

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ *IN SILICO*
5,10-СЕКОСТЕРОИДОВ ЭСТРАНОВОГО РЯДА**

Фандо Г.П., Краецкая О.Ф.

*Белорусский государственный медицинский университет,
г. Минск, Республика Беларусь
gfando@mail.ru*

Аннотация. Озонолиз $\Delta^{5(10)}$ -стероидов приводит к образованию 5,10-секостероидов, которые могут использоваться как промежуточные соединения для дальнейшего синтеза разнообразных секостероидов эстранового ряда. Исследована *in silico* зависимость «структура-биологическая активность» полученных соединений относительно эстрогеновых, андрогеновых и прогестероновых рецепторов.

Ключевые слова. Стероиды, секостероиды, молекулярный докинг.

SYNTHESIS AND *IN SILICO* STUDIES 5,10-SECOSTEROIDS OF THE ESTRANE SERIES

Fando G.P., Kraetskaya O.F.

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

gfando@mail.ru

Abstract. Ozonolysis of $\Delta^{5(10)}$ -steroids leads to 5,10-seco steroids and can be used as intermediates in the synthesis of a estrane secosteroids set. The “structure-biological activity” relationship of the obtained compounds with respect to estrogen, androgen and progesterone receptors was studied *in silico*.

Key words. Steroids, seco steroids, molecular docking.

Разработка эффективных методов синтеза стероидов и секостероидов, которые позволяют получать желаемый продукт с высоким выходом, является актуальным на протяжении последних десятилетий [1]. Учитывая сложность структуры стероидов, а также необходимость использования специальных реагентов и условий проведения, данная задача требует глубоких знаний и опыта в области синтеза органических соединений [3]. Изучение химической структуры и биологической активности этих соединений позволяет создавать новые лекарственные препараты, улучшать существующие методы лечения различных заболеваний, а также повышать эффективность и безопасность медицинских процедур [5]. Кроме того, исследования в области синтеза [2, 4] и исследование *in silico* стероидов и секостероидов эстранового ряда имеют большое значение для понимания принципов взаимодействия биологически активных молекул с клетками и тканями организма. Это помогает улучшать диагностику и лечение различных заболеваний, а также расширять возможности в медицинской практике. Таким образом, разработка методов синтеза стероидов и изучение их биологической активности к различным рецепторам остается одной из актуальных задач в органическом синтезе, которая имеет большое значение для науки и практики.

Цель работы:

- 1) Осуществить синтез соединений стероидов и секостероидов эстранового ряда;
- 2) Исследовать *in silico* зависимость полученных соединений относительно эстрогеновых, андрогеновых и прогестероновых рецепторов.

Методика исследования: Структура полученных соединений была доказана на основе данных ИК- и ЯМР-спектроскопии.

К раствору **1** (4.2 г, 14.4 ммоль) в 17 мл этиленгликоля добавили трет-бутилат калия (4.2 г, 37.6 ммоль). Затем нагрели в присутствии аргона и перемешивали смесь при температуре 195-200°C 10 мин, охладили до комнатной температуры, разбавили водой (80 мл) и экстрагировали хлороформом (300 мл x 3) затем упарили в вакууме. Полученный остаток очистили на колонке с силикагелем, используя смесь циклогексан – этилацетат (2:1) в качестве элюента. Выделено 3.2 г (82%) 3 α -гидрокси-7 α -метил-эстр-

5(10)-ен-17-он **2**. ^1H ЯМР δ : 0.83 (д, 3H, J = 7 Гц, 7-CH₃), 0.87 (с, 3H, 18-CH₃), 3.31 (м, 1H, C₃-H).

К раствору 3 α -гидрокси-7 α -метил-эстр-5(10)-ен-17-он **2** (1.4 г, 4.86 ммоль) в смеси 15 мл метанола и 15 мл этилацетата добавили 738 мг боргидрида натрия (19.4 ммоль). Реакционную смесь интенсивно перемешивали 30 мин, разбавили водой и экстрагировали этилацетатом. Растворитель высушили с помощью сульфата натрия, упарили в вакууме. Выделено 1.26 г (90%) 7 α -метил-эстр-5(10)-ен-3 α ,17 β -диола **3**.

Озонолиз 7 α -метил-эстр-5(10)-ен-3 α ,17 β -диола **3.**

Смесь, состоящую из стероида **3** (0.4 г, 1.4 ммоль), NaHCO₃ (0.4 г, 4.8 ммоль), 4 мл метанола и 8 мл хлороформа озоновали при -50° С. После окончания реакции добавили 3 мл диметилсульфида. После нагрева до комнатной температуры растворитель упарили в вакууме. Полученный остаток очистили на колонке с силикагелем, используя смесь циклогексан – этилацетат (1:4) в качестве элюента. С выходом 40% выделен 5,10-дикетон **5**.

