

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 547.92.057

©Коллектив авторов

### ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НОВЫХ ОКСАЗОЛИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 17(20)*E*-ПРЕГНА-5,17(20)-ДИЕНА С ЦИТОХРОМ Р450 17A1

*С.В. Стулов, Н.О. Дугин, М.С. Жаркова, Д.С. Щербинин, А.В. Кузиков,  
В.В. Шумянцева, А.Ю. Мишарин, А.В. Веселовский\**

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,  
Москва, Погодинская ул., д. 10; тел.: 499-245-0768; факс: 499-245-0857; эл. почта: veselov@ibmh.msk.su

С целью поиска новых ингибиторов ключевого фермента биосинтеза андрогенов – 17 $\alpha$ -гидроксилазы-17,20-лиазы (цитохрома Р450 17A1, CYP17A1) – проведён молекулярный докинг шести новых производных оксазолин-содержащих производных 17(20)*E*-прегна-5,17(20)-диена в активный центр кристаллической структуры CYP17A1 (pdb 3ruk). Результаты свидетельствуют, что: 1) образование комплекса с CYP17A1 вызывает изомеризацию всех соединений в энергетически менее выгодный 17(20)*Z*-изомер; 2) стероидный фрагмент всех соединений локализуется практически одинаково; 3) структура оксазолинового фрагмента значительно влияет на его положение относительно гема и энергию образования комплекса; 4) координация атома азота оксазолинового цикла и атома железа гема возможна только при реализации 17(20)*Z*-конформации лиганда с *анти*-ориентацией двойных связей 17(20) и C=N; 5) наличие двух заместителей при C4' оксазолинового цикла значительно ухудшают связывание лиганда; 6) оксазолин- и бензоксазол-содержащие производные 17(20)*E*-прегна-5,17(20)-диена способны эффективно подавлять каталитическую активность CYP17A1 и могут представлять интерес в качестве основы для разработки новых препаратов для лечения андроген-зависимых онкологических заболеваний.

**Ключевые слова:** азотсодержащие производные 17(20)*E*-прегна-5,17(20)-диена, цитохром Р450 17A1, ингибиторы, молекулярное моделирование, электрохимия, корреляция структура-активность

**DOI:** 10.18097/PBMC20166201038

## ВВЕДЕНИЕ

Поиск и исследование ингибиторов 17 $\alpha$ -гидроксилазы-17,20-лиазы (CYP17A1) представляет собой актуальную проблему в связи с использованием этих соединений в качестве лекарственных препаратов при лечении рака простаты – наиболее распространённого онкологического заболевания мужчин в развитых странах [1]. CYP17A1 (монооксигеназа из семейства цитохромов Р450, содержащая в качестве простетической группы порфириновый цикл с центральным атомом Fe) является ключевым ферментом биосинтеза андрогенов. CYP17A1 катализирует 17 $\alpha$ -гидроксилирование стероидного субстрата (прегненолона или прогестерона) и последующее образование андрогена (дегидроэпиандростерона или андростендиона) [2-6]. Многие производные стероидов, модифицированные в кольце D азотсодержащими гетероциклами, являются эффективными и специфичными ингибиторами CYP17A1 [7-13], а андрост-5-ен-17-(3-пиридил)-3 $\beta$ -ол (препарат “абиратерон”) рекомендован к широкому применению в качестве лекарства для лечения рака простаты.

Для стероидных ингибиторов CYP17A1 был предложен фармакофор [13,14], который включал следующие элементы: (i) наличие азотсодержащего заместителя при C17, в котором неподеленная электронная пара локализована на атоме азота; (ii) подходящая пространственная ориентация двух

групп, способных к образованию водородной связи (3 $\beta$ -ОН и атома азота в C17-заместителе), относительно стероидного ядра; (iii) отсутствие атома водорода при C-17; (iv) наличие гидрофобных заместителей с  $\beta$ -стороны стероидного фрагмента.

Недавно нами разработан синтез оксазолиновых производных [17(20)*E*]-прегна-5,17(20)-диена [15, 16], удовлетворяющего требованиям данного фармакофора. Ранее было показано, что 2'-{[(E)-3 $\beta$ -гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол **1** связывается с рекомбинантным препаратом CYP17A1 и ингибирует каталитическую активность фермента подобно абиратерону [17]. В работе [18] сообщалось, что 2'-{[(E)-3 $\beta$ -гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-пиридил (близкий структурный аналог соединения **1**) подавлял рост клеток карциномы простаты подобно абиратерону (известного эффективного ингибитора CYP17A1, используемого в клинической практике как препарата для лечения рака простаты). Исходя из этого можно полагать, что новые азотсодержащие производные 17(20)*E*-прегна-5,17(20)-диена окажутся не менее эффективными ингибиторами CYP17A1, чем ранее известные азотсодержащие производные прегна-5,16-диена [2-13].

