



УДК 577.152.313'104.2:547.92:541.69

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ
МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ И АКТИВНОСТЬЮ
КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ

Шамовский И. Л., Баренбойм Г. М.

*Научно-исследовательский институт по биологическим испытаниям
химических соединений, Купавна, Московской обл.*

Овчинников А. А.

Институт химической физики Академии наук СССР, Москва

Проведен расчет конформаций и электронной структуры 44 соединений с известной кардиотонической активностью (карденолиды, карданолиды, буфаденолиды и их аналоги). Атомы O(3), C(13) и C(18) стероидных частей всех конформаций совмещали с соответствующими атомами дигитоксигенина и сопоставляли положение в пространстве карбонильного атома кислорода боковой цепи молекул и их биологическую активность. Показано, что наиболее активные кардиотонические соединения имеют близкие пространственные характеристики. Установлено, что активными являются конформации В карденолидов и А буфаденолидов. Объяснен ряд закономерностей взаимосвязи структуры соединений с их кардиотонической активностью. Сформулированы принципы «конструирования» кардиотонических соединений, на основании которых предложены формулы новых потенциально активных молекул.

В настоящее время известно более 400 сердечных гликозидов природного происхождения и множество их синтетических модификаций [1, 2]. Некоторые из них широко применяются в медицине для компенсации недостаточности сердечной деятельности различного происхождения. Эти препараты в терапевтических дозах повышают силу сокращений миокарда, замедляют частоту сокращений сердца, уменьшают возбудимость миокарда [3]. Большим недостатком сердечных гликозидов является их высокая токсичность. Терапевтическая доза соответствует примерно 60% токсической дозы [4]. Этим объясняются большие усилия исследователей, направленные на поиск новых безопасных кардиотонических средств [5].

Агликоны природных сердечных гликозидов представляют собой стероиды с ненасыщенным пятичленным (карденолиды) или шестичленным (буфаденолиды) лактонным кольцом в 17 β -положении. Сахарная цепь (от одного до пяти моносахаридов), как правило, присоединена к атому C(3) стероида. В природных сердечных гликозидах найдено 35 различных моносахаридов [4].

Кардиотоническое действие сердечных гликозидов обусловливается ингибированием Na⁺, K⁺-АТФ-азы [6]. При присоединении молекул к активному центру (дигиталис-рецептору) Na⁺, K⁺-АТФ-азы карбонильный кислород их лактонного кольца, как полагают, образует водородную связь с рецептором, а остальная часть гликозида обеспечивает стабильность комплекса благодаря ван-дер-ваальсовому и гидрофобному взаимодействию [6, 7]. Сахарная часть гликозидов не играет при этом решающей роли [6]. Сахара, не будучи сами по себе биологически активными, влияют на активность и токсичность соответствующих гликозидов, изменяя их липофильность [8], растворимость, проницаемость через клеточные мембраны, способность связываться с белками крови и тканей [9], повышая концентрацию соединений в сердечной мышце, замедляя детоксикацию в печени [6], уменьшая константу диссоциации комплекса с рецептором [10].

* Здесь и в табл. 3 подчеркнуты конформеры, найденные в кристаллах [4, 16].

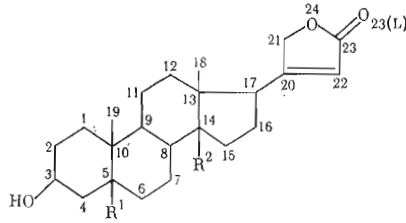
^{2*} Оценена в приближении $\Delta F = \Delta E$ (учет влияния растворителя не приводит к заметным изменениям конформационных и энергетических характеристик [4]).

^{3*} Радиус кривизны стероидного ядра (ρ) определен в работе [14] как радиус сферы, аппроксимирующей координаты 17 неводородных атомов стероидного ядра.

^{4*} В этих соединениях гидроксильная группа O(3) находится в α -конфигурации.

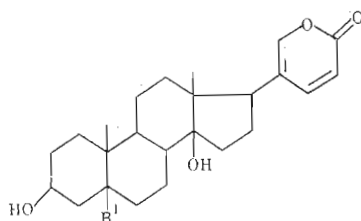
^{5*} Соединения А/В – транс-ряда.

Расчетные параметры конформаций активных карденолидов



№	Соединение	Заместители						Конформ- мер*	Заселен- ность, %	Расстояние O(3)-O(L), Å	ρ ^{3*} , Å
		R ¹	R ²	-OH	=O	Δ	-O-				
1	Дигитоксигенин	H	OH	-	-	-	-	A B	54 46	12,08 13,42	3,49 3,56
2	Дигоксигенин	H	OH	12β	-	-	-	A B	52 48	12,21 13,41	3,52 3,55
3	Гитоксигенин	H	OH	16β	-	-	-	A B	72 28	12,00 13,44	3,46 3,54
4	Сарментогенин	H	OH	11α	-	-	-	A B	55 45	12,00 13,43	3,49 3,57
5	Периплогенин	OH	OH	-	-	-	-	A B	55 45	12,08 13,45	3,47 3,55
6	Строфангидин	OH	OH	-	19	-	-	A B	53 47	12,19 13,47	3,54 3,59
7	Десарогенин	H	OH	-	11	-	-	A B	56 44	12,04 13,42	3,51 3,58
8	Канногенин	H	OH	-	19	-	-	A B	54 46	12,05 13,43	3,53 3,61
9	Строфангидол	OH	OH	19	-	-	-	A B	55 45	12,08 13,44	3,61 3,70
10	Сармутогенин	H	OH	12β	11	-	-	A B	59 41	12,04 13,41	3,49 3,57
11	Каудогенин	H	OH	12α	11	-	-	A B	60 40	12,14 13,40	3,51 3,56
12	Синогенин	H	OH	11α	12	-	-	A B	57 43	11,88 13,45	3,44 3,59
13	Бициндогенин	OH	OH	11α	-	-	-	A B	55 45	12,07 13,47	3,49 3,56
14	Сарверогенин	H	OH	11α	12	-	7-8β	A B	57 43	11,63 13,34	3,23 3,35
15	4,5β-Эпоксидиги- токсигенин	-	OH	-	-	-	4-5β	A B	55 45	12,95 14,40	5,56 5,83
16	4,5α-Эпоксидиги- токсигенин	-	OH	-	-	-	4-5α	A B	54 46	13,02 14,45	6,47 6,97
17	Ксизмалогенин	-	OH	-	-	5-6	-	A B	59 41	13,06 14,47	8,29 8,83
18	Δ ¹⁴ -Дигитоксиге- нин	H	-	-	-	14- -15	-	A B	64 36	13,42 12,89	4,24 4,23
19	Канаригенин	-	OH	-	-	4-5	-	A B	54 46	12,88 14,36	5,81 6,12
20	Δ ⁸⁽¹⁴⁾ -Дигитокси- генин	H	-	-	-	8-14	-	A B	78 22	13,33 12,98	11,84 11,19
21	3-Эпидигитокси- генин ^{4*}	H	OH	-	-	-	-	A B	55 45	11,42 12,81	3,47 3,55
22	3-Эписарментоге- нин ^{4*}	H	OH	11α	-	-	-	A B	55 45	11,37 12,82	3,48 3,56
23	Узаригенин ^{5*}	H	OH	-	-	-	-	A B	54 46	13,16 14,50	8,22 8,54
24	Коротоксигенин ^{5*}	H	OH	-	19	-	-	A B	54 46	13,12 14,46	8,95 9,41
25	14-Дезоксидиги- токсигенин	H	H	-	-	-	-	A B	46 54	11,85 13,34	3,46 3,55

