



УДК 547.9:539.194

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ АТОМ-АТОМНЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФУНКЦИЙ СТЕРОИДОВ ДЛЯ РАСЧЕТА ИХ КОНФОРМАЦИЙ

Шаловский И. Л., Баренбойм Г. М.

Научно-исследовательский институт по биологическим испытаниям химических соединений, Кунава, Московская обл.

Овчинников А. А.

Научно-исследовательский физико-химический институт им. Л. Я. Карпова, Москва

Методом минимизации модуля градиента внутренней потенциальной энергии молекулы в экспериментальной конформации определены параметры атом-атомных потенциальных функций для расчета конформаций молекул стероидов. Полученные оптимальные параметры силового поля использовались для расчета конформаций стероидов разных классов. Показано их хорошее согласие с экспериментом. Предсказаны конформации колец D и боковых цепей ряда 18-норстероидов. Предлагается возможное объяснение полвой потери их биологической активности.

Как известно, в настоящее время не существует такого описания силового поля молекул в рамках модели атом-атомных потенциальных функций (ААПФ) *, которое позволяло бы производить расчеты конформаций многих классов органических молекул. К разным классам химических соединений обычно применяются разные системы ААПФ [1], а изучение конформаций каждого нового класса всегда начинается с утомительной процедуры выбора из огромного множества предлагаемых в литературе ААПФ, наиболее подходящих для конкретного случая. Успех использования тех или иных ААПФ определяется не столько их видом, сколько удачным выбором параметров [2]. Поэтому выбор параметров ААПФ для исследуемого класса химических соединений является актуальной задачей в конформационных расчетах.

Возможны два подхода к решению этой задачи. Первый основан на получении параметров ААПФ из опытных данных по кинетике адсорбции, теплоте сублимации, ИК-спектроскопии и др. [4]. В этом случае при переходе от одного класса химических соединений к другому приходится изменять эти параметры и даже вид потенциалов. Этим путем идут в настоящее время большинство исследователей. Недостатки этого подхода состоят в следующем: 1) использование точных значений параметров силового поля молекул, найденных из эксперимента, имеет смысл только при наличии точного вида потенциалов, а так как его нет, экспериментально измеренные параметры должны лишь по порядку величины согласовываться с константами, применяемыми при расчетах конформаций молекул; 2) подбирая «на глазок» параметры ААПФ, исследователь никогда не может прийти к их оптимальным значениям. Произвол в этом выборе дает известную свободу подгонки параметров для описания изучаемой конформации молекулы или ее конформационного перехода. На это было указано в работе [1].

Второй подход связан с решением обратной конформационной задачи — поиском таких параметров ААПФ, при использовании которых расчетная конформация была бы максимально близка к экспериментальной и которые можно было бы использовать для конформационных расчетов по край-

* Сокращение ААПФ используется в дальнейшем для обозначения как атом-атомного принципа (например, «метод ААПФ»), так и потенциальных функций (например, «параметры ААПФ»); ДЭК — допустимая экспериментальная конформация.

ней мере ряда близких аналогов. Идея этого подхода была сформулирована Дашевским [3]. Параметры потенциальных функций обычно получают из конформаций «тестовых» молекул в кристалле минимизацией модуля градиента энергии [4] или с использованием процедуры Ньютона — Рафсона [5]. При этом учитываются либо только межмолекулярные взаимодействия (когда исследуются параметры кристаллической упаковки) [5], либо одновременно и межмолекулярные, и внутримолекулярные [6].

Для большинства молекул стероидов показано, что межмолекулярные силы в кристалле не оказывают значительного влияния на их конформации [7, 8]. Поэтому при получении оптимальных параметров ААПФ молекул стероидов из их конформаций в кристалле можно пренебречь влиянием межмолекулярных сил. В настоящей работе расчет параметров ААПФ проводился методом минимизации модуля градиента внутренней потенциальной энергии молекулы в экспериментальной конформации.

Таким образом, параметры ААПФ мы оцениваем из конформации молекулы в кристалле, затем применяем их для расчета конформаций в вакууме, а расчетные конформации ряда изолированных молекул будем использовать для нахождения их связи с биологической активностью, которая реализуется в растворе. Возможна ли такая **экстраполяция**?

Конечно, нет, если хотя бы одно из упомянутых изменений среды приводит к значительному изменению конформации молекулы. Степень этого изменения можно оценить известным и проверенным методом: теоретически рассчитать какие-либо характеристики молекул в вакууме (например, спектры УФ-поглощения, ЯМР, соотношение концентраций поворотных изомеров и т. д.) и сравнить их с соответствующими опытными данными в растворе. Так можно поступить и в случае стероидов. Еще один метод для такой оценки может дать нам фармакология. Если удастся найти достоверную связь каких-либо характеристик конформаций ряда изолированных молекул лекарств с их биологическими активностями, то это будет означать, что такие конформации не далеки от тех, которые реализуются вблизи места их действия, либо при взаимодействии с рецептором происходят симбатные изменения конформаций молекул.

Целью настоящей работы является расчет оптимальных параметров ААПФ для стероидов и проверка их качества при объяснении известных закономерностей в конформациях кольца *D* и боковой цепи стероидов с последующим прогнозом конформационных особенностей 18-норстероидов, еще не изученных методами кристаллографии.

Принципы расчета конформаций

Конформации молекул рассчитывались методом ААПФ с фиксированными длинами химических связей, которые полагались стандартными, если связь не являлась частью сопряженной системы. В противном случае использовалась формула «длина связи — порядок связи» [9].

Для уменьшения числа независимых переменных атомы водорода добавлялись к неводородному скелету не свободно, а в зависимости от типа неводородного атома и его ближайшего окружения. При определении координат атомов водорода метильной и гидроксильной групп использовалась только одна независимая переменная на каждую группу, остальные присоединялись к скелету жестко [9]. Тригональные центры в процессе расчета конформаций сохранялись плоскими [9]. При использовании этих приближений число независимых переменных молекулы равно $p=2n-5+t+m+g-t$, где n — число неводородных атомов молекулы, m и g — число метильных и гидроксильных групп соответственно, t — число тригональных центров, не связанных с атомами водорода.