Целью данной работы было молекулярное моделирование взаимодействия CYP17A1 с новыми оксазолиновыми производными [17(20)*E*]-прегна-5,17(20)-диена **1 – 6** и поиск в ряду этих соединений новых эффективных ингибиторов CYP17A1.

В данной работе: 1) на основе структурных моделей проведено сравнение локализации соединений **1** – **6** в активном центре CYP17A1; 2) проведён прогноз влияния структуры и стереохимической конфигурации заместителей оксазолинового цикла на способность соединений **1** – **6** подавлять каталитическую активность фермента; 3) проведена экспериментальная оценка ингибиторных свойств соединений **1** – **6** при помощи высокочувствительного электрохимического метода [19-23].

## МЕТОДИКА

### Материалы

В работе использованы оксазолин-содержащие производные [17(20*E*)]-прегна-5,17(20)-диена **1** – **6**, синтезированные как описано в работах [15, 16] (рис. 1); абиратерон, полученный от компании “ChemLeader Ltd” (Шанхай, КНР); препарат рекомбинантного CYP17A1, полученный из ИБОХ НАНБ (Минск, Республика Беларусь); прегненолон, дидодецилдиметиламмоний бромид (DDAB) и тритон X-100, полученные от фирмы “Sigma” (США); трёхконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати (ООО НПП “Автоком”, Россия, <http://www.membrans.ru/>) с графитовым рабочим и вспомогательным электродами (графит фирмы “Achison”, США) и хлорсеребряным электродом сравнения; диаметр рабочего электрода 2 мм.

### Молекулярное моделирование

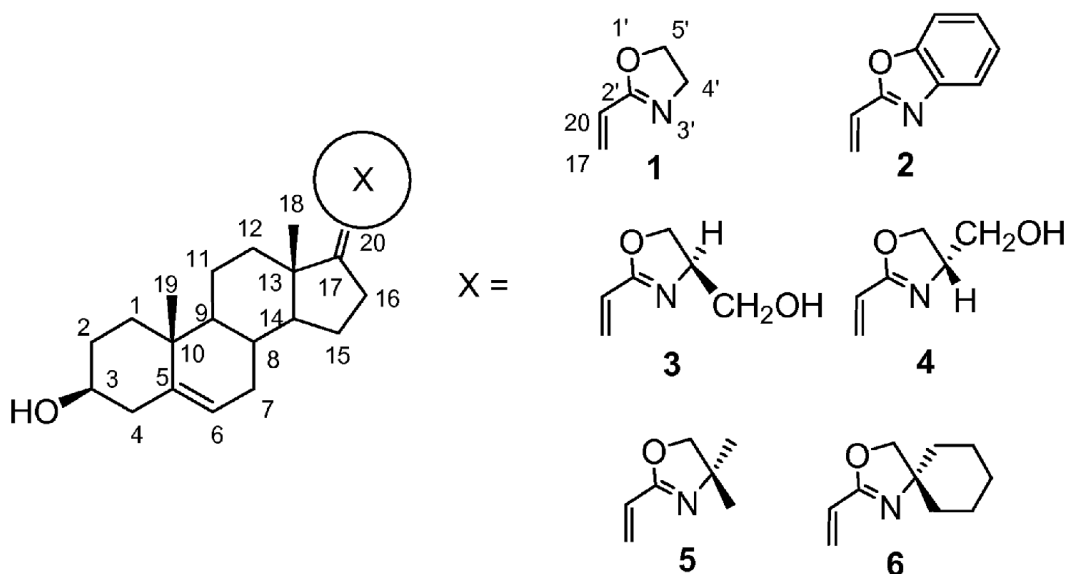
В работе использовали пространственную структуру цитохрома P450 17A1 в комплексе с ингибитором абиратероном, полученную из базы данных пространственных структур

макромолекул PDB (код 3guk). Пространственные структуры низкомолекулярных соединений были построены при помощи программы SYBYL 8.1 (“Tripos Inc.”, США). Оптимизацию структур соединений и белка проводили методом минимизации энергии по методу Пауэлла с использованием силового поля Tripos в вакууме. Значения парциальных атомных зарядов для белка рассчитывали методом Gasteiger-Huckel, а низкомолекулярных лигандов полумпирическим квантохимическим методом AM1.