Расчетные параметры конформаций активных буфадиенолидов



№	Соединение	Заместители				Конформер %	Заселенность, %	Расстояние O(3)-O(L), Å	ρ^{3*} , Å
		R ¹	-OH	=O	Δ				
26	Буфалин	H	-	-	-	A B	70 30	13,96 12,99	3,58 3,45
27	Геллебригенин	OH	-	19	-	A	70	14,01	3,63
						B	30	13,05	3,48
28	Геллебригенол	OH	19	-	-	A	69	13,99	3,56
						B	31	13,03	3,42
29	Сцигларицин	-	-	-	4-5	A	70	14,86	6,20
						B	30	13,78	5,68
30	3-Эпibuфалин ^{4*}	H	-	-	-	A	69	13,40	3,59
						B	31	12,48	3,43

^{1*}-^{4*} См. табл. 1.

Для установления молекулярного механизма действия кардиотонических стероидов предстоит решить ряд проблем. Некоторые из них могут быть исследованы теоретически, в частности:

1) полагают, что в растворе существует равновесие двух конформеров карденолидов, различающихся ориентацией лактоонного кольца относительно стероидной части [11, 12]. Необходимо выяснить, который из них ингибирует Na^+ , K^+ -АТФ-азу, т. е. является биологически активным;

2) следует определить, одинаков ли механизм действия у карденолидов и буфадиенолидов [13] (отсутствие кристаллографических данных для буфадиенолидов существенно ограничивает исследования в этой области).

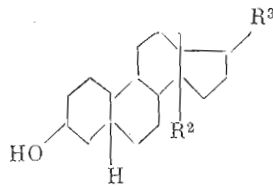
Решение этих проблем позволит целенаправленно «конструировать» принципиально новые кардиотонические соединения.

Целью настоящей работы был расчет конформаций и электронной структуры соединений с известной кардиотонической активностью, изучение зависимости активности от конформации и теоретическое «конструирование» новых потенциально активных соединений.

Был проведен расчет конформаций 44 соединений в рамках модели атом-атомных потенциальных функций (табл. 1-4). При расчетах фиксировались длины валентных связей, которые полагались стандартными, если связь не входит в сопряженную систему, и рассчитывались методом Хюккеля в противном случае. Для определения координат всех атомов молекул производилась минимизация потенциальной энергии молекулы в пространстве независимых внутренних координат — валентных и торсионных углов (всего $2n-5+m+g-t$ -координаты, где n — число неводородных атомов молекулы, m и g — число метильных и гидроксильных групп соответственно, а t — число тригональных центров, не связанных с атомами водорода. Например, при расчете конформаций дигитоксигенина использовалась 51 независимая переменная). При этом учитывались угловая, торсионная и невалентная составляющие энергии. Вид и параметры потенциалов были подобраны нами ранее [14].

Результаты расчетов не противоречат экспериментальным данным и проведенным ранее теоретическим расчетам. Из рис. 1 видно, что расчетная и экспериментальная [15] конформации строфантидина практически совпадают. Этот результат свидетельствует о том, что данным теоретиче-

Расчетные параметры активных аналогов стероидных кардиотонических соединений



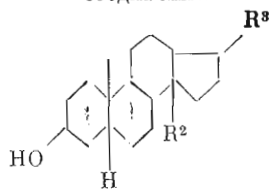
№	Соединение	Заместители			Конформер %	Заселенность, %	Расстояние O(3)-C(L), Å	ρ^{3*} , Å
		R ²	Δ	R ³				
31	Актодигенин	ОН	-		A	99,5	10,44	3,63
					B	~0,5	11,05	3,66
32	(20R)-3β-окси-22-метил-лен-5β-карданолид	ОН	-		A	93	13,39	3,60
					B	0,4	13,30	3,64
					C	6,6	13,41	3,58
33	(20S)-3β-окси-22-метил-лен-5β-карданолид	ОН	-		A	4	13,48	3,64
					B	21	13,13	3,56
					C	75	13,62	3,55
34	(20R)-3β-окси-22-метил-лен-5β-кард-14-енолид	-	14-15		A	71	13,54	4,23
					B	27	13,17	4,22
					C	2	12,84	4,21
35	(20S)-3β-окси-22-метил-лен-5β-кард-14-енолид	-	14-15		A	13	13,59	4,21
					B	15	12,59	4,21
					C	72	13,29	4,23
36	«α,β-Ненасыщенный альдегид» [4]	ОН	-		A	48	11,62	3,45
					B	52	13,41	3,54
37	«Диеновый альдегид» [5]	ОН	-		A	51	13,52	3,46
					B	49	15,83	3,53

~3 См. табл. 1.

ского конформационного анализа можно вполне доверять. Теоретический метод позволяет изучать все низкоэнергетические конформеры молекул. Согласно расчетным значениям энергий, в растворе может существовать равновесие двух конформеров молекул с тригональным атомом C(20) (соединения 1-31, табл. 1-3) и трех конформеров молекул с тетраэдрическим атомом C(20) (соединения 32-35, табл. 3). Полученные нами энергетические профили вращения лактоного кольца вокруг связи C(17)-C(20) оказались аналогичными профилям, приведенным в работе [4], хотя использовались разные вид и параметры силового поля.

Как известно, конформации стероидов в значительной мере определяются типом и положением заместителей [17]. Степень влияния заместителей на форму стероидного ядра можно оценить по изменению его β-изгиба, численной мерой которого является радиус кривизны стероида ρ [14]. Величина ρ отражает особенности геометрии стероидного ядра: характер сочленения колец, тип и положение экзо- и эндоциклических заме-

Расчетные параметры неактивных аналогов стероидных кардиотонических соединений



№	Соединение	Заместители				Конформер %	Заселенность %	Расстояние O(3)-O(L), Å	ρ^{3*} , Å
		R ²	Δ	-O-	R ³				
38	3 β ,14-Диокси-14 β -прегн-17(20)-ен-21,16 β -лактон	OH	-	-		-	-	11,50	3,37
39	17 β H-Дигитоксигенин	OH	-	-		A	59	11,89	3,52
						B	41	11,99	3,51
40	Δ^{16} -Дигитоксигенин	OH	16-17	-		A	60	12,61	3,48
						B	40	12,21	3,48
41	Адинеригенин	-	-	8-14 β		A	2	13,04	4,50
						B	98	12,62	5,44
42	(20R)-Изодинитоксигенин	-	-	14-21		-	-	12,49	3,49
43	(20S)-Изодинитоксигенин	-	-	14-21		-	-	12,37	3,43
44	3 β ,14-Диокси-14 β -тестан-17-он	OH	-	-		-	-	9,80	3,45

1*-3* См. табл. 1.

