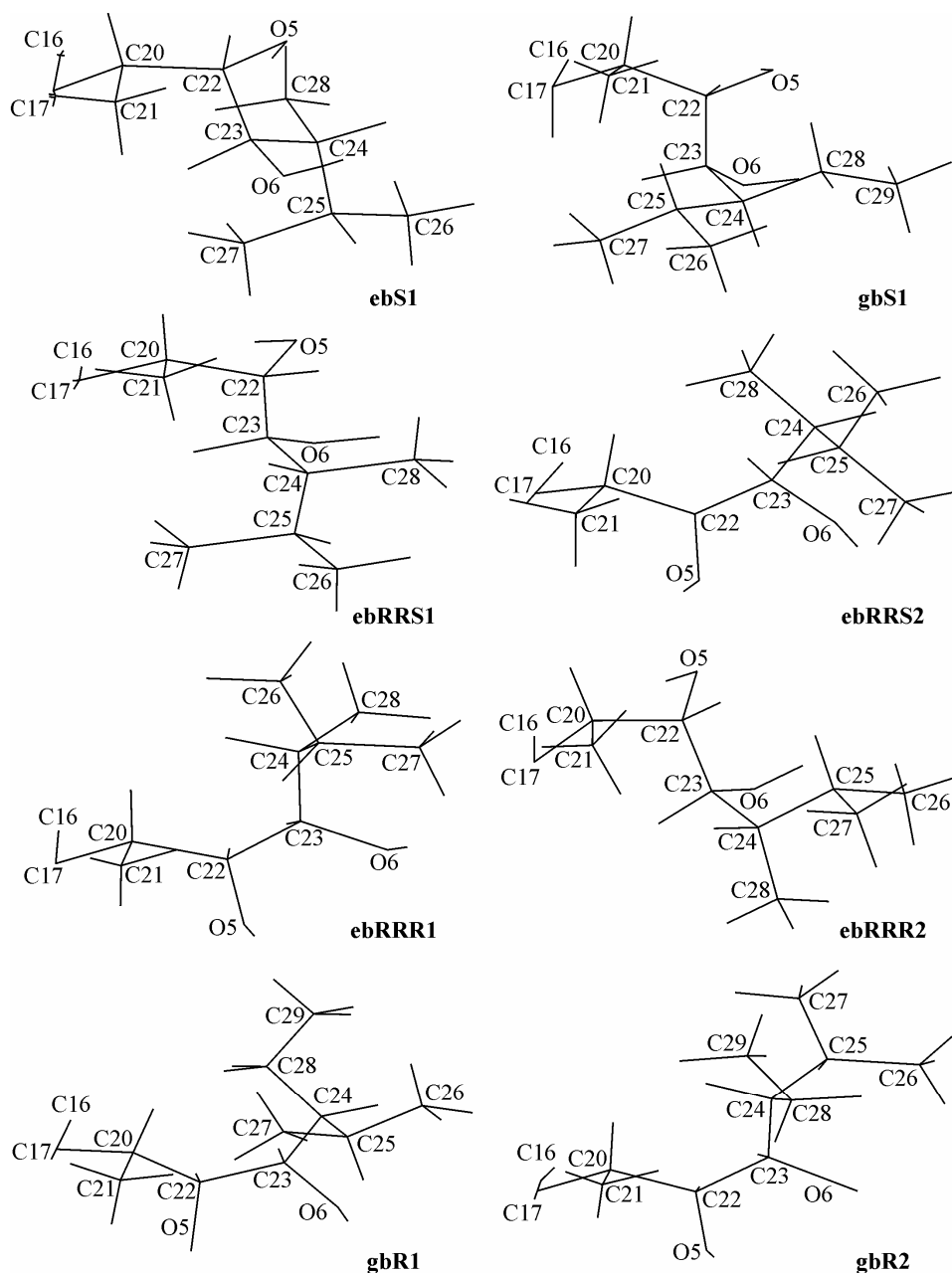


Рис. 2. Конформеры (боковая цепь) исследуемых брассинолидов

достаточно высока. Анализ расстояний  $O \dots H(O)$  в пределах диольной системы боковой цепи показывает, что в синтетических брассинолидах возможно образование внутримолекулярных водородных связей (ВВС)  $O5 \dots HO6$  и  $O6 \dots HO5$ , в то время как в ряде конформеров природных брассинолидов такие связи не образуются. Так, в конформере *ebRRR1* природного эпибрассинолида (3), исходя из геометрического критерия, ВВС  $O5 \dots HO6$  не образуется. По той же причине в конформере *ebRRS2* природного стереоизомера эпибрассинолида (4) не образуется ВВС  $O6 \dots HO5$ . В конформере *gbR2* природного гомобрассинолида (5) практически исключено образование обеих ВВС.