Моделирование взаимодействия низкомолекулярных соединений с цитохромом P450 17A1 проводили с использованием программы молекулярного докинга DOCK 6.5 (США). Поверхность, доступная для растворителя на мишени для докинга, была рассчитана по алгоритму Конолли с пробным радиусом равным 1,4 Å. Поля для электростатического потенциала и потенциала Ван дер Ваальса мишени были сгенерированы на решётке в шаге 0,3 Å; “отсечка” для нековалентных взаимодействий составляла 12,0 Å. За место связывания лигандов в активном центре фермента принимали область вокруг молекулы абиратерона в пространственной структуре комплекса 3guk на расстоянии 5 Å. Отбор комплексов проводили по величинам оценочной функции Dock. За правильное расположение лиганда принимали конформации, для которых среднеквадратичное отклонение (RMSD) не превышало 1,5 Å по сравнению со стероидным скелетом абиратерона в структуре 3guk.

### Электрохимическое определение ингибирования активности CYP17A1

Электрохимические эксперименты были выполнены с помощью потенциостата AUTO-LAB PGSTAT12 (“Eco Chemie”, Нидерланды),



**Рисунок 1.** Соединения, исследуемые в данной работе:

- 1: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол;
- 2: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-бензо-[*d*]-оксазол;
- 3: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4'(*R*)-гидроксиметил-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол;
- 4: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4'(*S*)-гидроксиметил-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол;
- 5: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4',4'-диметил-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол;
- 6: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-3'-окса-1'-азаспиро[4.5]дец-1'-енил-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол.

снабжённого программным обеспечением GPES. Все электрохимические измерения выполняли при комнатной температуре в 1 мл 0,1 М калий-фосфатного буфера (pH 7,4), содержащего 0,05 М NaCl и 0,04% Тритон X-100.

Для приготовления ферментных электродов на поверхность рабочего графитового электрода наносили 1 мкл 0,1 М DDAВ в хлороформе, после испарения хлороформа (10 мин) наносили 1 мкл 1,8 мкМ СУР17А1. Ферментные электроды оставляли на 12 ч при +4°C во влажной камере, предотвращающей полное высыхание электродов.

Цикловольтамперограммы регистрировали при скорости развертки потенциала 50 мВ/с, в аэробных и анаэробных (при насыщении аргоном) условиях. Хроноамперометрические измерения проводили в 1 мл 0,1 М калий-фосфатного буфера, содержащего 0,05 М NaCl и 0,04% Тритон X-100, pH 7,4, при фиксированном потенциале рабочего электрода -0,5 В и постоянном перемешивании. Титрование проводили этанольным раствором прегненолона (3:1, по объёму) после выхода амперометрической кривой на стационарное значение тока; концентрация прегненолона в электрохимической ячейке варьировала от 10 мкМ до 450 мкМ, концентрация исследуемых соединений от 0,01 мкМ до 50 мкМ.

Электрохимические свойства иммобилизованного СУР17А1 были исследованы нами ранее в работах [17, 23]. Значения  $IC_{50}$  для соединений **1** – **6** рассчитывали по снижению максимального каталитического тока СУР17А1 при хроноамперометрическом титровании раствором прегненолона, как в работе [17].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оксазолин-содержащие производные прегна-5,17(20)*E*-диена **1** – **6** обладают жёсткой структурой (рис. 1); благодаря сопряжению двух двойных связей [17(20) и C=N] стероидный фрагмент и оксазолиновый (в соединениях **1**, **3** – **6**) или бензоксазоловый (в соединении **2**) цикл лежат в одной плоскости. Для каждого из соединений существуют два (примерно равных по энергии) стабильных конформера, различающихся значением двугранного угла  $C_{20}-C_{2'}$

и соответствующих *син*- и *анти*-ориентации двойных связей 17(20) и C=N [18] (значения двугранного угла  $C_{20}-C_{2'}$  для *син*- и *анти*-конформеров составляют ~ 0° и ~ 180°, соответственно [16]). Для соединений с ассимметрическим центром при C4' (**3** и **4**) 4'-гидроксиметильный заместитель выведен из плоскости молекулы и должен располагаться или над, или под этой плоскостью в зависимости от конфигурации хирального центра C4' и величины двугранного угла  $C_{20}-C_{2'}$ .