стителеей. Данные табл. 1-4 свидетельствуют о том, что конформация стероидного ядра слабо зависит от типа боковой цепи и ее конформации, а также от наличия экзоциклических заместителей, но, как правило, значительно искажается при введении эндоциклических двойных связей и эпоксидных колец. Степень этого влияния зависит от положения двойной связи и от положения и конфигурации эпоксидного кольца. Введение двойных связей Δ^{11} (45) и Δ^{16} (40) и эпоксидных колец 7,8 β (14) и 14,21(42, 43) в стероидное ядро дигитоксигенина (1) практически не меняет величину ρ^* . Напротив, двойные связи Δ^4 (19, 29), Δ^5 (17), $\Delta^{8(14)}$ (20), Δ^{14} (18, 34, 35) и эпоксидные кольца 8,14 β (14), 4,5 α (16) и 4,5 β (15) значительно ее увеличивают.

Из этих данных видно, что форма стероидного ядра значительно искажается при введении эндоциклических двойных связей и эпоксидных циклов только в местах соединения *цис*-сочлененных колец А, В и С, D.

На рис. 2 представлены равновесные положения лактонных колец различных соединений. Ориентации пятичленного и шестичленного лактонных колец значительно различаются. Для карденолидов и буфадиенолидов более предпочтительна, как правило, конформация А. Этим, вероятно,

* Здесь и далее в скобках приведен номер соединения в таблицах.

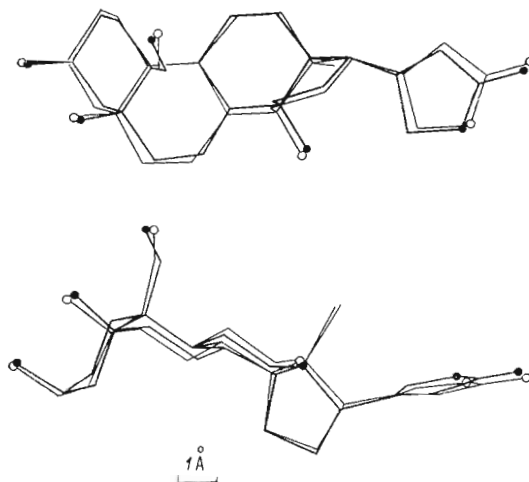


Рис. 1. Проекция расчетной (толстые линии) и экспериментальной (тонкие линии) конформаций строфантинина (6)

объясняется тот факт, что конформация *A* карденолидов чаще встречается в кристаллах (см. табл. 1). Среди трех возможных конформаций лактонного кольца карденолидов (32–35) предпочтительной оказывается либо *A*, либо *C*. Это, по-видимому, обусловливается сильным отталкиванием боковой цепи в конформации *B* от метильной группы *C*(18). Выводы о конформационном предпочтении в карденолидах и карданолидах согласуются с данными работы [4].

В ряду сердечных гликозидов решающей стадией, определяющей их физиологическое действие, является стереоспецифическое взаимодействие с рецептором [6, 7]. Поэтому в данном случае для установления связи структуры с активностью разумно использовать геометрические характеристики конформаций соединений. Поиск метода сравнения значительно различающихся конформаций представляет особую задачу. Решать ее имеет смысл, только предполагая одинаковый механизм действия всех молекул исследуемого ряда. В этом случае может помочь принцип топографического подобия [18]. При взаимодействии молекулы лекарства с рецептором важна определенная взаимная пространственная ориентация ее биологически важных центров. Поиск топографического подобия различных биологически активных соединений состоит в определении таких одинаково ориентированных центров. При этом не важно, какая именно структура молекулы обеспечивает эту ориентацию.

Самый простой и широко используемый способ описания конформаций — это представление ее в виде вектора расстояний между ключевыми гетероатомами [19, 20]. Считается, что ключевыми гетероатомами сердечных агликонов являются атомы *O*(3) и *O*(L), в то время как гидроксильная группа *O*(14) непосредственно не участвует во взаимодействии с рецептором [4, 21, 22]. Можно было бы предположить, что расстояние *O*(3) — *O*(L) определяет степень биологической активности кардиотонических агликонов. Однако данные табл. 1–4 противоречат этому. Действительно, конформации *A* дигитоксигенина (1) и неактивного соединения $17\beta\text{H}$ -дигитоксигенина (39) имеют близкие расстояния *O*(3) — *O*(L): 12,08 и 11,89 Å соответственно. Конформации *B* дигитоксигенина и *C* очень малоактивного соединения (35) имеют также близкие расстояния *O*(3) — *O*(L): 13,42 и 13,29 Å соответственно. Значит, взаимодействие кардиотонических агликонов с рецептором сложнее, чем просто образование водородных связей с атомами *O*(3) и *O*(L).

Этот вывод согласуется с гипотезой Репке [6, 21], что атом *O*(L) активных соединений образует водородную связь с рецептором, а стероидная часть взаимодействует с комплементарным ей участком связывания Na^+ , K^+ -АТФ-азы. Роль взаимной ориентации стероида и атома *O*(L) молекул для проявления биологической активности исследовалась в работах [4, 23].

