



УДК 577.1:547.92:542.91

## ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ ЭСТРАДИОЛА И 8-ИЗОЭСТРАДИОЛА С $\alpha$ -РЕЦЕПТОРОМ ЭСТРОГЕНОВ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

© 2002 г. А. Г. Шавва<sup>#</sup>, К. В. Власова, С. Б. Цогоева, М. С. Егоров, П. П. Якуцени*Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет, 198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф, Университетский просп., 26*

Поступила в редакцию 20.07.2001 г. Принята к печати 14.01.2002 г.

Проведен сравнительный анализ комплексов  $\alpha$ -рецептора эстрогенов с эстрадиолом и 8-изоэстрадиолом. На основании расчетов лиганд-рецепторных комплексов, выполненных с помощью программы FLEXX, предложена модель связывания аналогов 8-изоэстрадиола. Обнаружено, что кольца С и D эстрадиола и 8-изоэстрадиола одинаково расположены в лигандсвязывающем кармане и совмещаются при наложении соответствующих лиганд-рецепторных комплексов, тогда как кольца А и В не совпадают. Кислородные функции при С17 аналогов эстрадиола обоих рядов совмещаются при наложении, а фенольные гидроксильные группы при С3 отстоят друг от друга на 0.05 Å. В результате сопоставления биологических свойств модифицированных аналогов эстрадиола природного и 8-изо-рядов, предсказанных с помощью предлагаемой модели, с уже имеющимися экспериментальными данными выявлено их совпадение. Синтезированные 2-ацетилааналоги 8-изоэстрогенов утеротропной активностью не обладают, что также согласуется с предлагаемой моделью.

*Ключевые слова:* рецепторы эстрогенов; лиганд-рецепторный комплекс; молекулярное моделирование.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что геномное действие стероидных эстрогенов опосредуется их ядерными  $\alpha$ - и  $\beta$ -рецепторами, имеющими различную лигандную специфичность [1, 2]. Это открывает возможность создания новых лекарственных и профилактических средств, поскольку в органах-мишенях может преобладать одна из разновидностей рецепторов [3, 4]. Указанная возможность реализована на практике. Так, новый нестероидный препарат ралоксифен (специфический модулятор рецепторов эстрогенов) препятствует развитию остеопороза и некоторых сердечно-сосудистых заболеваний, практически не проявляя утеротропного действия [5]. Последнее обстоятельство весьма важно, поскольку эстрогенная активность в значительной степени коррелирует с риском возникновения злокачественных опухолей [6]. Более того, клиническое изучение показало, что ралоксифен препятствует возникновению рака молочной железы [7].

Дальнейший прогресс в получении специфических модуляторов рецепторов эстрогенов связан с созданием моделей лиганд-рецепторного взаимодействия, использование которых позволило

бы заранее предвидеть, как скажутся модификации структуры лигандов на их биологических свойствах. Такая модель должна учитывать данные о структуре рецептора и закономерностях его функционирования.