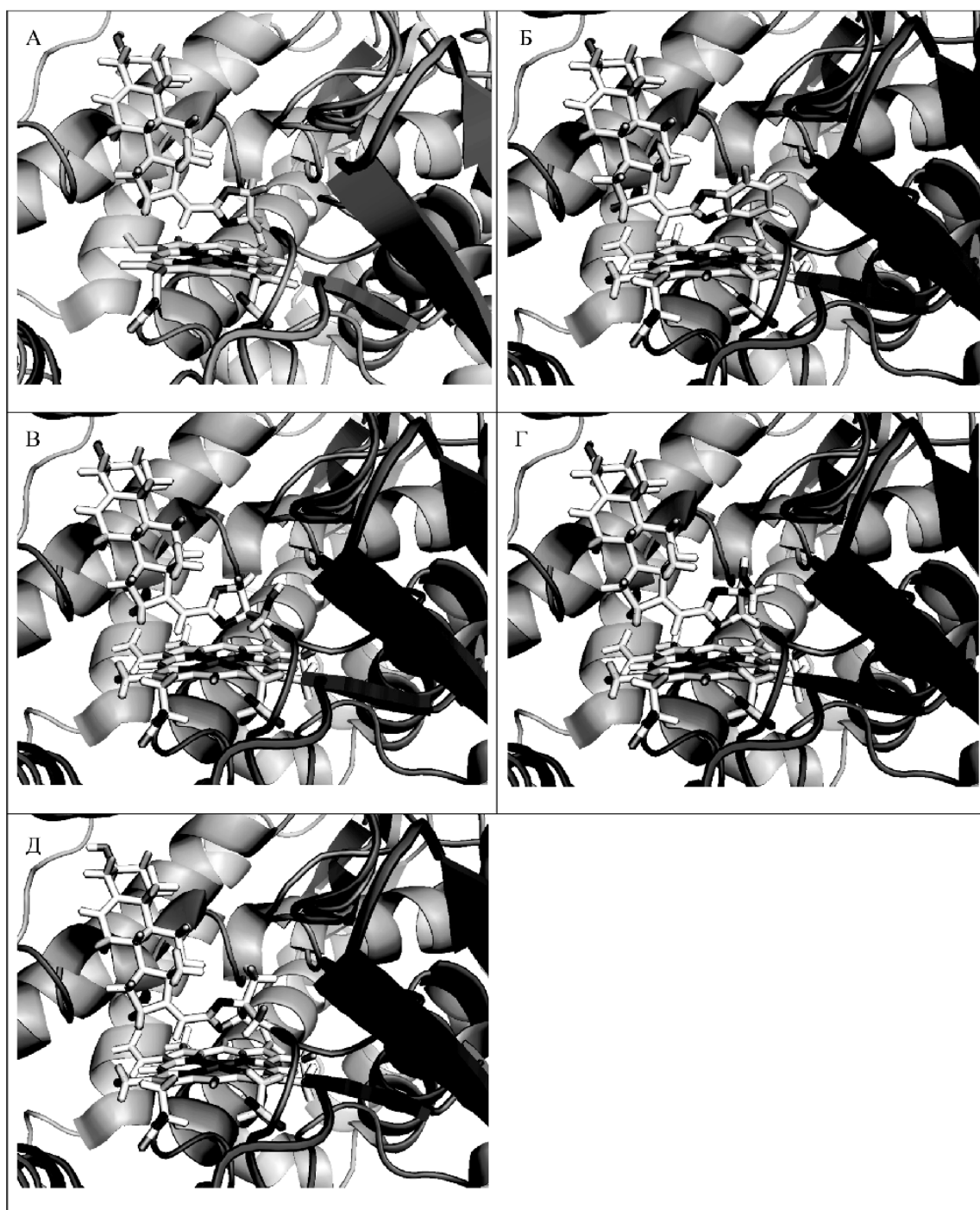
Чтобы оценить сродство соединений **1** – **6** к СУР17А1, мы провели их молекулярный докинг в активный центр фермента (рис. 2). Результаты докинга сравнивали со структурой комплексов СУР17А1 с известными стероидными ингибиторами – 3β-гидрокси-17-(3-пиридил)-андроста-5,16-диеном (абиратероном) и 3β-гидрокси-17-(1*H*-бензимидазол-1-ил)-андроста-5,16-диеном (ТОК-001) (коды pdb id 3swz и 3ruk).