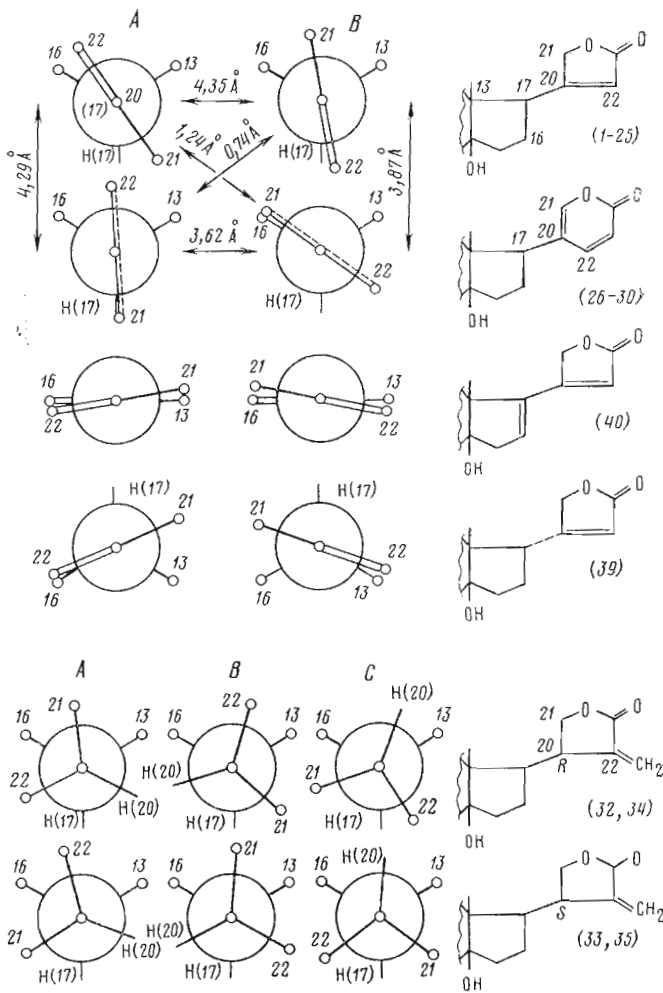


Рис. 2. Ньюменовские проекции вдоль связи C(20)–C(17), характеризующие равновесные ориентации лактонного кольца кардиотонических соединений относительно их стероидного ядра. В скобках указаны номера соответствующих соединений (табл. 1–4). Для конформаций дигитоксигенина (1) и буфалина (26) представлены расстояния между атомами O(L) после совмещения их стероидных частей

Атомы C(1), O(3) и C(19) экспериментально определенных конформаций молекул совмещались и анализировалось отклонение атома O(L) от его положения в конформации A дигитоксигенина. Поскольку конформации колец A и B стероидных частей всех исследуемых молекул были практически идентичны, произвольный выбор базисных атомов был оправдан. В нашем же случае формы стероидного ядра молекул существенно различаются. Поэтому способ совмещения стероидных частей молекул имеет решающее значение. Очевидно, что хорошая корреляция положения атома O(L) с активностью для большого ряда соединений возможна лишь в том случае, если это совмещение имитирует реальное присоединение молекулы к рецептору. Для этого в качестве базисных атомов нужно выбрать биологически важные центры стероидного ядра, какими являются, вероятно, атом O(3) и метильная группа C(18), присутствующие во всех биологически активных стероидах [24]. Хотя 18-норпроизводные кардиотонических соединений к настоящему времени еще не исследовались, можно предположить существенное влияние метильной группы C(18) на физиологическую активность этих соединений.

Все расчетные конформации были совмещены методом наименьших квадратов с конформацией B дигитоксигенина. При этом базисными ато-

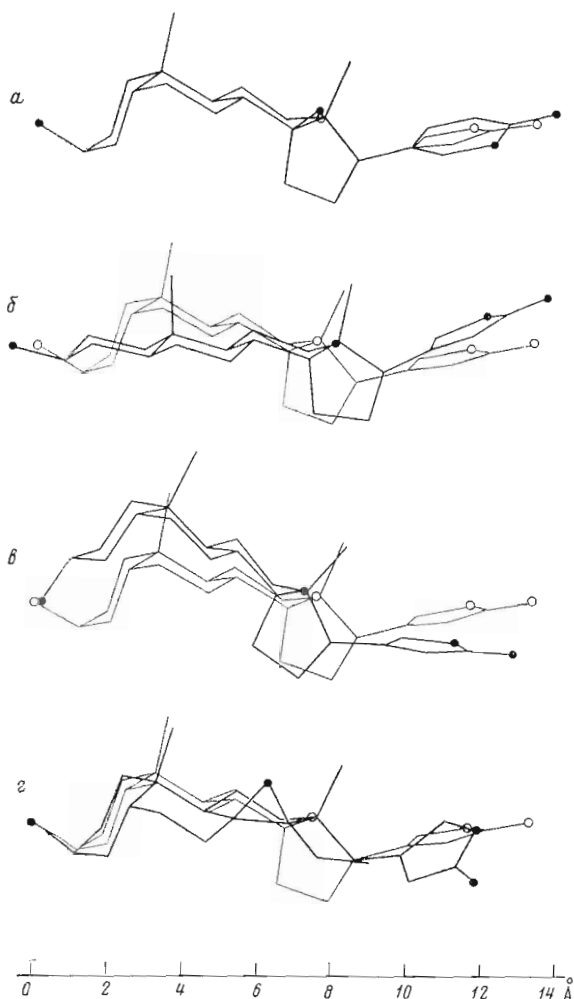


Рис. 3. Примеры пространственного совмещения расчетных конформаций молекул с конформацией *B* дигитоксигенина (тонкие линии): *a* — конформация *A* буфалфина (26); *б* — конформация *B* узаригенина (23); *в* — конформация *B* 3-эпидигитоксигенина (21); *г* — конформация *B* адинергенина (41)

мами были O(3), C(13)* и C(18). Характерные примеры такого совмещения приведены на рис. 3**. Если пространственное совмещение конформаций молекул действительно имитирует их присоединение к дигиталис-рецептору, то, как следует из гипотезы Репке, положение атома O(L) в наиболее активных кардиотоксических агликонах должно ограничиваться узкой областью, из которой этот атом может образовать прочную водородную связь с рецептором. По мере удаления атома O(L) соединений от этой области их биологическая активность должна падать независимо от структуры. Размеры области должны быть сравнимы с длиной водородной связи.

Непосредственное исследование связи между пространственным положением атома O(L) молекул и их биологической активностью затруднительно. Для наглядности хотелось бы отобразить эту трехмерную структуру точек (которыми являются атомы O(L) конформаций) на плоскость таким образом, чтобы в максимально возможной степени были сохранены

* Связь C(13)—C(18) определяет ориентацию метильной группы C(18).

** Выбор конформера дигитоксигенина для совмещения его стероидной части со стероидными частями всех других соединений может быть произвольным ввиду слабого взаимного влияния конформаций боковой цепи и стероидной части молекул. Только для большей наглядности рис. 3 был выбран активный (как показано ниже) конформер *B*.