Потенциальная энергия молекулы рассчитывалась по аддитивной схеме

$$E = E_c + E_y + E_\tau + E_{nc}.$$

E_c — стягивающий потенциал для замыкания колец. $E_c = Q(l-l_0)^2$, где Q — параметр потенциала, l_0 и l — стандартная и расчетная длины химической связи. Длинам $(n-1)$ валентной связи каждого n -членного кольца молекулы придавались стандартные значения в процессе векторного обхода ее не-

Валентные углы нулевого напряжения и постоянные угловой деформации

Угол	Атомы		Число атомов водорода при вершине угла	Угол нулевого напряжения, θ_0 , град	Константа угловой деформации			
	M ₁	M ₂			символ	начальное значение, ккал·моль ⁻¹ ·град ⁻²		
$\begin{array}{c} \\ M_1 - C - M_2 \\ \end{array}$	C, O	C, O	0	109,47	k_1	0,01751		
			1	111,00	k_2	0,01751		
			2	112,60	k_3	0,01751		
$\begin{array}{c} M_1 = C - M_2 \\ \end{array}$	C	C	1	124,75	k_4	0,02410		
			0	124,75	k_5	0,02410		
			O	C	1	122,00	k_6	0,01425
					0	122,00	k_7	0,01425
					0	122,00	k_8	0,01670
$\begin{array}{c} M_2 - C - M_2 \\ \\ M_1 \end{array}$	C	C, O	0	120,00	k_5	0,02410		
			O	C, O	0	117,00	k_7	0,01425
$\begin{array}{c} M_1 - O - M_2 \\ \\ M_1 \end{array}$	C	C	0	111,00	k_8	0,01670		
			C, O	C, O	0	120,00	k_9	0,01500

Таблица 2

Обозначения и формулы для расчета торсионной составляющей потенциальной энергии E_T^*

Связь	Атомы		Константы имманентного барьера		Формулы для расчета торсионной составляющей потенциальной энергии
	M ₁	M ₂	символ	начальное значение, ккал/моль	
$\begin{array}{c} \quad \\ M_1 - C - C - M_2 \\ \quad \end{array}$	H C, O C, O	H C, O H	a_1	0,1556	$\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 a (1 + \cos 3\varphi)$
			a_2	0,3556	
			$\frac{a_1 + a_2}{2}$	0,2556	
$\begin{array}{c} \quad \\ M_1 = C - C - M_2 \\ \quad \end{array}$	C C O O	H C, O H C, O	a_3	0,3300	$\sum_{i=1}^3 a (1 - \cos 3\varphi)$
			a_4	0,3300	
			a_5	0,1950	
			a_6	0,3000	
			a_6	0,3000	
$\begin{array}{c} \quad \\ M_1 = C - C - M_2 \\ \quad \\ -M_1 - M_2 - \end{array}$	C O	C, O, H C, O, H	a_7	0,5000	$\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^2 a P_{CM_1} (1 - \cos 3\varphi)$
			a_8	0,5000	
$\begin{array}{c} \\ M_1 - C - O - M_2 \\ \end{array}$	H H C, O C, O	H C H C	a_{10}	0,5500	$a P_{M_1 M_2}^2 (\varphi - t)^2$
			a_{11}	0,4500	
			a_{11}	0,4500	
			a_{12}	0,1800	
			a_{12}	0,1800	

* φ — угол вращения вокруг соответствующей связи; t — начальное значение угла вращения. P_{AB} — π -порядок связи А—В по Хьюкелю.

** Размерность параметра a_9 — ккал·моль⁻¹·рад⁻² по причине иной зависимости торсионной составляющей от угла вращения вокруг двойной связи.

водородного скелета [10]. Длина одной связи на каждое кольцо, которая не контролируется векторным обходом, принимает стандартное значение при миллизации E . Величина параметра Q должна быть достаточно большой, чтобы гарантировать малые отклонения расчетных длин связей от их стандартных значений в конечной конформации. Слишком большие

значения Q ухудшают сходимость процесса минимизации. Хорошим компромиссом оказалась величина $Q=10^4$, при использовании которой отклонения l от l_0 не превосходили 0,0005 Å.

E_y — энергия угловой деформации. $E_y = k(\theta - \theta_0)^2$, где k — константа угловой деформации, θ — расчетный валентный угол, θ_0 — угол нулевого напряжения. Используемые углы нулевого напряжения и начальные постоянные их жесткости представлены в табл. 1.

E_τ — «торсионная» составляющая энергии. Формулы ее расчета и начальные значения «пманентных» барьеров вращения (т. е. без учета заместителей) представлены в табл. 2.

$E_{\text{нв}}$ — энергия невалентного взаимодействия. В расчетах использовался универсальный потенциал

$$E_{\text{нв}} = 0,072(z^{-12} - 2z^{-6}),$$

где $z = d_{\text{аб}} / (r_a + r_b)$, $d_{\text{аб}}$ — расстояние между атомами a и b , r_a и r_b — их ван-дер-ваальсовы радиусы. Этот потенциал ведет себя подобно универсальному потенциалу Китайгородского [1] на расстояниях, имеющих место в молекулах стероидов, но в отличие от последнего не имеет ложного максимума и значительно экономит время счета. При расчете $E_{\text{нв}}$ исключались пары соседних атомов, а также присоединенные к одному и тому же атому. Начальные значения ван-дер-ваальсовых радиусов атомов углерода, кислорода и водорода r_c , r_o , r_h были 1,7; 1,4; 1,2 Å соответственно.

Минимизация энергии напряжения молекул проводилась методом Марквардта [11].

При расчетах были использованы оптимальные параметры силового поля, полученные при минимизации модуля градиента внутренней потенциальной энергии тестовых молекул в экспериментальных конформациях.