Анализ результатов докинга показал, что за исключением молекулы **6**, остальные соединения могут поместиться в активном центре СУР17А1 рядом с порфириновым кольцом гема. Результаты (рис. 2) свидетельствуют, что стероидный фрагмент соединений **1** – **5** в активном центре фермента локализован практически одинаково. Ранее мы нашли, что при связывании оксазолина **1** (с конфигурацией 17(20)*E*) в активном центре СУР17А1 происходит его изомеризация в энергетически менее выгодный 17(20)*Z*-изомер [17]. При связывании в активном центре СУР17А1 соединений **2** – **5** для них также реализовалась структура 17(20)*Z*-изомера.

Структура азотсодержащего фрагмента в соединениях **1** – **5** оказывала значительное влияние на расположение лиганда относительно гема в активном центре СУР17А. В комплексе СУР17А1 с соединениями **1** и **2** оксазолиновый и бензоксазоловый цикл лиганда занимал положение близкое к *анти*- (таблица); при этом атом N гетероцикла был повернут в сторону гема и способен к образованию координационной связи с атомом Fe (рис. 2А,Б). Расстояния от атомов N до центра гема в комплексах СУР17А1 с соединениями **1** и **2** были одинаковыми (2,8 Å). Связывание в активном центре фермента соединения **1** значительно выгоднее,

Таблица. Результаты молекулярного моделирования взаимодействия соединений **1** – **6** с СУР17А1 и их экспериментально определённая способность подавлять активность фермента.

Соединение	ΔH образования комплекса (ккал / моль)	Конфигурация Δ <sup>17(20)</sup> в комплексе	Значение θ <sub>20-2'</sub> в комплексе (°)	Расстояние от атома N до центра гема в комплексе (Å)	IC <sub>50</sub> (мкМ)
<b>1</b>	-72,8	<i>Z</i>	-162,9	2,8	0,9 ± 0,1
<b>2</b>	-40,9	<i>Z</i>	-151,4	2,8	110 ± 15
<b>3</b>	-66	<i>Z</i>	153,6	3,1	не ингибирует
<b>4</b>	-74,6	<i>Z</i>	15,2	4,8	не ингибирует
<b>5</b>	-37,9	<i>Z</i>	34,2	4,7	13 ± 1,0
<b>6</b>	не связывается				не ингибирует
абиратерон	-71,4	-	-	2,2 (в кристалле)	1,3 ± 0,1
ТОК-001	-65,3	-	-	2,0 (в кристалле)	не определяли



**Рисунок 2.** Докинг соединений **1 - 5** в активный центр CYP17A1.

А - комплекс CYP17A1 - **1**; Б - комплекс CYP17A1 - **2**; В - комплекс CYP17A1 - **3**; Г - комплекс CYP17A1 - **4**; Д - комплекс CYP17A1 - **5**.

чем связывание соединения **2** (таблица), что, очевидно, обусловлено большим объёмом бензоксазолового цикла по сравнению с оксазолиновым.

Оксазолиновые циклы 4'-эпимерных соединений **3** и **4** при связывании в активном центре CYP17A1 были ориентированы различным образом по отношению к гему, что, очевидно, обусловлено конфигурацией хирального центра C4'. Значение двугранного угла  $\theta_{20-2'}$  для 4'(*R*)-изомера (**3**) в активном центре CYP17A1 (153,6°)

свидетельствовало, что оксазолиновый цикл занимает положение близкое к *анти*-, а для 4'(*S*)-изомера (**4**) реализовалась конформация лиганда, соответствующая *син*-ориентации двойных связей 17(20) и C=N (значение двугранного угла  $\theta_{20-2'}$  составляло 15,2°). В комплексе с ферментом атом N оксазолинового цикла 4'(*R*)-изомера (**3**) способен к координации с атомом Fe гема (рис. 2В), а атом N 4'(*S*)-изомера (**4**) – нет (рис. 2Г). Из сравнения рисунков 2В и 2Г следует, что только при таких конформациях лигандов

4'-гидроксиметильный заместитель отстоит от гема и не оказывает стерических препятствий локализации оксазолинового цикла лиганда в области гема. Расстояние от атома N до центра гема в комплексе CYP17A1 – **3** составляло 3,1 Å, а в комплексе CYP17A1 – **4** – 4,8 Å, что указывало на возможность координации атома Fe гема с атомом N лиганда в комплексе CYP17A1 – **3**, и невозможность таковой в комплексе CYP17A1 – **4**.