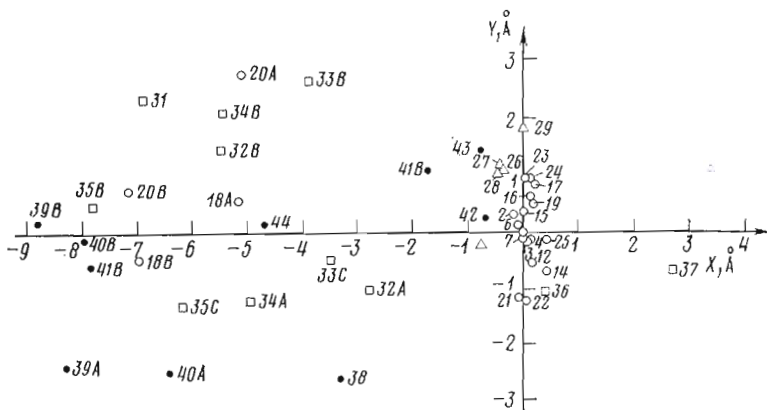


Рис. 4. Нелинейное отображение пространственного расположения атомов O(L) в конформациях *A* карденолидов (1–25), *B* буфадиенолидов (26–30) и их аналогов после операции пространственного совмещения их стероидных частей: соединения 1–25 (○), 26–30 (△), 31–37 (□), 38–44 (●). В начале координат совпали точки, соответствующие соединениям 1, 5, 8–11, 13

расстояния между всеми парами точек. Такое отображение пространства декартовых координат атомов O(L) на плоскость получали путем минимизации функционала

$$G = \sum_{i>j}^k [(l_{ij} - s_{ij})/s_{ij}]^2$$

в пространстве декартовых координат точек плоского отображения (k — число отображаемых точек; l_{ij} и s_{ij} — расстояния между i -й и j -й точками на плоскости и в трехмерном пространстве соответственно) [25]. Величина G представляет собой ошибку нелинейного отображения координат множества точек в пространстве меньшей размерности. Чтобы избежать вырождения функционала относительно двух трансляций и одного поворота множества точек отображения, степень свободы двух произвольных точек отображения ограничивалась: одна из них помещалась в начало координат, а другая имела только одну степень свободы и при минимизации G двигалась вдоль радиус-вектора; все остальные точки имели по две степени свободы. Таким образом, функционал минимизировался в $(2k-3)$ -мерном пространстве. Для минимизации использовался метод Марквардта [26].

Изложенная процедура производилась отдельно для конформаций *A* и *B* карденолидов, так как это позволило значительно уменьшить размерность задачи. С этой же целью предварительно исследовалось топографическое подобие конформаций карденолидов и буфадиенолидов.

Установлено, что положения атомов O(L) карденолидов и буфадиенолидов в одноименных конформациях значительно различаются, а в разноименных близки (рис. 2). Этот вывод не может быть результатом неправильного выбора базисных атомов, так как численные данные, приведенные на рис. 2, получены при совмещении практически совпадающих конформаций стероидных частей молекул дигитоксигенина и буфалина (26). Топографическое подобие разноименных конформаций карденолидов и буфадиенолидов свидетельствует о том, что если активная конформация карденолидов — *A*, то активная конформация буфадиенолидов — *B*, и наоборот.

На рис. 4 приведено нелинейное отображение координат атомов O(L) конформаций *A* карденолидов и *B* буфадиенолидов. Соединения другой структуры представлены на рис. 4 во всех низкоэнергетических конформациях (см. табл. 1), так как нельзя отдать предпочтение какой-либо одной из них. По этой же причине карденолиды 18, 20, 39, 40, 41 со значительно измененной топографией представлены на рис. 4 обеими конформациями. На рис. 5 представлено аналогичное нелинейное отображение координат атомов O(L) конформаций *B* карденолидов и *A* буфадиенолидов.

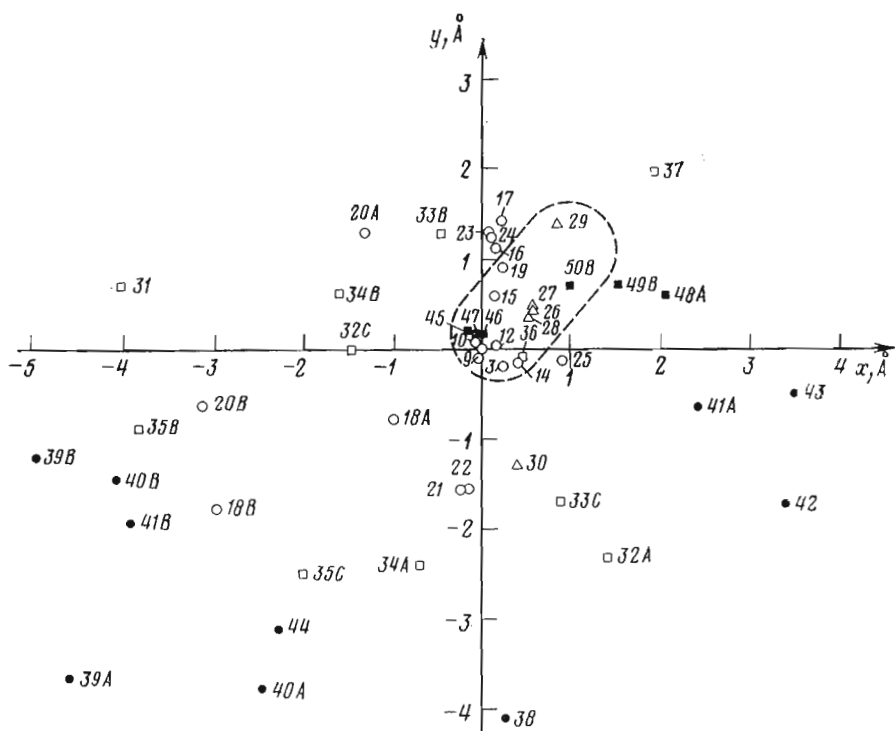


Рис. 5. Нелинейное отображение пространственного расположения атомов O(L) в конформациях В карденолидов, А буфадиенолидов и их аналогов после операции пространственного совмещения их стероидных частей. Условные обозначения см. подпись к рис. 4. В начале координат совпали точки, соответствующие соединениям 1, 2, 4-8, 11, 13. Пунктиром показана активная область

Данные об активности, приведенные в табл. 5, получены на основании сопоставления данных многих литературных источников. Значения активности для всех 44 соединений ряда можно оценить только примерно, поскольку приходится сравнивать разные ее меры: концентрацию для полумаксимального ингибирования Na^+ , K^+ -АТФ-азы из различных животных

Таблица 5

Примерный индекс биологической активности кардиотонических стероидов

Номер соединения	α , отн.ед.	Литература	Номер соединения	α , отн.ед.	Литература
1	1	[1, 2, 4, 5, 13, 22, 27, 28]	23	0,2	[1, 2, 29]
2	0,5	[1, 4, 27]	24	0,2	[1]
3	0,5	[1, 6, 29]	25	0,05	[28]
4	1	[1]	26	10	[6, 29]
5	1	[1]	27	10	[1, 13]
6	1	[1]	28	10	[1]
7	0,4	[1, 4, 6, 13]	29	2	[1, 29]
8	1	[1]	30	0,3	[29]
9	1	[1]	31	0,005	[4]
10	0,5	[1]	32	0,005	[22]
11	0,5	[1]	33	0,005	[4, 22]
12	0,5	[1]	34	0,02	[4, 22]
13	1	[1]	35	0,002	[4, 22]
14	0,3	[1]	36	0,5	[4]
15	0,6	[1]	37	0,005	[5]
16	0,1	[1]	38	0	[2]
17	0,1	[1, 2, 29]	39	0	[2, 6, 29]
18	0,02	[2, 4, 27]	40	0	[1, 2]
19	0,8	[1, 2]	41	0	[1, 2]
20	0,01	[2, 4]	42	0	[21, 29]
21	0,07	[2, 6, 27, 29]	43	0	[21, 29]
22	0,07	[1]	44	0	[2, 6]