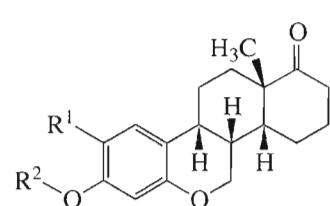
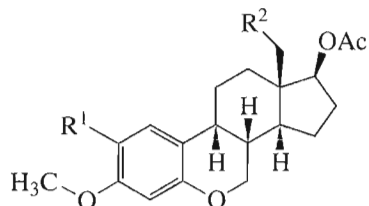
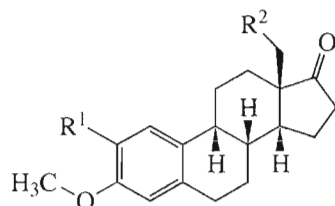
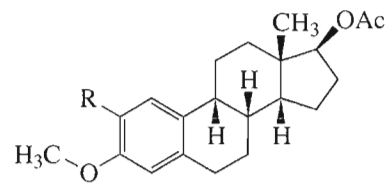
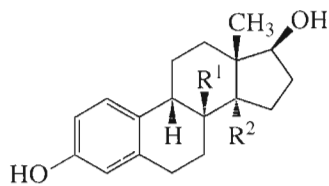
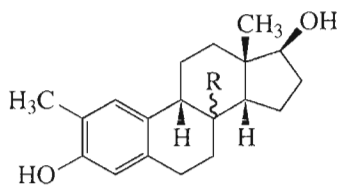
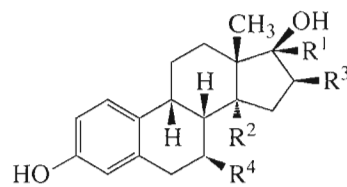
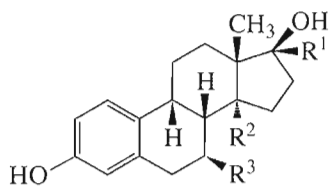
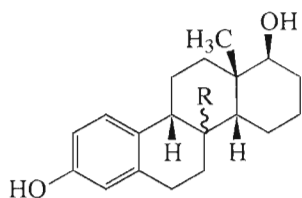
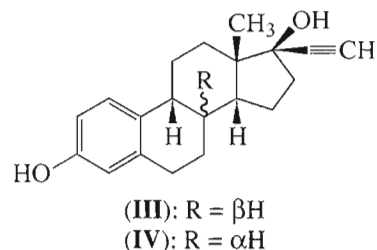
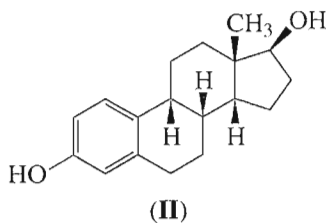
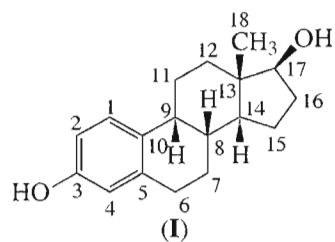
С середины 1980-х годов были начаты исследования по клонированию ДНК, кодирующих рецепторы стероидных эстрогенов, что позволило установить их первичную структуру (впоследствии они были отнесены к  $\alpha$ -рецепторам, или РЭ $\alpha$ ) [8–11]. Выяснилось, что рецепторы имеют белковую природу и состоят из нескольких функциональных областей:

A/B	C	D	E	F
-----	---	---	---	---

N-Концевая область (A/B) имеет переменную длину и аминокислотную последовательность. Обычно она содержит гормоннезависимую трансактивационную функцию (AF-1), взаимодействующую с элементами аппарата транскрипции и активирующую гены в органах-мишенях [12]. Участок С отвечает за узнавание ДНК и димеризацию рецептора [2, 13] – это область связывания ДНК, содержащая примерно 70 а.о. Область D – “шарнирная”, она ответственна за изменение конформации белка. Участок E (гормонсвязывающий участок, или ГСУ) содержит около 250 а.о. и обеспечивает, как следует из названия, связывание гормона или его аналогов. ГСУ играет важную роль при димеризации и активации рецептора [2,

Сокращения: ГСУ – гормонсвязывающий участок; РЭ $\alpha$ , РЭ $\beta$  – рецепторы  $\alpha$  и  $\beta$  эстрогенов.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (812) 428-68-09; факс: (812) 428-69-39; эл. почта: nmr@paloma.spbu.ru).



14]. И, наконец, в С-концевой области рецептора локализован вариабельный участок F, для которого не установлена специфическая функция.

До недавних пор считали, что существует только один тип рецепторов эстрадиола – РЭ $\alpha$ . В 1996 г. рядом исследователей [15, 16] обнаружены новые представители суперсемейства ядерных рецепторов эстрогенов в простате и яичниках крысы, обладающие высоким сродством к эстрадиолу. Их первичная структура высоко гомологична структуре РЭ $\alpha$ , особенно в ДНК-связывающем участке и в гормонсвязывающей Е-области [16, 17]. Для того чтобы отличить новый тип РЭ от ра-

нее клонированных рецепторов его назвали  $\beta$ -рецептором эстрогенов (РЭ $\beta$ ).