Метод расчета оптимальных параметров ААПФ

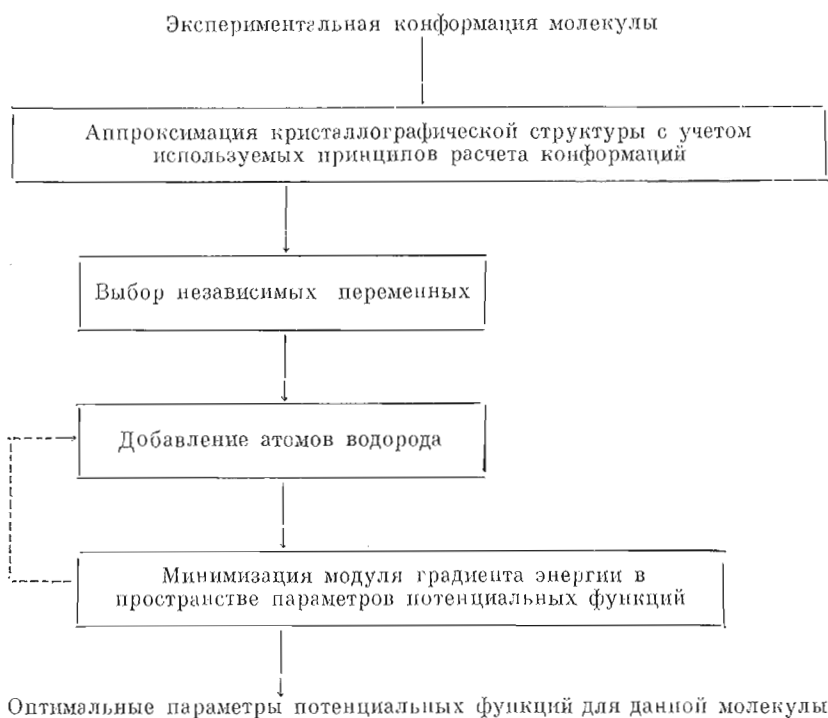
Чтобы энергия экспериментальной конформации молекулы и ее градиент могли быть рассчитаны в рамках предлагаемой схемы, конформация должна быть допустимой, т. е. не противоречащей принципам метода. Конформация неводородного скелета молекулы, которая, с одной стороны, может быть задана принятой системой независимых переменных n , с другой — максимально близка к экспериментальной, будет в дальнейшем называться допустимой экспериментальной конформацией (ДЭК) молекулы. Получение ДЭК из экспериментальной конформации тестовой молекулы является первым этапом при расчете оптимальных параметров ААПФ. Мы приводим здесь принципиальную блок-схему метода определения оптимальных параметров ААПФ.

1. Аппроксимация экспериментальной конформации тестовой молекулы производилась с целью получения ДЭК путем минимизации функционала $\Phi = \Phi^I + \epsilon G$

$$\Phi^I = \sum_{i=1}^{3n} (x_{2i} - x_{p_i})^2, G = \sum_{i=1}^v (l_i - l_{0_i})^2 + \sum_{i=1}^t (\theta_{1i} + \theta_{2i} + \theta_{3i} - 360^\circ)^2$$

в пространстве X_p . Здесь l_i и l_{0_i} — расчетные и стандартные длины валентных связей молекулы; v — число валентных связей; x_{2i} и x_{p_i} — кристаллографическая и расчетная декартовы координаты i -го атома молекулы; n — число неводородных атомов; θ_{1i} , θ_{2i} , θ_{3i} — валентные углы тригонального центра i ; t — число таких центров; $\epsilon = 2500$ — весовой коэффициент (было принято такое минимальное значение ϵ , увеличение которого практически не меняет ДЭК). Функционал Φ состоит из двух частей: Φ^I и G . Первая характеризует отклонение ДЭК от экспериментальной конформации, вторая — степень отклонения ДЭК от использованных принципов расчета конформаций (фиксированные длины связей и плоские тригональные центры). Минимизация функционала Φ в $3n$ -мерном пространстве при большом значении ϵ фактически реализует минимизацию величины Φ^I при ограничении в виде равенства $G=0$.

Принципиальная блок-схема метода определения параметров силового поля молекулы из экспериментальной конформации ее неводородного скелета



2. Добавление атомов водорода к ДЭК тестовой молекулы проводилось согласно принятым нами принципам, поскольку рентгеноструктурный анализ не позволяет локализовать их с достаточной точностью. Если молекула имеет метильные и/или гидроксильные группы, то для локализации атомов водорода этих групп используется минимизация энергии при фиксированном неводородном скелете молекулы. Поскольку при определении координат атомов водорода метильных и гидроксильных групп используются значения параметров ААПФ (ван-дер-ваальсовы радиусы и некоторые торсионные параметры), при их изменении меняется и конформация этих групп. Поэтому в процессе уточнения параметров ААПФ приходится переопределять координаты атомов водорода перед вычислением критерия всякий раз, когда изменяются указанные величины. Эта операция показана на блок-схеме пунктиром.

3. Минимизация модуля градиента потенциальной энергии тестовой молекулы в ДЭК проводилась в пространстве параметров ААПФ: констант угловой упругости k , констант «имманентных» барьеров вращения a и ван-дер-ваальсовых радиусов атомов r .

Поскольку задача состояла в расчете оптимальных параметров ААПФ для молекул стероидов самого разного строения, а не в определении их отдельно для каждой молекулы, была использована следующая методика: 1) расчет набора параметров ААПФ из ДЭК одной молекулы; 2) проверка переносимости найденных параметров на конформации других молекул, расчет которых не требует знания еще не определенных параметров ААПФ; 3) определение новых параметров ААПФ из ДЭК таких молекул, при расчете конформаций которых используются их значения, с фиксированием ранее определенных параметров.

Такой подход позволяет использовать параметры ААПФ, хорошо себя зарекомендовавшие при расчетах конформаций одного класса стероидов, в других классах после определения параметров новых взаимодействий. Хотя ограничения наших программ не позволяют рассчитывать конформации стероидов, содержащих атомы азота, хлора, фтора и т. д., и учесть возможность образования внутримолекулярных водородных свя-

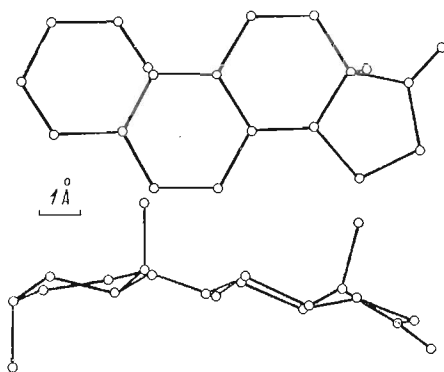


Рис. 1. Совмещенные оптимальные проекции экспериментальной и допустимой экспериментальной конформации (ДЭК) молекулы андростерона. Отрезки прямых соединяют координаты центров неводородных атомов ДЭК стероида. Координаты центров атомов экспериментальной конформации обведены кружками

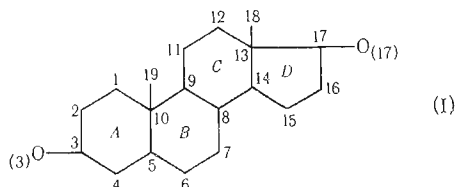
зей, параметры ААПФ, необходимые для учета новых взаимодействий, могут быть легко определены из ДЭК соответствующих молекул и «привязаны» к системе ранее найденных параметров.