Наличие двух метильных групп в положении 4' оксазолинового цикла (соединение **5**) приводит к значительному ухудшению связывания лиганда в активном центре CYP17A1 по сравнению с соединением **1**. В комплексе с ферментом оксазолиновый цикл соединения **5** расположен в плоскости, образующей небольшой угол с плоскостью порфиринового цикла гема (рис. 2Д), очевидно, из-за стерических препятствий, обусловленных наличием 4'-заместителей, расположенных по обе стороны плоского оксазолинового цикла. При этом значение двугранного угла  $\theta_{20-2'}$  для соединения **5** в активном центре CYP17A1 составляло 34,2°, а расстояние от атома азота до центра гема – 4,7 Å. Соединение **6** не помещалось в активный центр CYP17A1.

Данные, полученные в результате докинга соединений **1** – **5** (а также известных ингибиторов CYP17A1 абиратерона и ТОК-001 [17, 18, 24, 25]) в активный центр фермента, представлены в таблице.

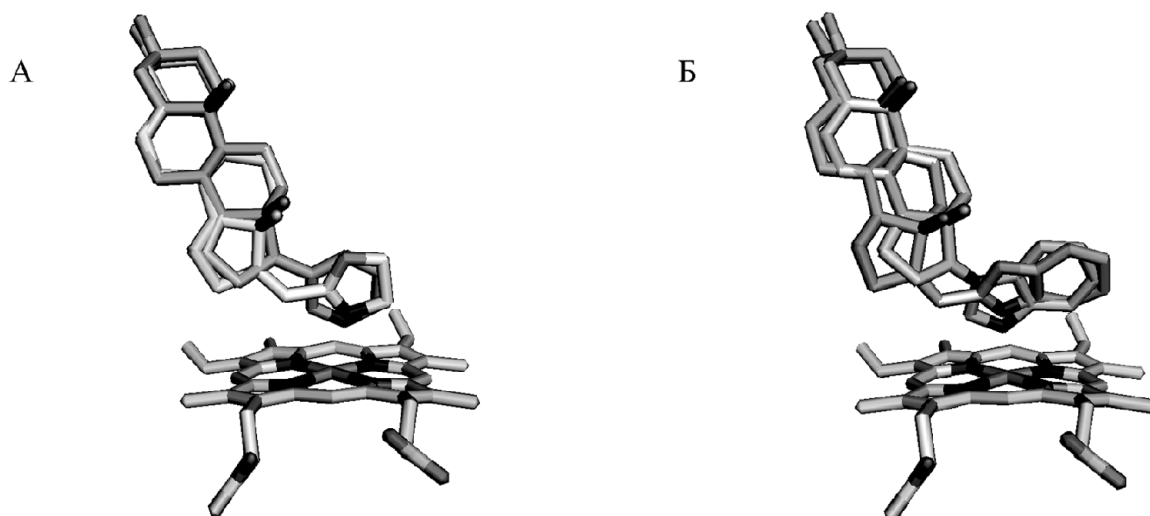
Для экспериментальной проверки способности соединений **1** – **6** ингибировать каталитическую активность CYP17A1 мы использовали разработанный ранее [19-23] высокочувствительный метод, основанный на электрохимическом восстановлении препарата CYP17A1, иммобилизованного на трёхконтактном печатном электроде. Об ингибировании соединениями **1** – **6** каталитической активности CYP17A1 судили по подавлению гидроксирования природного субстрата – прегненолона (см. раздел Методика).

Данные молекулярного моделирования были экспериментально проверены с использованием ферментного электрода с CYP17A1 и абиратерона в качестве препарата сравнения.

В соответствии с данными литературы, абиратерон проявлял свойства эффективного ингибитора CYP17A1 (таблица). Соединения **1** и **2** показали сопоставимую ингибирующую эффективность (таблица). Однако, соединения **3** и **4**, вопреки данным молекулярного моделирования, не проявляли ингибиторной активности в диапазоне исследуемых концентраций. В связи с этим следует отметить, что соединения **3** и **4**, содержащие 4'-гидроксиметильную группу, обладают более высокой полярностью по сравнению с остальными соединениями этой серии. Мы предполагаем, что отсутствие ингибиторного эффекта у соединения **3** обусловлено сниженным сродством к ферменту у оксазолиновых производных, содержащих дополнительную полярную группу. Другой причиной может быть перераспределение заряда в оксазолиновом кольце при присоединении к нему гидрометильной группы – большой вклад в связывании ингибиторов второго типа с цитохромом P450 вносит координационная связь атома азота с железом гема, которое не учитывается при расчёте энергии связывания в оценочной функции.