Анализ содержания РЭ $\alpha$  и РЭ $\beta$  в различных тканях крысы показал, что в почках присутствуют исключительно РЭ $\alpha$ , в матке, молочных железах и гипофизе находятся преимущественно РЭ $\alpha$ , а в мозге, яичниках и простате – РЭ $\beta$  [3, 18].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мы обратили внимание на то, что в литературе отсутствует модель связывания 8-изоаналогов эстрадиола с рецепторами эстрогенов. Между

**Таблица 1.** Некоторые межатомные расстояния в комплексе стероидов (I) и (II) с  $\alpha$ -рецептором эстрадиола

Эстроген	Расстояние, Å			Энергия связывания, кДж/моль
	O3(стероид)–O $\gamma$ (Glu353)	O3(стероид)–N $^{\eta}$ (Arg394)	O17(стероид)–N $^{\epsilon}$ (His524)	
(I)	2.4	3.2	2.7	–21.4
(II)	2.4	3.2	2.7	–20.0

тем эта группа модифицированных эстрадиолов имеет относительно высокое сродство к РЭ $\alpha$  [19–22] и, как следствие, высокую гормональную активность. Следовательно, указанные соединения могут оказаться перспективными для создания на их основе эффективных препаратов с избирательным биологическим действием. В этой связи мы решили провести расчет геометрии и энергии связывания комплексов РЭ $\alpha$  с двумя лигандами – природным эстрадиолом (I) и 8-изоэстрадиолом (II).

К настоящему времени разработано несколько компьютерных методов, позволяющих осуществить моделирование взаимодействий протеинов с лигандами. Среди них следует выделить специализированные докинг-методы, которые направлены на расчет положения и конформации лиганда в активном участке белковой молекулы [23–27]. Одна из наиболее перспективных программ, реализующих молекулярный докинг, – FLEXX [28], которая и была использована в настоящем исследовании. Результатом расчета являются координаты атомов лиганда относительно ригидного рецептора. Определение межатомных расстояний и энергий связывания в лиганд-рецепторных комплексах, а также наложение комплексов осуществляли в программе Hyperchem [29].

Докинг лигандов проводили в гормонсвязывающий участок РЭ $\alpha$ , кристаллографические данные которого представлены в брукхэйвенском протеиновом банке данных (the Brookhaven Protein Data Bank, <http://www.rcsb.org/pdb>). Для расчетов использовали координаты атомов интересующей конформации лиганда, оптимизированной полуэмпирическим методом AM1 [30].

“Активный участок” задавали двумя способами: а) координатами атомов аминокислотных остатков, составляющих ближайшее окружение лиганда, или б) положением “реперного” лиганда (в данном случае одного из эстрадиолов (I) или (II)) и определенным радиусом. Результаты расчетов по обоим методам оказались идентичными.

Показано, что эстрадиол (I) и 8-изоэстрадиол (II) располагаются сходным образом в гидрофобном кармане, образованном 3, 5, 6, 11 и 12-й спиралью лигандсвязывающего участка эстрогенного рецептора. Со стороны гидроксильной группы при C3 (O3) стероида находится аминокислотный ос-

таток Glu353, со стороны гидроксильной группы при C17 (O17) – His524. В табл. 1 приведены расстояния между атомами O3 и O17 и ближайшими к ним атомами соответствующих аминокислот, а также энергии связи лигандов с рецептором.

Программа FLEXX выделяет аминокислотные остатки Leu387, Ala350, Leu391 как особо важные для гидрофобного связывания молекул эстрадиола (I) и 8-изоэстрадиола (II).

При наложении комплексов РЭ $\alpha$  с эстрадиолом (I) и 8-изоэстрадиолом (II) оказалось, что молекулы лигандов совмещаются в области колец C и D (гидроксильные группы при C17 занимают одно и то же положение), а рассогласование позиций гидроксильных групп при C3 не превышает 0.05 Å.

Результаты расчета геометрии комплекса эстрогенного рецептора с эстрадиолом программой FLEXX согласуются с данными рентгеноструктурного анализа [31]. Указанные в табл. 1 межатомные расстояния допускают образование водородных связей O3 эстрадиола с  $\gamma$ -карбоксильной группой остатка Glu353 и гуанидиновой группой Arg394, а также O17 с имидазольным кольцом His524. Таким образом, данный расчет дает однозначное расположение эстрадиола в лигандсвязывающем кармане рецептора.

Предполагается, что рассчитанная энергия связывания в лиганд-рецепторном комплексе должна коррелировать с экспериментальной величиной относительного сродства лиганда к рецептору. Близкие значения энергии связывания РЭ $\alpha$  с лигандами (I) и (II) (табл. 1) указывают на сходную прочность комплексов. Комплекс РЭ $\alpha$  с природным гормоном несколько более прочен, что соответствует данным литературы [32].