По такой же методике проводили озонолиз 3 α -гидрокси-7 α -метил-эстр-5(10)-ен-17-он **2**. В результате с выходом 37% получили соединение **4**.

Структуры синтезированных стероидов созданы с помощью химической программы ChemDraw Pro 12,0. Структуры андрогенных рецепторов (AR) – 2p1w, 2p1u, эстрогеновых рецепторов (ER) – 1a52, 3ert и рецепторов прогестерона (PR) – 1a28, 2aa5 выделены из банка данных о белках (PDB) [6]. Молекулярная стыковка лиганд-белок выполнена с помощью программы Dockingserver [7].

Результаты исследования:

Стероиды с 5(10)-двойной связью считаются довольно доступными соединениями. Некоторые из них, такие 3 α -гидрокси-7 α ,17 β -диметил-19-норпрегн-5(10)-ен-20-ин **1** уже содержат в цикле А 3 α -гидрокси группу и 5(10) двойную связь. Используя трет-бутилатат калия была удалена ацетиленовая группа при C₁₇. Таким образом, с высоким выходом было получено исходное соединение для синтеза 5,10-секостероидов (рис.). Первые эксперименты по озонолизу $\Delta^{5(10)}$ -стероидов **2** и **3** позволили понять суть происходящего процесса. Используя тонкослойную хроматографию, удалось выяснить, что после очистки реакционной смеси на хроматографической колонке состав реакционной смеси существенно изменился. Это объясняется тем, что озонолиз проводился при температуре -50°С, а обработку проводили при +18-+20°С. Таким образом, удалось получить с невысоким выходом 5,10-дикетон **5**, но эксперимент по озонолизу соединения **2** привел к образованию продукта внутримолекулярной альдольной конденсации **4**.

В результате проведенных реакций, было сделано предположение, что 5,10-секостероиды не отличаются устойчивостью при обычных условиях. Температурный режим и время обработки реакционной смеси оказывают существенное влияние на структуру синтезированных соединений.

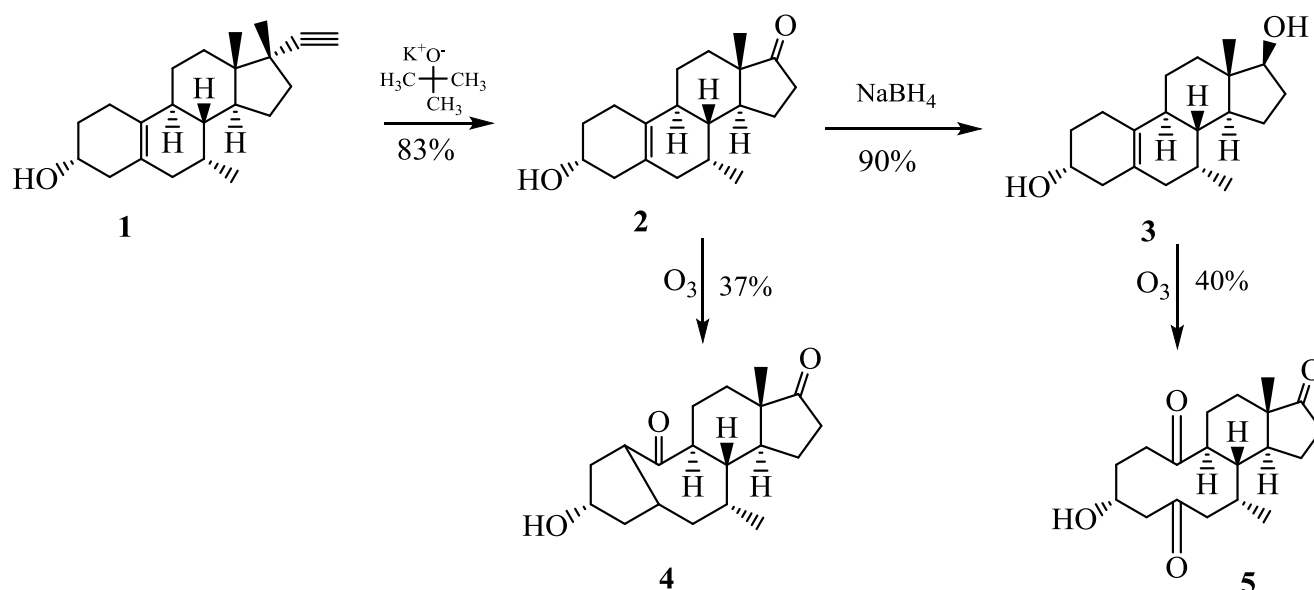


Рисунок. Синтез 5,10-секостероидов.