Представленные результаты позволяют прогнозировать высокий фармакологический потенциал соединений **1** и **2**, сопоставимый с таковым для абиратерона. В активном центре фермента стероидные фрагменты соединения **1** и абиратерона занимают одинаковое положение, а соответствующие оксазолиновый и пиридиновые циклы практически одинаково располагаются относительно гема (рис. 3А).

Соединение **2** можно рассматривать в качестве структурного аналога 3β-гидрокси-17-(1H-бензимидазол-1-ил)-андроста-5,16-диена, известного как ТОК-001, VN/124-1, галетерон. Хотя ТОК-001 ингибировал активность CYP17A1 слабее,



**Рисунок 3.** Модели локализации соединений **1** и **2** в активном центре CYP17A1 в сравнении с известными ингибиторами. А - сравнение соединения **1** (тёмно-серый) и абиратерона (светло-серый); Б - сравнение соединения **2** (тёмно-серый) и ТОК-001 (светло-серый).

чем абиратерон, он эффективно подавлял активность андрогенового рецептора, влиял на его связывание с андрогенами, а также вызывал деградацию андрогенового рецептора [6, 25-27]. В настоящее время ТОК-001 рассматривается как перспективный лекарственный препарат нового поколения для лечения рака простаты, который проходит фазу 2 клинических испытаний [27]. На рисунке 3Б представлены модели локализации соединения **2** и ТОК-001 в активном центре CYP17A1, свидетельствующие о практически одинаковом расположении этих соединений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты данной работы свидетельствуют, что оксазолин- и бензоксазол-содержащие производные 17(20)E-прегна-5,17(20)-диена обладают высоким сродством к активному центру CYP17A1, способны подавлять каталитическую активность фермента и представляют интерес в качестве основы для разработки новых препаратов для лечения андроген-зависимых онкологических заболеваний.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 12-04-31075 мол\_а, 13-04-01668 и 14-04-31233 мол\_а). Авторы признательны член-корр. НАНБ С.А. Усанову (Институт биоорганической химии НАНБ, Беларусь) за предоставление препарата цитохрома P450 17A1.

## ЛИТЕРАТУРА

- Ahmedin J., Freddie B., Melissa M., Center M.P. (2011) CA Cancer J. Clin., **61**, 69-90.
- Bruno R.D., Njar V.C.O. (2007) Bioorg. Med. Chem., **15**, 5047-5060.
- Montgomery R.B., Mostaghel E.A., Vessella R., Hess D.L., Kalhorn T.F., Higano C.S. (2008) Cancer Res., **68**, 4447-4454.
- de Bono J.S., Logothetis C.J., Molina A., Fizazi K., North S., Chu L., Chi K.N., Jones R.J., Goodman O.B. Jr, Saad F. et al. (2011) New Engl. J. Med., **364**, 1995-2005.
- Bruno R.D., Gover T.D., Burger A.M., Brodie A.M., Njar V.C. (2008) Mol. Cancer Ther., **7**, 2828-2836.
- Vasaitis T., Belosay A., Schayowitz A., Khandelwal A., Chopra P., Gediya L.K., Guo Z., Fang H.B., Njar V.C., Brodie A.M. (2008) Mol. Cancer Ther., **7**, 2348-2357.
- Njar V.C.O., Brodie A.M.H. (1999) Curr. Pharm. Des., **5**, 163-180.
- Ling Y., Li J., Liu Y., Kato K., Klus G.T., Brodie A.M. (1997) J. Med. Chem., **40**, 3297-3304.
- Njar V.C.O., Kato K., Nnane I.P., Grigoryev D.N., Long B.J., Brodie A.M.H. (1998) J. Med. Chem., **41**, 902-912.
- Potter G.A., Barrie S.E., Jarman M., Rowlands M.G. (1995) J. Med. Chem., **38**, 2463-2471.
- Hartmann R.W., Hector M., Haidar S., Ehmer P.B., Reichert W., Jose J. (2000) J. Med. Chem., **43**, 4266-4277.
- Hakki T., Bernhardt R. (2006) Pharmacol. Ther., **111**, 27-52.
- Clement O.O., Freeman C.M., Hartmann R.W., Handratta V.D., Vasaitis T.S., Brodie A.M.H., Njar V.C.O. (2003) J. Med. Chem., **46**, 2345-2351.
- Baston E., Leroux F.R. (2007) Recent Pat. Anti-Cancer Drug Disc., **2**, 31-58.
- Stulov S.V., Tkachev Y.V., Novikov R.A., Zavialova M.G., Timofeev V.P., Misharin A.Y. (2012) Steroids, **77**, 77-84.
- Stulov S.V., Mankevich O.V., Novikov R.A., Tkachev Y.V., Timofeev V.P., Dugin N.O., Pozdnev V.F., Fedyushkina I.V., Scherbinin D.V., Veselovsky A.V., Misharin A.Y. (2013) Steroids, **78**, 521-527.
- Kuzikov A.V., Dugin N.O., Stulov S.V., Scherbinin D.V., Zharkova M.S., Tkachev Y.V., Timofeev V.P., Veselovsky A.V., Shumyantseva V.V., Misharin A.Y. (2014) Steroids, **88**, 66-71.
- Ajducovic J.J., Djurenic E.A., Petri E.T., Klisuric O.R., Celic A.S., Sakac M.N., Jakimov D.S., Penov Gasi K.M. (2013) Bioorg. Med. Chem., **21**, 7257-7266.
- Shumyantseva V.V., Ivanov Y.D., Bistolas N., Sheller F.W., Archakov A.I., Wollenberger U. (2004) Anal. Chem., **76**, 6046-6052.
- Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Archakov A.I. (2005) J. Inorg. Biochem., **99**, 1051-1063.
- Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Rudakov Y.O., Kuznetsova G.P., Samenkova N.F., Lisitsa A.V., Karusina I.I., Archakov A.I. (2007) J. Inorg. Biochem., **101**, 859-865.
- Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Suprun E.V., Chalenko Y.M., Vagin M.Y., Rudakov Y.O., Shatskaya M.A., Archakov A.I. (2011) Biochim. Biophys. Acta, **1814**, 194-201.
- Шумянцева В.В., Булко Т.В., Мишарин А.Ю., Арчаков А.И. (2011) Биомед. химия, **57**, 402-409.
- DeVore N.M., Scott E.E. (2012) Nature, **482**(7383), 116-119.
- Purushottamachar P., Godbole A.M., Gediya L.K., Martin M.A., Vasaitis T.S., Kweigir-Afful A.K., Ramalingam S., Ates-Alagoz Z., Njar V.C.O. (2013) J. Med. Chem., **56**, 4880-4898.
- Vasaitis T.S., Njar V.C.O. (2010) Future Med. Chem., **2**, 667-680.
- Bruno R.D., Vasaitis T.S., Gediya L.K., Purushottamachar P., Godbole A.M., Ates-Alagoz Z., Brody A.M., Njar V.C.O. (2011) Steroids, **76**, 1268-1279.