Расчет оптимальных параметров ААПФ для стероидов и проверка их качества

Были рассчитаны ДЭК для 10 молекул стероидов. Как правило, ДЭК мало отличалась от соответствующих экспериментальных конформаций. В качестве примера на рис. 1 показаны оптимальные проекции [9] ДЭК андростерона и его экспериментальной конформации. В масштабе рисунка они совпадают. В табл. 3 представлены данные, позволяющие судить о степени их согласия. Каждый критерий согласия здесь имеет смысл предела, который нельзя превзойти при используемых принципах расчета.

s^1 — индекс согласия (см. Приложение). R^1 — фактор расходимости — величина, введенная Дашевским [3] для оценки согласия экспериментальной и рассчитанной методом ААПФ конформаций. Здесь использование этого критерия условно. Кроме критериев согласия в табл. 3 представлены также некоторые параметры неводородных скелетов экспериментальной конформации и ДЭК.

K — кривизна стероидного ядра, определяемая как кривизна сферы, аппроксимирующей 17 его неводородных атомов (см. строение стероидного ядра — структура I). Способ расчета величины K дан в Приложении.



Использование нами этого параметра обуславливается, во-первых, тем, что он является описанием конформации всего стероида (в величине K отражается тип сочленения колец стероида, наличие и природа заместителей и двойных связей), во-вторых, тем, что K является численной мерой известного β -изгиба стероида [12], который некоторые авторы связывают с биологической активностью [8].

Параметры конформации кольца D стероидов (Δ — фазовый угол и Φ_m — амплитуда псевдотвращения) [13] также представлены в табл. 3, поскольку, как известно, при расчетах конформаций труднее всего добиться согласия с опытом в наиболее гибких частях молекулы. Такими частями у стероидов являются боковые цепи и пятичленное кольцо D . Для расчета этих параметров возможно несколько схем [13]. Способ, примененный нами, приведен в Приложении.

В последнем столбце табл. 3 представлено расстояние $O_{(3)}-O_{(17)}$, поскольку воспроизведение его в расчетах для стероидов имеет большое

Аппроксимация экспериментальных конформаций 10 молекул стероидов с учетом использованных принципов расчета конформаций *

Молекула	$\Phi^I \cdot 10^3, \text{Å}^2$	$s^I \cdot 10^3, \text{Å}$	R^I -фактор, %	Кривизна стероидного ядра, $K, \text{Å}^{-1}$	Параметры конформации кольца D		расстояние $O(3) - O(17), \text{Å}$
					Δ , град	Φ_m , град	
Андростерон	4,329	1,316	19	0,0490	-4,9	46,8	9,41
				0,0487	-7,9	45,4	9,39
Эннандростерон	3,069	1,108	19	0,0466	-9,2	45,9	10,84
				0,0462	-11,2	45,3	10,83
Тестостерон	3,195	1,108	17	0,0698	18,1	47,3	10,80
				0,0691	18,9	47,0	10,80
Дигидротестостерон	4,425	1,330	22	0,0654	26,7	50,0	10,68
				0,0654	25,0	48,2	10,65
Эстрон	2,255	0,914	14	0,0006	-16,6	44,0	10,82
				0,0006	-16,7	43,5	10,81
Эстрадиол	5,015	1,389	23	0,0003	20,0	46,3	10,95
				0,0003	20,5	45,9	10,95
5 α -Андростан-3,17-дион	11,278	2,083	32	0,0274	-11,5	47,2	10,69
				0,0276	-10,9	47,4	10,72
5 α -Андростан-3 α ,17 β -диол	5,475	1,510	22	0,0527	18,4	49,0	9,91
				0,0524	19,4	48,8	9,92
5 β -Андростан-3 α ,17 β -диол	3,738	1,248	14	0,1683	27,2	46,8	9,59
				0,1682	27,0	46,7	9,58
17 β -Окси-1,4-андростадиеп-3-он	6,338	1,561	20	0,1501	16,1	47,6	10,24
				0,1506	17,2	48,0	10,23

* Для каждого соединения в последних четырех колонках приведены два значения, характеризующих конформации стероидов: теоретически найденные в настоящей работе и экспериментально определенные в работе [7].

значение, так как эти атомы, вероятно, образуют водородные связи с рецепторами [8].

Данные табл. 3 показывают высокую степень соответствия ДЭЖ эксперименту. Средняя величина среднеквадратичного отклонения расчетных от экспериментальных координат атомов для 10 молекул равна 0,0136 Å, что сравнимо с разницей в конформациях молекул, находящихся в разных окружениях в кристалле (см. ниже). Это обуславливает возможность использования ДЭЖ в качестве эталонной конформации при расчете оптимальных параметров ААПФ. Параметры неводородных скелетов опытной конформации и ДЭЖ очень близки, несмотря на то что средний R^I (фактор расходимости) примерно в 2 раза превосходит границу «полного согласия» (10%), принятую в работе [3]. Можно думать, что полного согласия действительно нет, т. е. фиксированными длинами связей нельзя точно описать структуру стероидов. Однако учет изменения длин связей в стероидах в рамках метода ААПФ не приводит к значительному улучшению воспроизведения их экспериментальных средневзвешенных длин по сравнению с фиксированием их значений. В работе [8] индекс согласия экспериментальных и расчетных длин валентных связей С—С для четырех методов составил 0,0078; 0,0114; 0,0117 и 0,0061, в то время как использование фиксированной длины 1,537 Å дает значение того же порядка — 0,0096.