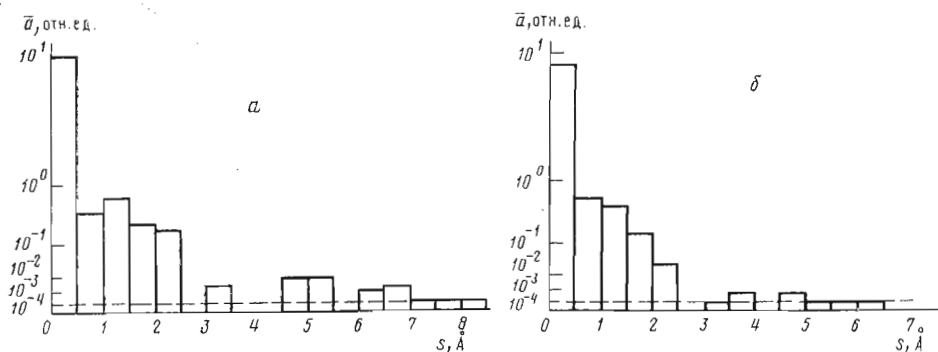


Рис. 6. Гистограммы «средний индекс активности (\bar{a}) — расстояние между атомами O(L) данной молекулы и буфалина (s)», построенные из предположения, что биологически активные конформации карденолидов — A, а буфадиенолидов — B (a) и биологически активные конформации карденолидов — B, а буфадиенолидов — A (б). Пунктиром показан предел чувствительности экспериментальных методов оценки биологической активности

и органов, абсолютно смертельные дозы на кошках для агликонов и гликозидов с одинаковым сахаром, величину инотропного эффекта. Обычно эти данные коррелируют [6, 7, 21, 27, 29], но в некоторых случаях наблюдается отклонение от симбатности [5].

Сравнение данных рис. 4 и 5 с данными табл. 5 показывает, что только отображение на рис. 5 соответствует экспериментальным оценкам активности в свете предполагаемой схемы взаимодействия с рецептором: 1) на рис. 5 действительно существует узкая область, отражающая топографию наиболее активных агликонов; 2) размер этой области согласуется с длиной водородной связи O...N (размер области можно оценить по расстоянию между атомами O(L) дигитоксигенина и сцилларенина (29) — 1,6 Å); 3) в центре области находятся точки, отражающие топографию самых активных кардиотонических соединений — буфадиеполидов (26—28).

Расположение точек на рис. 5 позволяет объяснить тонкие закономерности взаимосвязи структуры соединений с их кардиотонической активностью, например: 1) значительное падение активности карденолидов при введении двойных связей Δ^3 , $\Delta^{8(16)}$, Δ^{14} , Δ^{16} и эпоксидных колец 4,5 α , 14,21, 8,14 β в их стероидное ядро; 2) благоприятное влияние двойной связи Δ^4 и эпоксидного кольца 4,5 β на активность карденолидов [1]; 3) большее падение активности при эпимеризации атома O(3) карденолидов, чем при изменении характера сочленения колец A и B (ср. 21 и 23); 4) весьма малую активность соединения (35); 5) падение активности карденолидов при отрыве гидроксильной группы O(14) и насыщении двойной связи C(20)—C(22).

На рис. 4 нет очевидного разделения активных и неактивных соединений. Конформации неактивных 14,21-эпоксисоединений (42,43) топографически подобны конформациям B буфадиенолидов. Расположение атомов O(L) буфадиенолидов не в центре, а на периферии области наиболее активных соединений противоречит предположению об одинаковом механизме действия карденолидов и буфадиенолидов.

На рис. 6 приведены гистограммы индексов активности соединений, сгруппированных, как и на рис. 4 и 5, в зависимости от отклонений атома O(L) в пространстве от его положения в молекуле буфалина. Очевидно, что только на гистограмме рис. 5 наблюдается закономерное монотонное падение активности при уменьшении топографического подобия самым активным соединениям ряда.

Таким образом, расположение в пространстве атомов O(L) конформаций, представленных на рис. 5, позволяет объяснить экспериментальные данные о физиологической активности соответствующих соединений. Отсюда следуют два важных результата.

1. Именно в этих конформациях они проявляют свою активность. Иными словами, биологически активны конформации B карденолидов и A бу-

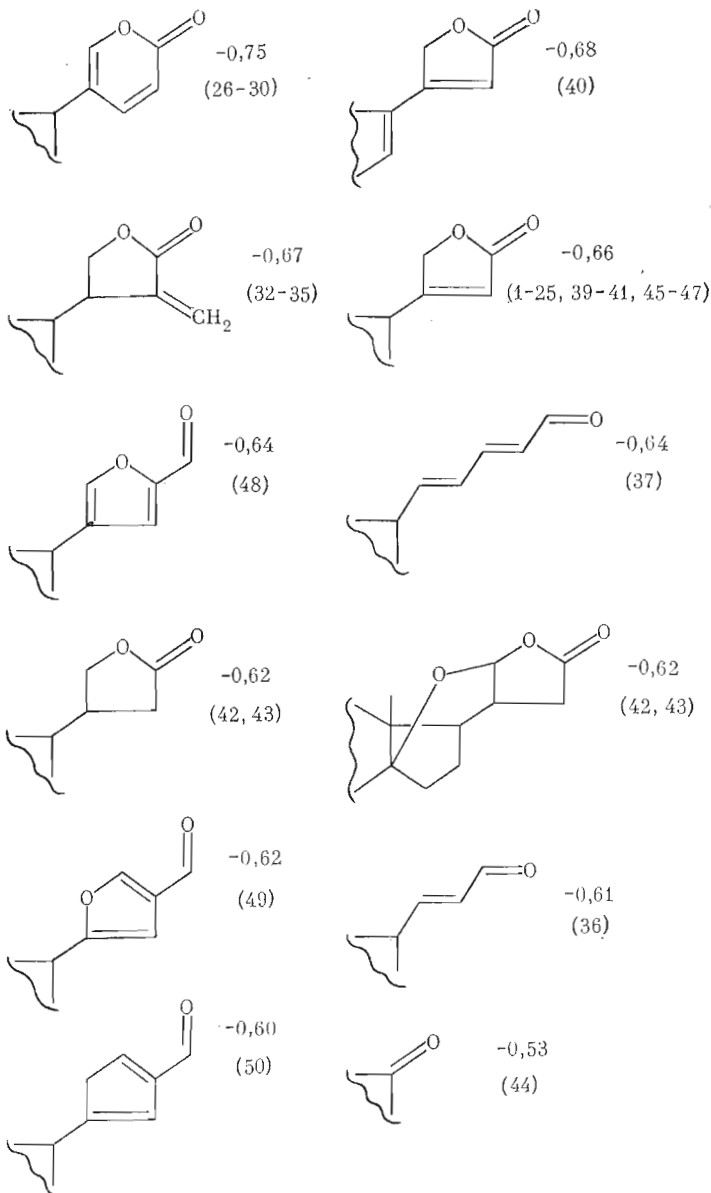


Рис. 7. Заряд на карбонильном атоме кислорода боковых цепей кардиотонических стероидов. Фрагменты расположены в порядке уменьшения заряда. В скобках указаны номера соответствующих соединений в табл. 1-4, 6