Поскольку кольца C и D эстрогенов (I) и (II) в комплексе с рецептором занимают одно и то же пространственное положение, можно предположить, что в модифицированных соединениях одинаковые заместители в этих кольцах также займут одно и то же положение. В принципе, это может означать, что введение одинаковых заместителей в кольца C и D рассматриваемых стероидов вызовет однонаправленное изменение их утеротропной активности.

Рассмотрим несколько примеров для иллюстрации правильности выводов, вытекающих из предложенной модели. Введение этинильной группы в 17 $\alpha$ -положение (этинилэстрадиола (III) и (IV)) должно вызвать сходное изменение как связывания с РЭ $\alpha$ , так и утеротропной активности. Экспериментально действительно обнаружено для обоих веществ увеличение как сродства к рецепторам, так и утеротропного действия [12]. Расширение кольца D до шестичленного (стероиды (V) и (VI)) должно также вызвать однонаправленное изменение свойств. Экспериментально показано, что указанная модификация приводит к падению сродства аналогов (V) и (VI) к рецепторам эстрогенов и падению гормональной активности [19].

**Таблица 2.** Влияние соединений (XVI), (XIX), (XXII), (XXI) и (XXV) на вес тела, “влажный” вес матки, содержание холестерина и триглицеридов овариэктомированных крыс

Группа животных (20 особей)	Стероид, 5 мг/ кг веса тела в сутки	Вес тела в начале опыта, г	Вес тела в конце опыта, г	Вес “влажной” матки, мг	Холестерин в сыворотке крови, мг/100 мл	Триглицериды в сыворотке крови, мг/100 мл
Ложнооперированные	–	171.0 ± 3.5	203.5 ± 4.2**	333.3 ± 34.3**	47.7 ± 2.5**	58.2 ± 3.6
Овариэктомированные	–	168.2 ± 3.6	216.4 ± 5.0	76.1 ± 4.0	68.8 ± 2.6	49.4 ± 3.9
То же	(III)*	170.0 ± 4.2	181.0 ± 4.9**	357.1 ± 16.0**	27.9 ± 2.6**	112.0 ± 15.3**
»	(XXII)	174.3 ± 3.6	190.5 ± 6.2**	203.5 ± 10.0**	35.6 ± 3.1**	74.7 ± 4.3**
»	(XVI)	180.5 ± 3.5	215.0 ± 5.3	78.6 ± 2.6	44.4 ± 1.9**	47.5 ± 3.3
»	(XXV)	170.0 ± 3.8	186.0 ± 3.4**	303.8 ± 13.9**	26.0 ± 3.9**	108.8 ± 12.3**
»	(XIX)	172.9 ± 3.5	217.4 ± 4.8	76.9 ± 5.2	54.4 ± 2.5**	49.5 ± 3.5
»	(XXI)	175.0 ± 3.5	218.5 ± 5.5	80.1 ± 4.2	50.5 ± 0.7**	не определяли

\* Животные получали 0.1 мг/ кг веса тела в сутки.

\*\*  $p < 0.05$  по сравнению с тем же параметром в группе овариэктомированных животных.

Создание дополнительного кольца в  $\alpha$ -области (эстрадиолы (VII) и (VIII)) также вызывает, как и ожидалось, сходное изменение утеротропного действия [33, 34].

В лигандсвязывающем кармане рецептора имеется место для небольшого заместителя в 16 $\beta$ -положении стероидной молекулы [32]. Поэтому введение метильной группы в эту позицию 8-изоэстрадиола (соединение (IX)) не должно приводить к резкому изменению сродства к рецептору, что и наблюдалось экспериментально [20].