Поступила: 01. 09. 2014.  
Принята к печати: 06. 10. 2014.

INTERACTION OF NOVEL OXAZOLINE DERIVATIVES OF 17(20)*E*-PREGNA-5,17(20)-DIENE  
WITH CYTOCHROME P450 17A1

*S.V. Stulov, N.O. Dugin, M.S. Zharkova, D.S. Shcherbinin, A.V. Kuzikov, V.V. Shumyantseva,  
A.Yu. Misharin, A.V. Veselovsky*

Institute of Biomedical Chemistry,  
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; tel.: 499-245-0768; fax: 499-245-0857; e-mail: veselov@ibmh.msk.su

In order to find novel inhibitors of 17 $\alpha$ -hydroxylase-17,20-lyase (cytochrome P450 17A1, CYP17A1), a key enzyme of biosynthesis of androgens, molecular docking of six new oxazoline-containing derivatives 17(20)*E*-pregna-5,17(20)-diene has been carried out to the active site of the crystal structure of CYP17A1 (pdb 3ruk). Results of this study indicate that: 1) complex formation of docked compounds with CYP17A1 causes their isomerization in energetically less favorable 17(20)*Z*-isomer; 2) the localization of the steroid moiety of all compounds in the active site is basically the same; 3) the structure of the oxazoline moiety significantly influences its position relative to heme as well as the energy of complex formation; 4) coordination of the nitrogen atom of the oxazoline moiety and the heme iron is only possible in the 17(20)*Z*-conformation with anti oriented double bonds 17(20), and C=N; 5) the presence of two substituents at C4' of the oxazoline moiety significantly impairs ligand binding; 6) oxazoline - and benzoxazole-containing derivatives 17(20)*E*-pregna-5,17(20)-diene can effectively inhibit the catalytic activity CYP17A1 and may be of interest as a basis for the development of new drugs for the treatment of androgen-dependent cancer.

**Key words:** nitrogen-containing derivatives of 17(20)*E*-pregna-5,17(20)-diene, cytochrome P450 17A1, inhibitors, molecular modeling, electrochemistry, structure-activity relationships