фадиенолидов. Этот вывод нельзя сделать исходя из рентгеноструктурных исследований, поскольку, как уже отмечалось, они не проводились для буфадиенолидов, а карденолиды чаще кристаллизуются в конформации *A*. В тех случаях, когда стероидное ядро значительно искажено заместителями, активной может быть и другая конформация, если она оказывается топографически более подобна конформациям соединений в активной области. Так, вероятно, обстоит дело с Δ^{11} -дигитоксигенином (18) и $\Delta^{8(14)}$ -дигитоксигенином (20), активность которых значительно превышает значение на гистограмме, соответствующее их конформации *B*.

2. Использованное совмещение конформаций имитирует их связывание с рецептором. Это означает, что наиболее строгая комплементарность β -стороны стероидной части кардиотонического соединения и связывающего участка рецептора, по-видимому, имеет место в области метильной группы C(18). В других местах возможны отклонения от комплементарности (см. рис. 3). Это положение подтверждается тем, что метильная

группа С(19), как известно, может быть заменена на альдегидную (8,27) и спиртовую (9,28) без значительного влияния на активность [1], и лишь присоединение к ней сахара полностью подавляет биологическое действие [7].

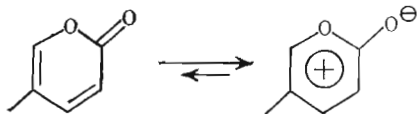
Обращает на себя внимание заметная вытянутость активной области на рис. 5. Она отражает особенности топографии соединений, ингибирующих Na^+ , K^+ -АТФ-азу. Это может быть следствием линейного характера водородной связи либо возможности рецептора слегка изменять свою конформацию только в одном направлении, приспособляясь к конформации кардиотонического соединения.

Активность соединения определяется не только относительным расположением стероида и атома О(L), поскольку практически совпадающие точки на рис. 5 около начала координат соответствуют молекулам с заметно разной активностью. Еще одним фактором, характеризующим активность, является энергия связи стероидной части соединения с рецептором. Эта энергия определяется не только формой стероидного ядра, но и его гидрофобностью, положением и конфигурацией полярных и объемных заместителей. Такая чувствительность активности к тонким изменениям структуры молекул вместе с богатым экспериментальным материалом по кардиотоническим соединениям создает предпосылки для воссоздания топографии дигиталис-рецептора.

Изложенные результаты свидетельствуют о решающем значении конформационных факторов при реализации взаимодействия кардиотонических соединений с рецептором (см. также [22]). Несущественность электронных факторов при сравнении соединений со значительно различающимися конформациями не неожиданна. Если расположение атома О(L) в пространстве при присоединении молекулы к рецептору исключает образование сильной водородной связи, то заряд на этом атоме (который может изменяться лишь в узких пределах) не может исправить положение. Наоборот, если атом О(L) образует водородную связь с рецептором, то величина заряда на нем должна существенно влиять на энергию этой связи. Таким образом, значимость электронных факторов имеет смысл искать только в топографически подобных, наиболее активных соединениях.

Были проведены расчеты зарядов на атомах всех молекул ряда. Заряд σ -остова рассчитывался методом Дель Ре [30], π -электронная плотность сопряженных фрагментов — методом Хюккеля [31]. Полный заряд на атоме полагался равным сумме σ - и π -составляющих. Заряды на карбонильном атоме кислорода некоторых характерных боковых цепей представлены на рис. 7. Интересно, что наиболее активные кардиотоники, буфадиенолиды, имеют самый высокий заряд на атоме О(L).

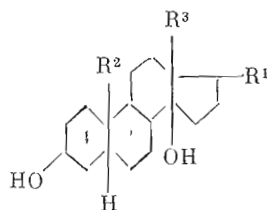
Очень большая величина заряда на карбонильном атоме кислорода кумалинового кольца буфадиенолидов обусловлена донорными свойствами кольцевой π -системы, содержащей семь электронов. Отдавая один электрон атому кислорода, система становится ароматической (согласно правилу Хюккеля); при этом ее энергия значительно понижается:



Изложенные данные свидетельствуют о возможности одного механизма действия (одного места связывания) для карденолидов и буфадиенолидов. Более высокую активность последних объясняют следующие факторы: 1) концентрационный (буфадиенолиды активны в более предпочтительной конформации А); 2) конформационный (атом О(L) расположен в центре активной области); 3) электронный (атом О(L) несет большой заряд).

Установленные закономерности связи между структурой и активностью кардиотоников позволяют целенаправленно «конструировать» потенциально активные соединения. Критериями могут быть расположение атома

Расчетные параметры «сконструированных» стероидных соединений
с предсказанной кардиотонической активностью



№	Соединение	Заместители				Конформер ^{1*}	Заселенность, %	Расстояние O(3)-O(L), Å	ρ ^{3*} , Å	Кардиотоническая активность ^{2*}
		Δ	R ²	R ³	R ¹					
45	Δ ¹¹ -Дигитоксигенин	11-12	CH ₃	CH ₃		A	55	12,10	3,50	+
					B	45	13,48	3,72		
46	19-Нордигитоксигенин	-	H	CH ₃		A	54	12,09	3,61	+
					B	46	13,46	3,70		
47	18-Нордигитоксигенин	-	CH ₃	H		A	76	11,96	3,46	-
					B	24	13,44	3,58		
48	17β-(5-формилфурран-3-ил)-3β,14-окси-14β-тестан	-	CH ₃	CH ₃		A	44	14,02	3,58	+
					B	56	13,44	3,45		
49	17β-(4-формилфурран-2-ил)-3β,14-окси-14β-тестан	-	CH ₃	CH ₃		A	80	13,14	3,44	+
					B	20	14,31	3,57		
50	17β-(3-формилдиглопента-1,3-диенил)-3β,14-окси-14β-тестан	-	CH ₃	CH ₃		A	59	13,19	3,47	++
					B	41	14,48	3,56		

^{1*}-^{3*} См. табл. 1.

