

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СТРУКТУРЫ БОКОВОЙ ЦЕПИ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ИХ БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НА ОСНОВЕ РЕЗУЛЬТАТОВ КОНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

*В.М. Андрианов<sup>1</sup>, И.В. Анищенко<sup>2</sup>*

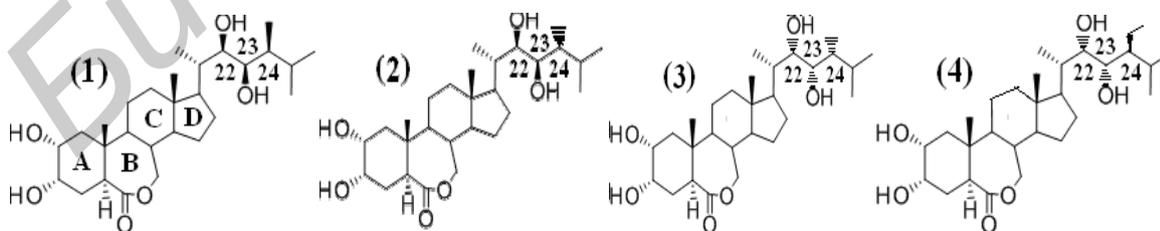
<sup>1</sup>Институт физики им. Б.И.Степанова НАН Беларуси, пр. Независимости, 68, 220072, Минск, Беларусь, E-mail: v.andrianov@dragon.bas-net.by

<sup>2</sup>Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси, ул. Сурганова, 6, 220012, Минск, Беларусь, E-mail: anishchenko.ivan@gmail.com

**Abstract:** The conformational analysis of one of the most biologically active brassinosteroids, natural brassinolide, as well as of the less active natural 24-epibrassinolide, synthetics (22S,23S)-24-epibrassinolide and (22S,23S)-homobrassinolide was carried out by molecular mechanics and the DFT quantum chemical calculations followed by the comparison of their side chain structures. The 22R,23R,24S configuration of two hydroxyls and the methyl group of the brassinolide side chain was shown to support the structures in which its diol system makes the intramolecular O6...H(O5) hydrogen bond. At the same time, the O6H hydroxyl group is unbound and may participate in forming the intermolecular hydrogen bond with a receptor. As opposed to this observation, the 22S,23S,24R-configuration of (22S,23S)-24-epibrassinolide is in line with the structures where the O6H hydroxyl group is screened by the 21-methyl group, causing the less biological activity of this hormone.

Брассиностероиды (БС) - класс растительных фитогормонов, проявляющих высокую биологическую активность. Эти соединения, известные своей ростостимулирующей способностью, обратили на себя внимание и как потенциальные антиканцерогенные фармакологические средства [1]. Однако антиканцерогенная и цитотоксическая активность БС недостаточно изучена на молекулярном уровне. Известно, что взаимное пространственное расположение заместителей углеродного остова боковой цепи является важным фактором биологической активности БС [2]. В связи с этим актуален вопрос о влиянии стереохимической конфигурации заместителей на участке 22-24 на конформацию боковой цепи БС и о связи биоактивности БС со структурой боковой цепи.

Согласно различным биотестам самым биологически активным БС является природное соединение брассинолид [3], боковая цепь которого содержит 22R,23R-гидроксилы и 24S- метил группу (RRS). В связи с этим представляется целесообразным для исследования связи между структурой боковой цепи и брассинолидной активностью проведение сопоставительного конформационного анализа брассинолида (1) и менее активных БС – природного 24-эпибрассинолида (2), синтетических (22S,23S)-24-эпибрассинолида (3) и (22S,23S)- гомобрассинолида (4). Их боковая цепь содержит соответственно 22R,23R-гидроксилы, 24R- метил группу (RRR), 22S,23S-гидроксилы, 24R- метил группу (SSR) и 22S,23S-гидроксилы, 24S- этил группу (SSS):