В соответствии с расчетами, положения колец А и В эстрагенов (I) и (II) в лиганд-рецепторном комплексе не совпадают. В силу того, что стероидсвязывающий участок рецептора имеет ограниченный объем, практически любые заместители в этих кольцах должны вызвать падение гормональной активности у стероидов 8-изоряда по сравнению с незамещенными веществами. Действительно, введение 7 $\alpha$ -метильной группы в 8-изоэстрадиол (соединение (X)) вызывает падение утеротропной активности [20], тогда как у эстрогенов природного ряда (стероид (XI)) указанная модификация приводит к повышению утеротропного действия [35] и часто применяется для увеличения сродства модифицированных аналогов к рецепторам эстрогенов [36, 37]. Введение метильной группы в положение 2 природного эстрадиола (соединение (XII)) приводит к появлению антиутеротропного действия [37], та же модификация 8-изоэстрадиола (стероид (XIII)) не только не усиливает небольшой антиутеротропный эффект, присущий 8-изоаналогу (II), но и резко снижает его [20]. При введении метильной группы в 8 $\alpha$ -положение (соединение (XIV)) эстрогенная активность сохраняется [38], поскольку 8 $\alpha$ -метильная группа 8-изоаналогов попадает в область расположения колец А и В эстрадиола и не должна ухудшать связывание. В то же время формально близкий по строению стероид (XV) с 8 $\alpha$ ,14 $\alpha$ -

циклопропановым циклом [39] имеет более низкое сродство, чем соединение (XIV), поскольку циклопропановая группировка вызывает сильное искажение углеродного скелета молекулы.

Наличие ацетогруппы в положении 2 природных эстрогенов является одной из немногочисленных модификаций, приводящих к сохранению или даже небольшому повышению сродства к рецепторам эстрадиола [40]. Та же модификация в ряду 8-изоаналогов эстрогенов, согласно предложенной выше модели, должна привести к падению сродства к РЭ $\alpha$  и, как следствие, к понижению утеротропной активности таких соединений. Для проверки этого заключения мы синтезировали несколько 8-изоаналогов эстрогенов (XVI)–(XXI), содержащих ацетильную группу при С2, и в опытах на овариэктомированных крысах изучили их биологические свойства (утеротропное действие, влияние на вес тела, способность нормализовать содержание холестерина и триглицеридов в сыворотке крови). Частичные результаты этой работы представлены в табл. 2. Из данных таблицы видно, что введение ацетильной группы в положение 2 8-изоаналогов эстрадиола практически полностью устраняет их гормональную активность (ср. данные для (XXII) и (XVI), (XXV) и (XIX), (XXI)), что согласуется с предложенной моделью лиганд-рецепторного взаимодействия. Способность аналогов эстрогенов, не обладающих гормональной активностью, нормализовать содержание холестерина в сыворотке крови, подтверждает высказанное ранее предположение о том, что данный процесс не обязательно опосредуется рецепторами эстрогенов [41].

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Чистоту всех соединений проверяли методом ТСХ на пластинах “Силуфол” в системах растворителей гексан–этилацетат. Масс-спектры сни-

мали на приборе МХ-1321 при температуре ионизационной камеры 200–210°C.

Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР получали при 295 К на спектрометре DPX-300 фирмы Bruker с рабочими частотами 300.130 МГц. Для регистрации спектров использовались растворы 5–7 мг вещества в 0.6 мл CDCl<sub>3</sub>.

Все вещества представляют собой рацемические соединения.

**Ацетат 2-ацетил-3-метокси-8-изоэстра-1,3,5(10)-триен-17β-ола (XVI).** 1 г ацетата (XXII) [42] растворяли при перемешивании на магнитной мешалке в 9 мл нитробензола, прибавляли 0.3 мл уксусного ангидрида и раствор 1.4 г хлористого алюминия в 9 мл нитробензола при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 5°C 16 ч, затем выливали в лед с водой. Продукт реакции экстрагировали хлороформом, экстракт промывали водой, сушили сульфатом натрия. Растворители отгоняли в вакууме при температуре 75°C и давлении 4 мм рт.ст. Остаток кристаллизовали из диэтилового эфира, получали 770 мг (68%) целевого продукта (XVI) с т. пл. 175–176°C. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 370 (43), 355 (19.5), 281 (8.5), 269 (8.5), 228 (16), 215 (7.5), 187 (14.5), 43 (100). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР, δ, м.д.: 0.89 (3H, с, C13-CH<sub>3</sub>), 2.05 (3H, с, CH<sub>3</sub>COO), 2.56 (3H, с, 2-CH<sub>3</sub>CO), 3.80 (3H, с, CH<sub>3</sub>O), 4.59 (1H, т, 8.3, H17), 6.61 и 7.54 (2 с по 1H, H4 и H1). Найдено, %: C 74.61; H 8.12. C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>. Вычислено, %: C 74.56; H 8.16.