Таким образом, отсутствие ВВС в пределах диольной системы боковой цепи природных БС дает возможность гидроксилам этой диольной системы образовывать межмолекулярные водородные связи, что важно для предполагаемых взаимодействий гормон—рецептор. Биоло-

гическая активность природных brassинолидов значительно выше синтетических, что согласуется с таким предположением.

Замена метильной группы на этильную в положении 24 при переходе от эпи- к гомобра- синоидам приводит к конформационным изменениям боковой цепи. В синтетических молеку- лах с SS-конфигурацией такой переход приводит к конформационным различиям групп атомов относительно связей C23—C24 и C24—C25 боковой цепи, находящихся в непосредственной близости к месту замещения. В природных brassинолидах с RR-конфигурацией такое замеще- ние приводит к более существенным изменениям в структуре боковой цепи.

Сравнение структуры боковой цепи в стереоизомерах природных эпибрасинолидов пока- зывает, что S-конфигурация метила в положении 24 способствует увеличению гибкости этой цепи по сравнению с R-конфигурацией и приводит к изменению ее конформации (см. табл. 2 и рис. 2). Тем не менее, в обоих природных изомерах эпибрасинолидов боковая цепь принимает такие конформации, которые позволяют гидроксилам диольной системы быть свободными для образования межмолекулярных водородных связей с рецептором.

Следует отметить, что в синтетических brassинолидах с 22S,23S-диольной структурой в стероидной боковой цепи образование внутримолекулярных водородных связей O5...HO6 и O6...HO5 в кристалле, в отличие от раствора, исключено. Напротив, в кристаллических при- родных brassинолидах возможно образование внутримолекулярных водородных связей O5...HO6 и O6...HO5 (см. табл. 2).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный конформационный анализ боковой цепи биологически активных синтетиче- ских и природных стероидов показал, что 22R,23R-диольная структура в стероидной боковой цепи природных brassиностероидов способствует повышению ее гибкости по сравнению с син- тетическими (22S,23S-дигидрокси)-стереоизомерами. Это приводит к высокой вероятности реализации в растворе природных brassиностероидов двух конформеров, в одном из которых гидроксил вместо образования внутримолекулярной водородной связи в пределах диольной системы боковой цепи способен образовывать межмолекулярную водородную связь, что важно для взаимодействий гормон—рецептор.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фун- даментальных исследований (грант № Ф09-088).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sasse J.M. // *J. Plant Growth Regul.* – 2003. – **22**. – P. 276 – 285
2. Yokota T., Mori K. *Molecular Structure and Biological Activity of Steroids* / Eds. M. Bohl, W.L. Duax. – CRC Press. Boca Raton, FL, 1992. – P. 317 (Chapter 9).
3. Brosa C., Soca L., Terricabras E. et al. // *Tetrahedron.* – 1998. – **54**. – P. 12337 – 12348.
4. Alvarez-Ginarte Y.M., Crespo R., Montero-Cabrera L.A. et al. // *QSAR Comb. Sci.* – 2005. – **24**. – P. 218 – 226.
5. Alvarez-Ginarte Y.M., Crespo-Otero R., Marrero-Ponce Y. et al. // *QSAR Comb. Sci.* – 2006. – **25**. – P. 881 – 889.
6. Morera-Boado C., Alonso-Becerra E., Montero-Cabrera L.A. et al. // *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.* – 2007. – **819**. – P. 109 – 120.
7. Stoldt M., Porzel A., Adam G., Brandt W. // *Magn. Res. Chem.* – 1997. – **35**. – P. 629 – 636.
8. Yokota T., Mori K. *Molecular Structure and Biological Activity of Steroids* / Eds. M. Bohl, W.L. Duax – CRC Press, Boca Raton, FL, 1992. – P. 318.
9. Сыса А.Г., Куселев П.А., Жабинский В.Н., Хрунач В.А. // *Прикл. биохимия и микробиология.* – 2010. – **46**, № 1. – С. 29 – 34.
10. Voigt B., Porzel A., Wagner C., Merzweiler K. // Private communication (2001) to the CSDB 119112.
11. Kutschabsky L., Reck G. // Private communication (2003) to the CSDB 201799.
12. Kutschabsky L., Adam G., Vorbrodt H.-M. // *Z. Chem.* – 1990. – **30**. – P. 136 – 145.
13. Voigt B., Porzel A., Wagner C., Merzweiler K. // Private communication (2001) to the CSDB 116995.
14. Wiberg K.B., Boyd R.H. // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1972. – **94**. – P. 8426 – 8434.