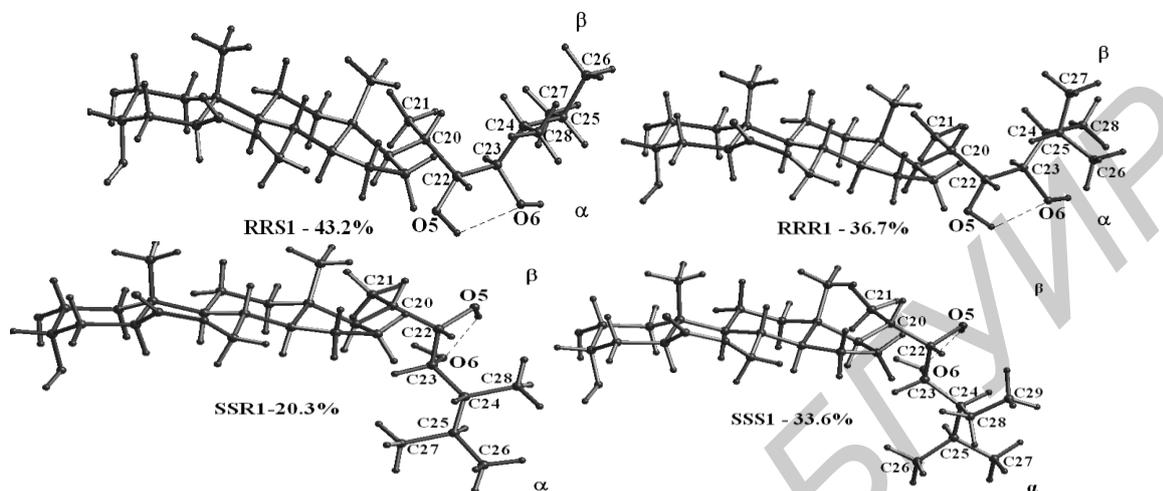
Локальные минимумы (устойчивые конформеры) в исследуемых молекулах определялись методом молекулярной механики (ММ), а затем уточнялись методом DFT с V3LYP-функционалом и расширенным базисным набором 6-311+G(d,p). Результаты расчетов и статистического больцмановского анализа относительного содержания индивидуальных конформеров в равновесной смеси приведены в таблице, из которой следует, что

Таблица 1 - Двугранные углы СССС (град), относительные электронные энергии  $\Delta E$  (ккал/моль), расстояния O...H(O) (Å) в пределах диольной системы боковой цепи, населенности энергетических минимумов (%) низкоэнергетических конформеров  $RRS_i$ ,  $SSR_i$ ,  $RRR_i$  и  $SSS_i$  четырех молекул brassinosterоидов

Конформер	$\Delta E$	C17C20- C22C23	C20C22- C23C24	C22C23- C24C25	C23C24- C25C26	C23C24- C25C27	O5... H(O6)	O6... H(O5)	%
Брассинолид (RRS)									
Кристалл	-	-176.5	52.3	-170.8	-169.9	70.2	3.68	2.41	-
$RRS_1$	0.0	-178.1	58.6	-179.1	47.7	170.9	3.41	2.11	43.2
$RRS_2$	0.583	-176.8	61.2	-161.2	-56.7	70.5	3.40	2.06	15.9
$RRS_3$	0.666	-177.1	58.8	-167.9	156.6	-77.4	2.08	3.35	13.8
$RRS_4$	0.760	-177.3	58.9	-173.1	150.0	-85.0	3.34	2.09	11.7
24-эпибрассинолид (RRR)									
Кристалл	-	-162.5	96.2	68.5	-147.8	86.6	2.24	2.62	-
$RRR_1$	0.0	-177.2	57.0	51.3	71.5	-162.5	3.43	2.10	36.7
$RRR_2$	0.583	-173.5	57.2	52.9	73.9	-160.2	2.09	3.08	13.9
$RRR_3$	0.585	-176.8	56.9	53.3	73.4	-160.7	2.10	3.37	13.8
$RRR_4$	0.605	-172.0	152.1	160.3	64.1	-169.4	1.98	3.04	13.4
(22S,23S)-24-эпибрассинолид (SSR)									
Кристалл	-	-145.5	-177.7	56.5	-169.0	67.5	3.74	3.72	-
$SSR_1$	0.0	70.4	-147.2	175.3	-51.5	-175.1	2.97	1.96	20.3
$SSR_2$	0.333	69.2	-150.9	162.3	-158.4	76.5	2.00	3.47	11.4
$SSR_3$	0.352	69.0	-148.6	175.3	-50.0	-173.9	3.49	1.97	11.1
$SSR_4$	0.477	69.8	-148.6	164.1	-156.8	77.3	2.97	1.97	8.9
$SSR_5$	0.484	66.9	-164.0	70.6	-160.7	73.7	2.08	3.52	8.8
$SSR_6$	0.487	63.6	-164.1	76.5	-157.6	76.6	3.53	2.07	8.8
(22S,23S)-28-гомобрассинолид (SSS)									
Кристалл	-	-146.4	-174.7	-175.3	-70.3	157.2	3.69	3.10	-
$SSS_1$	0.0	69.6	-164.0	-177.2	164.3	-69.7	3.10	2.06	33.6
$SSS_2$	0.396	61.3	-169.5	-169.4	169.0	-64.4	3.60	2.17	17.0
$SSS_3$	0.592	-83.7	-55.4	-48.2	160.0	-73.7	3.41	2.09	12.2
$SSS_4$	0.652	69.3	-160.5	-163.3	-43.5	84.9	3.04	2.01	11.0