**2-Ацетил-3-метокси-8-изоэстра-1,3,5(10)-триен-17-он (XVII)** получали из 1.5 г соединения (XXIII) [43] в тех же условиях, что и соединение (XVI). После перекристаллизации из смеси хлороформ–метанол (1 : 5) выход целевого продукта 750 мг (44%), т. пл. 188–197°C. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 326 (100), 311 (43), 282 (8.5), 269 (10), 255 (6), 241 (33), 228 (18.5), 215 (7.5), 187 (22.5). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР, δ, м.д.: 0.95 (3H, с, C13-CH<sub>3</sub>), 2.55 (3H, с, 2-CH<sub>3</sub>CO), 3.83 (3H, с, CH<sub>3</sub>O), 6.60 (1H, с, H4) и 7.55 (1H, с, H1). Найдено, %: C 77.14; H 8.23. C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 77.27; H 8.03.

**2-Ацетил-18-метил-3-метокси-8-изоэстра-1,3,5(10)-триен-17β-он (XVIII)** получали из 1.7 г стероида (XXIV) [43] в тех же условиях, что и соединение (XVI). После перекристаллизации из метанола получали 860 мг (45%) целевого продукта с т. пл. 147–148.5°C. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 340 (100), 325 (30.9), 296 (6.6), 293 (6.5), 283 (14.5), 241 (25.5), 187 (18). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР соответствует ожидаемому. Найдено, %: C 77.54; H 8.37. C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 77.61; H 8.29.

**Ацетат 2-ацетил-3-метокси-6-окса-8-изоэстра-1,3,5(10)-триен-17β-ола (XIX)** синтезировали из 2.8 г стероида (XXV) [44] в тех же условиях, что и соединение (XVI). После перекристаллизации из смеси хлороформ–метанол выход целевого продукта 2.54 г (79%), т. пл. 189.5–190.5°C. После очистки методом ВЭЖХ (прибор "Altex", Ultrasphere ODS при градиентном элюировании смесью ацетонитрил–вода) т. пл. 191–192.5°C. Масс-спектр,

$m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 372 (100), 357 (92), 203 (7), 190 (10). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР, δ, м.д.: 0.84 (3H, с, C13-CH<sub>3</sub>), 2.05 (3H, с, CH<sub>3</sub>COO), 2.58 (3H, с, 2-CH<sub>3</sub>CO), 3.82 (3H, с, CH<sub>3</sub>O), 4.6 (1H, т, H17), 6.4 (1H, с, H4) и 7.64 (1H, с, H1). Найдено, %: C 70.73; H 7.82. C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>. Вычислено, %: C 70.94; H 7.58.

**Ацетат 2-ацетил-18-метил-3-метокси-6-окса-8-изоэстра-1,3,5(10)-триен-17β-ола (XX)** получали из 0.88 г соединения (XXVI) [43] в тех же условиях, что и стероид (XVI). После перекристаллизации из смеси этилацетат–гексан выход целевого вещества 0.8 г (80%), т. пл. 205–207.5°C. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 386 (100), 371 (72), 343 (4), 327 (3), 297 (7), 285 (11.5), 271 (4), 230 (12), 179 (11), 163 (6). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР, δ, м.д.: 0.89 (3H, т, C13-CH<sub>3</sub>), 2.01 (3H, с, CH<sub>3</sub>COO), 2.51 (3H, с, 2-CH<sub>3</sub>CO), 3.76 (3H, с, CH<sub>3</sub>O), 4.16 (2H, м, H7), 4.66 (1H, т, H17), 6.31 (1H, с, H4) и 7.61 (1H, с, H1). Найдено, %: C 71.43; H 7.86. C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>. Вычислено, %: C 71.48; H 7.82.