В табл. 4В приведены данные для сравнения конформаций одних и тех же стероидов в разных кристаллических окружениях. Из нее видно, что они различаются в значительно большей степени, чем ДЭЖ от одной из них. Из вышесказанного можно сделать следующие выводы:

Сравнение расчетных и экспериментальных конформаций молекул стероидов *

Молекула	$\Phi_{II}, \text{\AA}^2$	$s_{II}, \text{\AA}$	R_{II} фактор, %	Кривизна стероидного ядра, $K, \text{\AA}^{-1}$	Параметры конформации кольца D		Расстояние $O_3-O_{17}, \text{\AA}$
					Δ , град	Φ_m , град	
Андростерон	0,166	0,0540	39	0,0313 0,0487	-12,6	46,7	9,49
					-7,9	45,4	9,39
Эпиандростерон	0,136	0,0488	30	0,0308 0,0462	-13,8	46,7	10,90
					-11,2	45,3	10,83
Тестостерон	0,053	0,0305	32	0,0629 0,0691	21,6	48,1	10,77
					18,9	47,0	10,80
Дигидротестостерон	0,653	0,1070	40	0,0244 0,0654	21,4	48,2	10,80
					25,0	48,2	10,65
Эстрон	0,111	0,0453	38	0,0006 0,0006	-10,8	47,2	10,76
					-16,7	43,5	10,81
Эстрадиол	0,205	0,0615	46	0,0003 0,0003	23,8	49,4	10,94
					20,5	45,9	10,95
5 α -Андростан-3,17-дион	0,264	0,0681	49	0,0292 0,0276	-13,0	46,7	10,45
					-10,9	47,4	10,72
5 α -Андростан-3 α ,17 β -диол	0,285	0,0707	43	0,0262 0,0524	20,8	48,1	9,89
					19,4	48,8	9,92
5 β -Андростан-3 α ,17 β -диол	0,179	0,0560	35	0,1837 0,1682	24,7	47,9	9,33
					27,0	46,7	9,58
17 β -Окс-1,4-андростадиеп-3-он	1,149	0,1420	40	0,1018 0,1506	21,5	48,3	10,58
					17,2	48,0	10,23

Б. Сравнение расчетной и экспериментальной конформаций при начальных значениях параметров ААПФ

Эпиандростерон	0,195	0,0585	31	0,0342 0,0462	-31,9	45,8	10,96
					-11,2	45,3	10,83
Дигидротестостерон	0,839	0,1213	42	0,0248 0,0654	23,1	47,5	10,83
					25,0	48,2	10,65

В. Сравнение конформаций молекул, находящихся в разных окружениях в кристаллах

Тестостерон	0,256	0,0670	16	0,0691 0,0508	18,9	47,0	10,80
					20,2	46,6	10,94
Дигидротестостерон	0,313	0,0741	53	0,0381 0,0654	29,2	49,0	10,82
					25,0	48,2	10,65
Эстрон	0,212	0,0626	27	0,0006 0,0006	-6,2	41,2	10,83
					-16,7	43,5	10,81

* См. примечание к табл. 3.

1) при сравнении результатов расчетов конформаций стероидов в вакууме с их конформациями в кристалле можно повысить границу «полного согласия» для фактора R примерно до 25%. В этом случае опытная конформация и ДЭК окажутся совпадающими для экспериментов с достаточно хорошим разрешением ($R_f \leq 7\%$). Если значение этого критерия согласия опытной конформации и ДЭК значительно превосходит указанную границу (что говорит о существенных ошибках даже в длинах химических связей), то такой эксперимент в случае стероидов не может быть критерием правильности расчета;

2) учет искажения длин валентных связей не может дать существенного улучшения согласия расчетных и опытных конформаций стероидов.

Далее были рассчитаны 16 параметров ААПФ из ДЭК трех стероидов: андростерона, эстрона и тестостерона, причем 10 параметров — из первой, два — из второй и четыре — из третьей конформаций. Парамет-

Оптимальные параметры ААПФ, полученные из трех «тестовых» молекул*

Параметр	«Тестовая» молекула		
	Андростерон	Эстрон	Тестостерон
<i>Константы угловой деформации, ккал·моль⁻¹·град⁻²</i>			
k_1	0,0100	0,0100	0,0100
k_2	0,0103	0,0103	0,0103
k_3	0,0128	0,0128	0,0128
k_4	—	0,0241	0,0241
k_5	—	—	0,0258
k_7	0,0101	0,0101	0,0101
k_9	—	0,0425	—
<i>Константы «имманентных» барьеров вращения, ккал·моль⁻¹</i>			
a_1	0,2087	0,2087	0,2087
a_2	0,1617	0,1617	0,1617
a_3	—	—	0,8189
a_4	—	—	0,2640
a_5	0,2521	0,2521	—
a_6	0,5046	0,5046	—
a_7	—	4,8940	4,8940
a_8	—	—	3,0680
a_9^{**}	—	25,0	25,0
<i>Ван-дер-ваальсовы радиусы атомов, Å</i>			
r_C	1,528	1,528	1,528
r_O	1,327	1,327	1,327
r_H	1,179	1,179	1,179

* Подчеркнутые значения параметров ААПФ получены из экспериментальной конформации соответствующей молекулы, остальные величины фиксировались. Прочерки соответствуют параметрам, не используемым при расчете конформации данной молекулы.

** Размерность параметра a_9 и его физический смысл см. в табл. 2.

ры, найденные из предыдущей молекулы, в последующей считались фиксированными. Оптимальные значения параметров ААПФ, а также сам процесс их расчета приведены в табл. 5. Существенно, что оптимальные значения параметров не сильно отличаются от своих начальных значений, т. е. при оптимизации не потеряли их физический смысл. Например, оптимальные ван-дер-ваальсовы радиусы атомов уменьшаются в общепринятой последовательности: $r_C - r_O - r_H$.

Для проверки переносимости оптимальных для тестовых молекул параметров ААПФ на конформации других стероидов были рассчитаны конформации 10 молекул с использованием этих параметров. Результаты приведены в табл. 4А. В ней представлены данные для оценки согласия расчетной и экспериментальной конформаций стероидов. Колонки 4—8 аналогичны соответствующим колонкам табл. 3. Φ^{II} — минимальная сумма квадратов разностей декартовых координат атомов опытной и расчетной конформаций, s^{II} — индекс их согласия (см. Приложение). На рис. 2 показаны совмещенные оптимальные проекции [9] расчетной и опытной конформаций 5 α -андростан-3 $\alpha,17\beta$ -диола. Во избежание загромождения рисунка координаты атомов экспериментальной конформации обведены кружками, причем показаны только такие координаты атомов, которые заметно отличаются от расчетных.