небольшие различия химического строения боковой цепи в исследуемых БС приводят к значительным изменениям ее структуры и конформационных возможностей при переходе из кристаллического состояния в газовую фазу. В молекулах (1), (2) и (4) в равновесной смеси доминирует один конформер, в то время как в менее активной синтетической молекуле (3) населенности энергетических минимумов распределены более равномерно (таблица), что указывает на большую гибкость ее боковой цепи. В природных молекулах (1) и (2) низкоэнергетические конформеры обладают изогнутостью боковой цепи по направлению к  $\beta$ -стороне остова стероида, в то время как для менее биоактивных синтетических молекул (3) и (4) - к  $\alpha$ -стороне (рисунок). В результате во всех конформерах наиболее биологически активной молекулы (1) обе гидроксильные группы боковой цепи направлены к стерически свободной  $\alpha$ -границе стероидальной плоскости, а в молекулах (3) и (4) - ориентированы в противоположном направлении. Можно предположить, что низкоэнергетические конформации, которые принимает боковая цепь молекулы (1), являются биологически значимыми, поскольку делают возможным беспрепятственное участие  $\alpha$ -ориентированных O5H и O6H гидроксильных групп в биохимических процессах в растениях. Это хорошо видно на примере самого низкоэнергетического конформера брассинолида  $RRS_1$  (рисунок), структура боковой цепи которого стабилизируется внутримолекулярной водородной связью (ВВС) O6...H(O5), а гидроксил O6H способен образовывать межмолекулярную водородную связь (МВС) в комплексе БС – рецептор. Напротив, в низ-

коэнергетических конформерах молекул (3) и (4) обе гидроксильные группы боковой цепи, ориентированные в противоположном направлении по сравнению с конформерами молекулы (1), стерически экранированы 21-метил группой, что показано на рисунке на примере конформеров  $SSR_1$  и  $SSS_1$ . Здесь также образуется ВВС  $O6...H(O5)$ , а доступ рецептора к гидроксилу  $O6H$  затруднен 21-метильной группой.



**Рисунок 1** - Самые низкоэнергетические конформеры исследуемых молекул с указанием их относительного содержания в равновесной смеси. Буквами  $\alpha$  и  $\beta$  обозначены стороны от стероидальной плоскости.

Таким образом, выполненный в данной работе сопоставительный конформационный анализ четырех стереоизомеров БС с различной биологической активностью позволил найти связь между стереохимической конфигурацией заместителей у атомов C22, C23 и C24 углеродного остова боковой цепи и brassинолидной активностью. Установлено, что конфигурация 22R,23R,24S двух гидроксильных групп и метильной группы боковой цепи brassинолида, обладающего наивысшей биологической активностью среди brassиностероидов, приводит к таким структурам боковой цепи, в которых гидроксильные группы могут беспрепятственно участвовать в биохимических процессах в растениях. При этом в подавляющем большинстве низкоэнергетических конформеров в пределах диольной системы боковой цепи образуется внутримолекулярная водородная связь  $O6...H(O5)$ , а гидроксил  $O6H$  свободен для образования межмолекулярной водородной связи в комплексе БС —. Показано, что важным фактором высокой биоактивности brassиностероидов также является форма их боковой цепи (изогнутость по направлению к  $\beta$ -стороне остова стероида).

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Ф14-032).

#### Литература

1. **Misharin, A. Yu.** Toxicity of (22R, 23R)-22, 23-dihydroxystigmastane derivatives to cultured cancer cells / A. Yu. Misharin., A. R. Mehtiev, V. N. Zhabinskii, V. A. Khripach, V. P. Timofeev, Y. V. Tkachev // *Steroids*. - 2010. - V. 75. № 3. - P. 287-294.
2. **Uesusuki S.** Synthesis of brassinosteroids of varying acyl side chains and evaluation of their brassinolide-like activity / B. Watanabe, S. Yamamoto, J. Otsuki, Y. Nakagawa, H. Miyagawa // *Biosci Biotechnol. Biochem.* - 2004. - V. 68. № 5. - P. 1097-1105.
3. **Zullo M.A.T.** Brassinosteroid phytohormones: structure, bioactivity and applications / M. A. T. Zullo, G. Adam // *Brazilian J. Plant Physiology*. - 2002. - V. 14. № 3. - P. 143-181.