**2-Ацетил-D-гомо-6-окса-8-изоэстрон (XXI).** К раствору 1.3 г ацетата D-гомо-6-окса-8-изоэстрона (XXVII) (приготовленного обычным методом из метилового эфира D-гомо-6-окса-8-изоэстрона (XXVIII) [43]) в 12 мл нитробензола добавляли раствор 1.8 г хлористого алюминия в 12 мл нитробензола при 0°C, реакционную смесь перемешивали 15 мин и оставляли на 12 ч при 5°C. Продукт (XXI) очищали хроматографией на колонке с силикагелем (элюирование бензолом) с последующей кристаллизацией из гексана. Выход 0.93 г (61%), т. пл. 232–235°C. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 328 (100), 313 (35), 285 (3), 272 (6), 257 (7), 243 (3), 229 (23), 215 (5), 203 (4.5), 190 (23), 175 (8), 165 (6). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР, δ, м.д.: 1.05 (3H, с, C13-CH<sub>3</sub>), 2.50 (3H, с, 2-COCH<sub>3</sub>), 4.2 (2H, м, H7), 6.30 (1H, с, H4), 7.43 (1H, с, H1), 12.32 (1H, с, 3-OH). Найдено, %: C 73.22; H 7.61. C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>. Вычислено, %: C 73.15; H 7.37.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McDonnell D.P., Nawaz Z., O'Malley B.W. // *Moll. Cell. Biol.* 1991. V. 11. P. 4350–4355.
2. *Molecular Biology of Steroid and Nuclear Hormone Receptors* / Ed. Freedman L.P. Boston: Birkhauser, 1998.
3. Kuipper G.J.M., Carlsson B., Grandien K., Enmark E., Haggblad J., Nilsson S., Gustaffson J.-A. // *Endocrinology*. 1997. V. 138. P. 863–870.
4. Barkhem T., Carlsson B., Nilsson Y., Enmark E., Gustaffson J.-A., Nilsson S. // *Mol. Pharmacol.* 1998. V. 54. P. 105–112.
5. Levenson A.S., Jordan V.C. // *Cancer Res.* 1998. V. 58. P. 1872–1875.
6. Schafer J.I.M., Liu H., Tonetti D.A., Jordan V.C. // *Cancer Res.* 1999. V. 59. P. 4308–4313.
7. Mitalak B.H., Cohen F.J. // *Drugs.* 1999. V. 57. P. 653–663.
8. Green S., Walter P., Kumar K., Krust A., Bomert J.M., Argos P. // *Nature.* 1986. V. 320. P. 134–139.
9. Green G.L., Gilna P., Waterfield M., Baker A., Hert Y., Shine J. // *Science.* 1986. V. 231. P. 1150–1154.