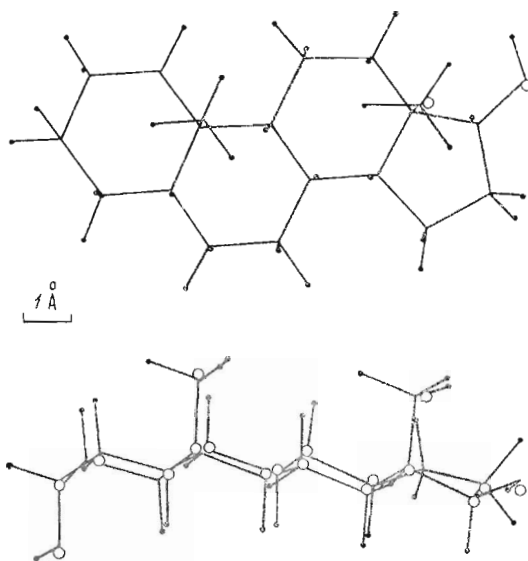


Рис. 2. Совмещенные оптимальные проекции расчетной и экспериментальной конформаций молекулы 5 α -андростан-3 α ,17 β -диола. Кругами обведены координаты центров неводородных атомов экспериментальной конформации стероида, заметно отличающиеся от расчетных координат соответствующих атомов

Для всех молекул табл. 4А полученные параметры ААПФ оказались удачными. Известно эмпирическое правило, которое связывает положение и природу заместителей кольца *D* стероидов с его конформацией [13]. Согласно этому правилу, фазовые углы псевдповращения Δ 17-кетостероидов отрицательны, а 17-оксистероидов положительны; амплитуды Φ_m относительно постоянны ($\approx 47^\circ$), хотя наблюдается легкая тенденция к ее возрастанию симбатно фазовому углу. Данные табл. 4А полностью подтверждают эти положения. Расчетная кривизна стероидного ядра и расстояние $O_{(3)}-O_{(17)}$ близки к экспериментальным значениям.

Для сравнения в табл. 4Б приведены результаты расчетов конформаций с начальными значениями параметров ААПФ. Критерии согласия S^{II} и R^{II} заметно больше, чем в табл. 4А, величина Δ кольца *D* и расстояние $O_{(3)}-O_{(17)}$ эпиандростерона значительно завышены. Это свидетельствует об улучшении согласия расчетной и экспериментальной конформаций стероидов после оптимизации параметров ААПФ.

Сравнение данных табл. 4А и 4В показывает, что конформации стероидов в разных кристаллических окружениях могут различаться не меньше, чем одна из них от расчетной конформации в вакууме. Поскольку мы использовали кристаллографические данные для оценки параметров ААПФ, этот факт говорит о том, что достигнутая точность близка к предельно возможной.

Критерий R^{II} примерно в 2 раза превосходит R^I . Это означает, что расчетная конформация отличается от ДЭК примерно так же, как ДЭК от конформации в кристалле. Определим границы «хорошего согласия» конформаций, расчетной в вакууме и экспериментальной в кристалле $25\% < R \leq 50\%$ (исходя из границы для полного согласия). Близость этого критерия к правой границе уже говорит о существенных изменениях, вносимых кристаллической упаковкой в конформацию стероида. Авторы работы [14] показали, что кольцо *A* 5 α -андростан-3,17-диола в кристалле сильно искажено межмолекулярными силами. Величина фактора расходимости R (49%) подтверждает этот вывод.

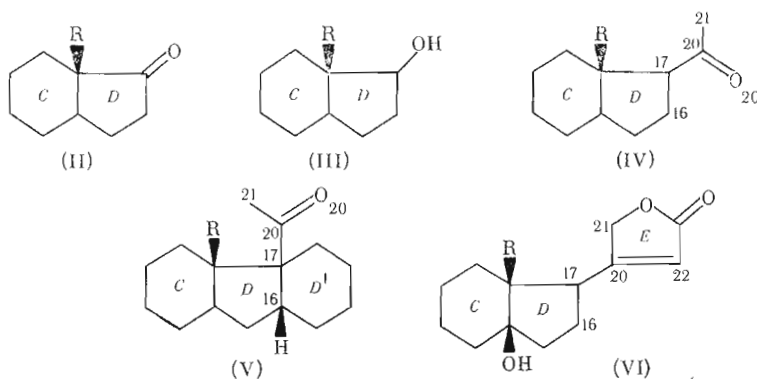
R не может быть единственным критерием согласия расчета и эксперимента. Поворотные изомеры могут иметь близкие значения фактора R , однако это не может свидетельствовать об одинаковом соответствии экспериментальной конформации. Поэтому нам кажется разумным ис-

пользовать его вместе с индексом согласия s^{II} , границей «хорошего» соответствия эксперименту для которого может быть 0,4 Å. Превышение границ хотя бы одним критерием говорит либо о существенном искажении экспериментальной конформации межмолекулярными силами, либо о недостатках принятой системы ААПФ.

Прогнозирование конформаций кольца и боковой цепи 18-норстероидов

Хорошее согласие расчета с опытом даже в гибких частях стероидов позволяет нам предсказать структурные характеристики молекул, экспериментальные конформации которых еще не получены. Такими молекулами могут быть 18-норстероиды [13]. Как известно, среди представителей этого класса нет ни одного, проявляющего заметную биологическую активность [15], что, вероятно, обусловливается значительным искажением их конформаций при отрыве 18-метильной группы. В работе [8] высказано предположение, что причина этого — уменьшение β -изгиба стероидного ядра и, как следствие, увеличение расстояния $O_{(3)}-O_{(17)}$ у 18-норстероидов. Эта гипотеза не может объяснить тот факт, что аналогичные эффекты должны иметь место у 19-норстероидов, среди которых, однако, есть структуры, превосходящие по биологической активности соответствующие природные соединения. Положения 18-й и 19-й метильных групп принципиально различаются тем, что 19-я не может существенно изменить конформации жестких шестичленных колец *A* и *B* стероида, а 18-я может изменить конформации гибких пятичленного кольца *D* и боковой цепи (если она есть). Исследование этого влияния будет предметом нашего предсказания.