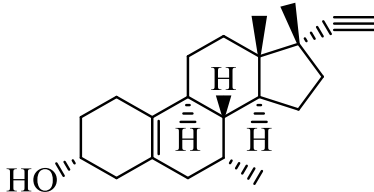
Для изучения зависимости «структура-биологическая активность» *in silico* были выбраны три наиболее стабильные в ходе синтеза соединения **1**, **2** и **4**. Был проведен молекулярный докинг данных соединений с тремя видами стероидных рецепторов – андрогеновыми (2piw и 2piu), эстрогеновым – (1a52 и 3ert) и рецепторами прогестерона – 1a28 и 2aa5.

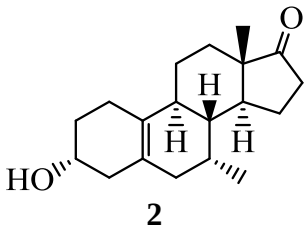
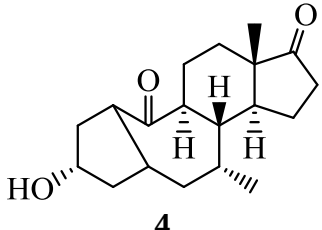
Лучшие показатели свободной энергии связывания (Gi) свидетельствуют о более высокой аффинности изучаемых соединений к анализируемым рецепторам (табл.).

При анализе полученных данных (таблица) видно, что соединения **1**, **2** и **4** проявляют примерно одинаковую аффинность ко всем видам стероидных рецепторов, кроме рецепторов прогестерона 1a28 и 2aa5. Так энергия связывания соединений **68** и **69** с 1a28 и 2aa5 в два раза меньше (-4,78; -5,14 Kcal/mol и -5,35; -6,20 Kcal/mol) аналогичных показателей для **1** (-10,23 и -10,83 Kcal/mol). Причиной этому, по-видимому, является замена тройной связи в тиболоне **60** на функциональные гидроксигруппы и оксо-группы в соединениях **2** и **4** соответственно.

Таблица

 Энергия связывания стероидов **1**, **2**, **4** и стероидных рецепторов

Соединение	Gi, Kcal/mol					
	AR		ER		PR	
	2piw	2piu	1a52	3ert	1a28	2aa5
 1	-10,26	-9,83	-9,53	-9,20	-10,23	-10,83

 2	-11,44	-9,85	-10,12	-8,63	-4,78	-5,35
 4	-10,39	-9,95	-9,42	-9,11	-5,14	-6,20

Выводы.

Более устойчивые синтезированные соединения **2** и **3** проявляют меньшую аффинность к прогестероновому рецептору 1a28 по сравнению с аффинностью к нему исходного соединения **1**, что, возможно, связано с заменой в составе **1** тройной связи на функциональные гидроксигруппы. Данные результаты могут быть использованы для последующего поиска новых лекарственных препаратов эстранового ряда, проявляющих меньшую активность к прогестероновым рецепторам *in silico*.

Литература

1. Фандо, Г. П. Биологическая активность секостероидов, выделенных из природных источников / Г. П. Фандо // Медицинский журнал. – 2016. – №1. – С. 69–72.
2. Chemical Diversity of Soft Coral Steroids and Their Pharmacological Activities / E.V. Ermolenko., A.B. Imbs, T.A. Glorizova etc. // Mar. Drugs. – 2020. – V. 18(12). – P. 613. doi: 10.3390/md18120613.
3. Total Synthesis of Aplysiasecosterols A and B, Two Marine 9,11-Secosteroids / T. Ohyoshi, H. Iizumi, S. Hosono etc. // Org. Lett. – 2023. – Jun. 30:25(25). – P. 4725–4729. doi: 10.1021/acs.orglett.3c01692.
4. Immunosuppressive 9,10-Secosteroids from the Gorgonian Verrucella umbraculum Collected in the South China Sea. / J. Li, Y. L. Sun, H. Tang etc. // J. Nat. Prod. – 2021. – May 28:84(5). P. 1671–1675. doi: 10.1021/acs.jnatprod.1c00200.
5. Subergorgiaols A-L, 9,10-secosteroids from the South China Sea gorgonian Subergorgia rubra / X. P. Sun, F. Cao, C. L. Shao etc. // Steroids. – 2015. – Feb; 94:7-14. doi: 10.1016/j.steroids.2014.12.001.
6. Protein Data Bank [Электронный ресурс]. – Режим доступа к ресурсу: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.
7. DockingServer [Электронный ресурс]. – Режим доступа к ресурсу: <http://www.dockingserver.244.com/web/>.



Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего образования
«Иркутский государственный медицинский университет»
(ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России)

Инновационные технологии в фармации

Выпуск 11

Материалы Всероссийской научно-практической конференции с
международным участием

Иркутск, 7 июня 2024 года

Под общей редакцией Е. Г. Приваловой

Иркутск
ИГМУ
2024