10. White R., Lees J.A., Needham M., Parker M. // *Mol. Endocrinol.* 1981. V. 1. P. 735–744.
11. Koike S., Sakai M., Maramatsu M. // *Nucl. Acids Res.* 1987. V. 15. P. 2499–2513.
12. G' Htun H., Holth L.T., Walker D., Davie J.R., Hager L. // *Mol. Biol. Cell.* 1999. V. 10. P. 471–486.
13. Cavaillès V., Dauvois S., Danelian P.S., Parker M.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. V. 91. P. 10009–10013.
14. Evans R.M. // *Science.* 1988. V. 240. P. 899–895.
15. Mosselman S., Polman J., Dijkema R. // *FEBS Lett.* 1996. V. 392. P. 49–53.
16. Kuipper G.J.N., Enmark E., Pelto-Huikko N., Nills-son S., Gustaffson J.-A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 5925–5930.
17. Ogawa S., Inoue S., Watanabe T., Hiroi H., Orimo A., Hosoi T., Ouchi Y., Maramatsu M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. V. 243. P. 122–126.
18. Shughrue P.J., Lane M.V., Scrimo P.J., Merchenthaler I. // *Steroids.* 1998. V. 63. P. 498–504.
19. Черняев Г.А., Баркова Т.И., Ананченко С.Н., Со-рокина И.Б., Матарадзе Г.Д., Розен Б.В. // *Биоор-ган. хим.* 1979. Т. 5. С. 869–878.
20. Gonzalez F.B., Neef G., Eder U., Wiechert R., Schill-inger E., Nishino Y. // *Steroids.* 1982. V. 40. P. 171–187.
21. Kaspar P., Witsel H. // *J. Steroid Biochem.* 1985. V. 25. P. 259–265.
22. Корхов В.В., Макушева В.П., Лупанова Г.Е., Ели-сеев И.И., Жуковский Е.А., Бороноева Т.Р., Мар-тынов В.Ф., Шавва А.Г. // *Хим.-фарм. журн.* 1986. Т. 20. С. 574–578.
23. Blaney J.M., Dixon J.S. // *Perspect. Drug Discovery De- sign.* 1993. V. 1. P. 301–319.
24. Colman P.M. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1994. V. 4. P. 868–874.
25. Kuntz I.D. // *Science.* 1992. V. 257. P. 1078–1082.
26. Lengauer T., Rarey M. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1996. V. 6. P. 402–406.
27. Lybrand T.P. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1995. V. 5. P. 224–228.
28. Rarey M., Kramer B., Lengauer Th., Klebe G. // *J. Med. Biol.* 1996. V. 261. P. 470–489.
29. Dewar M.J.S., Zoebish E.G., Healy E.F., Stewart J.J.P. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1985. V. 107. P. 3902–3909.
30. Сизова О.В., Барановский В.И. // *Компьютерное моделирование молекулярной структуры. С.-Пе-тербург, Отдел оперативной полиграфии НИИХ СПбГУ, 2000, 127 с.*
31. Brzozowski A.M., Pike A.C.W., Dauter Z., Hub- bard R.E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Green G.L., Gustaffson J.-A., Carlquist M. // *Nature.* 1997. V. 389. P. 753–758.
32. Anstead G.M., Carlson K.E., Katzenellenbogen J.A. // *Steroids.* 1997. V. 62. P. 268–303.
33. Патент ФРГ 3628189. // *С.А.* 1988. V. 109. 129451w.
34. Bull J.R., de Koning P.D. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* 2000. P. 1003–1013.
35. Kalvoda J., Krähnbühl Ch., Desaulles P.A., Anner G. // *Helv. Chim. Acta.* 1967. Bd. 50. S. 281–288.
36. Ali H., Rousseau L., van Lier J.E. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. P. 264–271.
37. van Brocklin H.F., Liu A., Welch M.J., O'Neil J., Katzenellenbogen J.A. // *Steroids.* 1994. V. 59. P. 34–45.
38. Raynaud J.P., Bouton M.M., Ojasoo T. // *Biochem. Soc. Trans.* 1979. V. 7. P. 747–751.
39. Amiard G., Heymes R., Thuong V.T. // *Bull. Soc. Chem. Fr.* 1972. № 1. P. 272–276.
40. Ruhland T., Thiel M., Kunzer H. // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 42. P. 4751–4752.
41. AboulWafa O.M., El-Din M.M.M., Omar A.M.M.E. // *Steroids.* 1992. V. 57. P. 199–204.
42. Kono S., Matsumura T., Hida H., Sunagava H. // *Nippon Naibun Gakkai Zasshi.* 1987. V. 63. P. 712–717. // *С.А.* 1987. V. 107. 33474.
43. Патент США 3407217 // *С.А.* 1969. V. 70. 88089.
44. Патент России № 2057140 // *С.А.* 1997. V. 126. 60206.

## A Study of the Binding of Estradiol and 8-Isoestradiol to the Estrogen $\alpha$ -Receptor by Molecular Modeling

A. G. Shavva<sup>#</sup>, K. V. Vlasova, S. B. Tsogoeva, M. S. Egorov, and P. P. Yakutseni

<sup>#</sup>Phone: (812) 428-6809; fax: (812) 428-6939; e-mail: nmr@paloma.spbu.ru

Chemical Faculty, St. Petersburg State University, Universitetskii pr. 26, Staryi Peterhof, St. Petersburg, 198504 Russia

The complexes of the estrogen  $\alpha$ -receptor with estradiol and 8-isoestradiol were comparatively analyzed. The computations of ligand–receptor complexes, carried out using the FLEXX program, allowed us to propose a model for the binding of the analogues of 8-isoestradiol. It was found that rings C and D of estradiol and 8-isoestradiol are similarly arranged in the ligand-binding pocket and coincide upon the superposition of the corresponding ligand–receptor complexes, whereas rings A and B do not coincide. The oxygen functions in position 17 of the estradiol analogues of both series coincide upon superposition, whereas the phenol 3-hydroxyl groups are 0.05 Å apart. A comparison of the predicted biological properties of modified estradiol analogues of the natural and 8-iso-series with the available experimental data revealed their similarity. Synthetic 2-acetyl analogues of 8-isoestrogens were found to have no uterotrophic activity, which is also consistent with the proposed model. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2002, vol. 28, no. 3; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words:* estrogen receptors, ligand–receptor complex, molecular modeling