В табл. 6 представлены расчетные параметры конформаций пятичленных колец и боковых цепей фрагментов (II)–(VI) стероидов и их экспериментальные значения для соответствующих 18-метилстероидов.



Результаты наших расчетов, а также экспериментальные данные [8] свидетельствуют о том, что конформация пятичленного кольца и боковой цепи стероидов определяется этими фрагментами (хотя известны случаи, когда предельные деформации колец *A* и *B* производят эффект на *D* [13]). Поэтому мы решили ограничиться расчетом конформаций фрагментов, так как это в 2–3 раза сокращает время счета. Для структур (IV) и (V) были рассчитаны две возможные конформации боковой цепи, причем подчеркнутые значения энергии в табл. 6 соответствуют предпочтительной конформации.

Данные табл. 6 показывают хорошее согласие расчетных и экспериментальных конформаций кольца *D* для всех пяти структур 18-метилстероидов. Расчет позволяет объяснить и тонкие эффекты, например уменьшение фазового угла псевдповращения у фрагмента (IV) по сравнению с (III), что не смогли сделать авторы работы [13]. Как видно из табл. 6, увеличение Φ_m симбатно Δ , согласно эмпирическому правилу [13], имеет место лишь в узкой области значений $-36^\circ < \Delta < 36^\circ$.

Сравнение расчетных конформаций кольца D и боковой цепи фрагментов стероидов с экспериментальными данными и прогнозирование их для соответствующих 18-норстероидов *

Молекула	R=CH ₃						R=H					
	E, ккал/моль	Δ, град	Ф _m , град	Конформация кольца D **	C ₁₆ -C ₁₇ -C ₂₀ -O ₂₀ , град	E, ккал/моль	Δ, град	Ф _m , град	Конформация кольца D	C ₁₆ -C ₁₇ -C ₂₀ -O ₂₀ , град		
(II) Эпиандростерон [7]	6,12	-12,4	46,8	C ₂ (16)-C _s (14)	-	7,29	-36,6	47,2	C _s (14)	-		
		-11,2	45,3	C ₂ (16)-C _s (14)	-							
(III) 5α-Андростан-3α,17β-диол [7]	4,20	20,1	48,1	C _s (13)-C ₂ (16)	-	6,08	6,9	48,5	C ₂ (16)	-		
		19,4	48,8	C _s (13)-C ₂ (16)	-							
(IV) 6β-Бромпрогестерон [7]	4,14	15,4	48,3	C ₂ (16)-C _s (13)	138,2	4,78	7,5	48,6	C ₂ (16)	116,6		
	3,18	14,6	47,5	C ₂ (16)-C _s (13)	1,3	5,00	-19,1	47,9	C _s (14)-C ₂ (16)	5,0		
(V) 6β-Бромпрогестерон [7]	2,44	58,5	43,3	C ₂ (16)-C _s (13)	-6,4							
	0,68	57,2	43,3	C _s (13)-C ₂ (15)	149,3	1,01	82,0	46,9	C ₂ (15)-C _s (17)	124,3		
6-Метил-16α,17α-циклогексанпрогестерон [19]		56,7	46,6	C _s (13)-C ₂ (15)	-8,0	1,20	76,0	45,3	C ₂ (15)	11,8		
	21,08	317,7	45,1	C _s (14)	132,3 ***	22,19	293,8	47,9	C ₂ (17)	116,0 ***		
(VI) Строфангидин [20]		311,7	38,5	C _s (14)-C ₂ (17)	128,5							

* Подчеркнутые значения энергии соответствуют предпочтительной из двух возможных конформаций.

** Подчеркнутые значения конформации циклопентана использованы обозначения работы [8].

*** Приведен торсионный угол C₁₆-C₁₇-C₂₀-O₂₀.

Кроме того, приведенные данные указывают на предпочтительность такой конформации боковой цепи фрагментов (IV) и (V), при которой кетонная группа $C_{(20)}=O_{(20)}$ заслоняет связь $C_{(16)}-C_{(17)}$, что согласуется с выводами работы [16]. Величины углов $C_{(16)}-C_{(17)}-C_{(20)}-O_{(20)}$ в наших расчетах для структур (IV) и (V) все же заметно отличаются от эксперимента (на $7,7$ и $11,2^\circ$ соответственно). Это отклонение закономерно и имеет следующее объяснение. Потенциальная яма вращения боковой цепи вокруг связи $C_{(17)}-C_{(20)}$ несимметрична, так как величины двух барьеров вращения значительно различаются [17]. Это приводит к смещению центра тяжести кривой распределения Больцмана от минимума энергии в сторону меньшего барьера, причем в нашем случае — как раз в сторону отрицательных значений угла $C_{(16)}-C_{(17)}-C_{(20)}-O_{(20)}$.

Расчетная конформация кольца D в некоторых случаях может немного отличаться от эксперимента. Примером этого может служить пятичленное кольцо строфантидина (табл. 6). Заметное отличие расчетного фазового угла и амплитуды псевдовращения от эксперимента не может, однако, поставить под сомнение применимость найденных параметров ААФФ к стероидам, поскольку от схемы ААФФ вообще едва ли можно ожидать лучшего.

Как видно из табл. 6, 18-я метильная группа кроме упомянутого влияния на β -изгиб и расстояние $O_{(3)}-O_{(17)}$ действительно значительно меняет конформацию кольца D и боковой цепи. Эта группа: 1) изменяет фазовый угол Δ кольца D таким образом, что его конформация приближается к 13-конверту; 2) слегка уплощает кольцо D (уменьшает величину Φ_m); 3) увеличивает жесткость кольца D (уменьшает разность величин Δ двух конформаций фрагментов (IV) и (V)); 4) при наличии боковой цепи изменяет ее конформацию, причем последний результат согласуется с выводами экспериментальной работы [18]. Все это меняет расположение атома кислорода O_{17} либо O_{20} относительно стероидного ядра, что, по-видимому, нарушает взаимодействие 18-норстероидов с рецепторами.