^{2*} Для предсказания кардиотонической активности использованы следующие символы: (-) - неактивное, (+) - активное, (++) - высокоактивное соединение.

O(L) молекул в активной области (после применения использованной выше операции пространственного совмещения конформаций), желательнее поближе к ее центру, и высокий заряд на атоме O(L). По этим принципам было «сконструировано» шесть новых молекул (табл. 6). Наиболее топографически подобные конформеру A буфадиенолидов конформации новых молекул приведены на рис. 5. Попадание атома O(L) конформации 18-нордигитоксигенина (47) в активную область условно, поскольку молекула не содержит одного из базисных атомов C(18), и поэтому при совмещении использовался атом H(13).

Исходя из положения атома O(L) новых соединений относительно их стероидных частей (см. рис. 5) можно предсказать их активность. Соединения (47) - (49), вероятно, мало активны или вовсе неактивны, а (45), (46) и (50) активны. Особенно интересно соединение (50), топография которого подобна топографии активной конформации буфадиенолидов.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1) кардиотоническую активность всех рассмотренных соединений можно объяснить с позиций единого механизма действия;

2) реальные конформации кардиотонических соединений вблизи места их действия существенно не отличаются от расчетных конформаций изолированных молекул;

3) биологически активными являются конформации В карденолидов и А буфадиенолидов;

4) биологическая активность сердечных агликонов тесно связана со взаимной пространственной ориентацией гидроксильного атома кислорода О(3), метильной группы С(18) и карбонильного атома кислорода боковой цепи молекул;

5) использованные теоретические методы могут применяться для предварительной оценки кардиотонической активности соединений и целенаправленного «конструирования» новых потенциально активных молекул.

В заключение авторы выражают глубокую благодарность проф. А. В. Камерницкому (ИОХ АН СССР) за плодотворные обсуждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаревич И. Ф., Кемертелидзе Э. П., Кисличенко С. Г., Загула В. В., Резниченко А. А., Колесников Д. Г., Ковалев И. П. Карденолиды и буфадиенолиды. Тбилиси: Мецниереба, 1975.
2. Repke K. R. H., Portius H. J. *Planta med.*, 1971, № 4 (Suppl.), S. 66–78.
3. Кудрин А. Н. Фармакология с основами патофизиологии. М.: Медицина, 1977. с. 309.
4. Rohrer D. C., Fullerton D. S., Yoshioka K., From A. H. L., Ahmed K. ACS symposium series, № 112; computer-assisted drug design, 1979, p. 259–279.
5. Thomas R., Boutagy J., Gelbart A. J. *Pharm. Exp. Therap.*, 1974, v. 191, № 2, p. 219–229.
6. Repke K. R. H., Portius H. J. *Scientiae Pharmaceuticae*. Prague: Czech. med. press, 1966, v. 1, p. 39–57.
7. Мирсалихова И. М., Пальянц Н. Ш., Абубакиров Н. К. *Химия природн. соед.*, 1978, № 1, с. 95–102.
8. Takiura K., Yuki H., Okamoto Y., Takai H., Honda S. *Chem. Pharm. Bull.*, 1974, v. 22, № 10, p. 2263–2269.
9. Akera T., Brody T. M. *Pharm. Rev.*, 1977, v. 29, № 3, p. 187–220.
10. Yoda A., Yoda S. *Mol. Pharm.*, 1978, v. 14, № 4, p. 624–632.
11. Rohrer D. C., Duax W. L., Fullerton D. S. *Acta crystallogr.*, 1976, v. B32, № 10, p. 2893–2895.
12. Rohrer D. C., Fullerton D. S. *Acta crystallogr.*, 1980, v. B36, № 7, p. 1565–1568.
13. Yoda A., Hokin L. E. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1970, v. 40, № 4, p. 880–886.
14. Шамовский И. Л., Баренбойм Г. М., Овчинников А. А. *Биоорган. химия*, 1982, т. 8, № 12, с. 1677–1690.
15. Gilardi R. D., Flippen J. L. *Acta crystallogr.*, 1973, v. B29, № 9, p. 1842–1848.
16. Go K., Kartha G. *Acta crystallogr.*, 1980, v. B36, № 12, p. 3034–3040.
17. Romers C., Altona 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.
18. Kaufman J. J. *Intern. J. Quant. Chem.: Quant. Biol. Symp.*, 1977, № 4, p. 375–412.
19. Kier L. B. *J. Med. Chem.*, 1968, v. 11, № 5, p. 915–919.
20. Kier L. B. *Mol. Pharm.*, 1968, v. 4, № 1, p. 70–76.
21. Repke K. R. H. *Proceedings of the Second International Pharmacological Meeting*. Prague, 1963, v. 4, p. 65–87.
22. Fullerton D. S., Yoshioka K., Rohrer D. C., From A. H. L., Ahmed K. *J. Med. Chem.*, 1979, v. 22, № 5, p. 529–533.
23. Fullerton D. S., Yoshioka K., Rohrer D. C., From A. H. L., Ahmed K. *Mol. Pharm.*, 1981, v. 17, № 1, p. 43–51.
24. Фишер Л., Фишер М. *Стероиды*. М.: Мир, 1964, с. 613.
25. Стьюпер Э., Брюггер У., Джурс П. *Машинный анализ связи химической структуры с биологической активностью*. М.: Мир, 1982, с. 60.
26. Marquardt D. W. *Soc. Industr. Appl. Mathemat.*, 1963, v. 11, № 2, p. 431–441.
27. Flasch H., Heinz N. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1978, v. 304, № 1, p. 37–44.
28. Оницев П. И. *Сердечные гликозиды*. М.: Медгиз, 1960.
29. Repke K. R. H. *Pharmazie*, 1972, B. 27, № 11, S. 693–701.
30. Кругляк Ю. А., Дядюша Г. Г., Курьевич В. А., Подольская Л. М., Каган Г. П. *Методы расчета электронной структуры и спектров молекул*. Киев: Наукова думка, 1969.
31. Базилевский М. В. *Метод молекулярных орбит и реакционная способность органических молекул*. М.: Химия, 1969, с. 63.

Поступила в редакцию
16.XII.1982

THEORETICAL STUDIES OF STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF CARDIOTONIC STEROIDS

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

*Research Institute for Testing Biologically Active Compounds, Kupavna:
Institute of Chemical Physics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The calculations have been performed to determine conformations and assess electronic structure of 44 compounds with known cardiotonic activity. Atoms O(3), C(13) and C(18) of all conformations were superimposed on the same atoms of digitoxigenin, and the relationship between the spatial disposition of the side chain carbonyl oxygen and biological activity of the respective compounds was examined. The most active cardiotonics are shown to share very similar topography. *B*- or *A*-conformations are active for cardenolides or bufadienolides, respectively. Some correlations between the structure and cardiotonic activity were disclosed. The principles for cardiotonic drug design are formulated and some formulas of new potentially active compounds are suggested.