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. Индекс согласия s [8] в табл. 3 и 4 определялся следующим образом:

$$s = \left[\sum_{i=1}^d (q_{\alpha_i} - q_{\beta_i})^2 / f \right]^{1/2}, \quad f = d - p,$$

где q_{α_i} , q_{β_i} — экспериментальные и расчетные значения какой-либо величины; d — количество таких величин; f — число степеней свободы; p — число определяемых параметров; s — оценка среднеквадратичного отклонения q_{β} от q_{α} .

В данной работе q — декартовы координаты неводородных атомов.

Для индекса s^I $d=3n+v+t$, $p=3n$, где n , v — число неводородных атомов и валентных связей соответственно; t — число тригональных центров, не связанных с атомами водорода. Для индекса s^{II} $d=3n$, $p=6$.

2. Фазовый угол Δ и амплитуда Φ_m псевдовращения пятичленного кольца D стероидов определялись по формулам

$$\text{tg} \frac{\Delta}{2} = \frac{\varphi_2 + \varphi_1 - \varphi_1 - \varphi_3}{3,0777\varphi_0}, \quad \Phi_m = \frac{1}{5} \sum_{i=2,3,4} \frac{\varphi_i}{\cos\left(\frac{\Delta}{2} + 144^\circ i\right)},$$

где φ_i — внутрициклические торсионные углы, их индексы 0–4 соответствуют углам вокруг связей $C_{13}-C_{14}$, $C_{13}-C_{17}$, $C_{16}-C_{17}$, $C_{15}-C_{16}$, $C_{14}-C_{15}$.

3. Кривизна стероидного ядра K рассчитывалась при минимизации функционала

$$U = \sum_{i=1}^{17} \{[(x_i - x_0)^2 + (y_i - y_0)^2 + (z_i - z_0)^2]^{1/2} - \rho\}^2$$

в четырехмерном пространстве x_0, y_0, z_0, ρ . Здесь (x_i, y_i, z_i) и (x_0, y_0, z_0) — декартовы координаты i -го атома стероида и центра сферы радиуса ρ . Кривизна $K=1/\rho$.

1. Дашевский В. Г. Конформации органических молекул. М.: Химия, 1974.
2. Никифорович Г. В. Конформационные расчеты сложных молекул. Минск, Ин-т тепло- и массообмена АН СССР, 1970.
3. Дашевский В. Г. Ж. структ. химии, 1965, т. 6, № 6, с. 888-897.
4. Williams D. E. J. Chem. Phys., 1966, v. 45, № 10, с. 3770-3778.
5. Hagler A. T., Lifson S. Acta crystallogr., 1974, v. B30, № 6, p. 1336-1341.
6. Hugler E., Warshel A. Acta crystallogr., 1974, v. B30, № 8, p. 1822-1826.
7. Duax W. L., Norton D. A. Atlas of steroid structure, v. 4. N. Y.: Plenum Publ. Corp., 1975.
8. Romers C., Allona C., Jacobs H. J. C., De Graaff R. A. G. Specialist periodical reports. The chemical society. Terpenoids and steroids, Burlington House, London, J. W. Arrowsmith Ltd., Bristol, England, 1974, v. 4, p. 531-583.
9. Шамо́вский И. Л., Овчинников А. А., Баренбойм Г. М. Хим.-фармацевт. ж., 1982, № 1, с. 31-38.
10. Луговской А. А., Дашевский В. Г. Ж. структ. химии, 1972, т. 13, № 1, с. 122-129.
11. Marquardt D. W. J. Soc. Industr. Appl. Mathemat., 1963, v. 11, № 3, p. 431-441.
12. Geise H. J., Allona C., Romers C. Tetrahedron, 1967, v. 23, № 1, p. 439-463.
13. Allona C., Geise H. J., Romers C. Tetrahedron, 1968, v. 24, № 1, p. 13-32.
14. Coiro V. M., Giglio E., Lucano A., Puliti R. Acta crystallogr., 1973, v. B29, № 7, p. 1404-1409.
15. Физер Л., Физер М. Стероиды. М.: Мир, 1964, с. 613.
16. Duax W. L., Griffin J. F., Rohrer D. C. J. Amer. Chem. Soc., 1981, v. 103, № 22, p. 6705-6712.
17. Шамо́вский И. Л., Овчинников А. А., Камерницкий А. В., Хажеева З. И., Симонов В. И. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 2, с. 261-265.
18. Rakhit S., Engel C. R. Can. J. Chem., 1962, v. 40, № 14, p. 2163-2170.
19. Цейкинский В. М., Рыбаков В. Б., Симонов В. И., Камерницкий А. В., Куликова Л. Е., Левина И. С. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 9, с. 1409-1414.
20. Gilardi R. D., Flippen T. L. Acta crystallogr., 1973, v. B29, № 9, p. 1842-1848.

Поступила в редакцию
15.IV.1982

ESTIMATION OF THE OPTIMUM PARAMETERS OF ATOM-ATOM POTENTIAL FUNCTIONS OF STEROIDS FOR CALCULATING THEIR CONFORMATIONS

SHAMOVSKY I. L., BARENBOIM G. M., OVCHINNIKOV A. A.

*Institute for Biological Testing of Chemical Compounds, Kupavna;
L. Ya. Karlov Physico-Chemical Institute, Moscow*

The method of minimization of the gradient of molecular potential energy in an experimental conformation was applied to obtain the optimum parameters of steroid potential functions. For this purpose, the nonhydrogen skeleton experimental conformations of three steroid molecules (androsterone, estrone and testosterone) were approximated using the principles of the conformation calculation method (fixed bond lengths and planed trigonal centres). Then the hydrogen atoms were added to the nonhydrogen skeletons of molecules, minimization of the intramolecular energy being used to locate the hydrogen atoms of methyl and hydroxyl groups. From experimental conformations of three steroid molecules 46 parameters of angular, torsion and nonvalence contributions of potential molecule energy were determined. The parameters obtained were used for the calculation of conformations of free steroid molecules of various classes. All these conformations have been shown to be in good agreement with the experiments. The conformations of the ring D and of the side chains of a number of 18-norsteroids have been predicted. A possible explanation of the complete loss of their biological activities has been offered.