Биомедицинская химия, 2016 том 62, вып. 1, с. 38-44.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 547.92.057
©Коллектив авторов

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НОВЫХ ОКСАЗОЛИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 17(20)*E*-ПРЕГНА-5,17(20)-ДИЕНА С ЦИТОХРОМОМ Р450 17А1

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 – 17α-гидроксилазы-17,20-лиазы (цитохрома Р450 17А1, 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 лигада с *анти*-ориентацией двойных связей 17(20) и C=N; 5) наличие двух заместителей при С4’ 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 17А1, ингибиторы, молекулярное моделирование, электрохимия, корреляция структура-активность

DOI: 10.18097/PBMC20166201038

ВВЕДЕНИЕ

Поиск и исследование ингибиторов 17α-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 17α-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)-3β-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 С17, в котором неподеленная электронная пара локализована на атоме азота; (ii) подходящая пространственная ориентация двух групп, способных к образованию водородной связи (3β-ОН и атома азота в С17-заместителе), относительно стероидного ядра; (iii) отсутствие атома водорода при С-17; (iv) наличие гидрофобных заместителей с β-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)-3β-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)-3β-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.

* - адресат для переписки

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 оказазолинового 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 рекомбинантого 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 3ruk). 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 полуэмпирическим 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 шагом 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 3ruk 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 3ruk.

Электрохимическое определение ингибирования активности CYP17A1

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

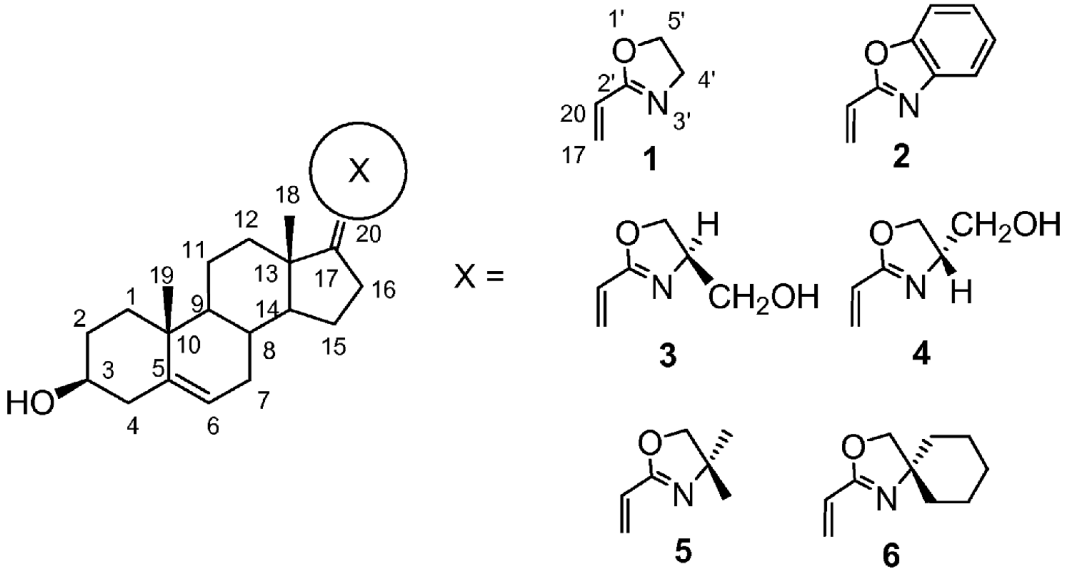

Рисунок 1. Соединения, исследуемые в данной работе:
1: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол;
2: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-бензо-[*d*]-оксазол;
3: 2'-{[(*E*)-3β-гидроксиандрост-5-ен-17-илиден]-метил}-4'(*R*)-гидроксиметил-4',5'-дигидро-1',3'-оксазол;
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 DDAB в хлороформе, после испарения хлороформа (10 мин) наносили 1 мкл 1,8 мкМ CYP17A1. 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 CYP17A1 были исследованы нами ранее в работах [17, 23]. Значения IC_{50} для соединений **1 – 6** рассчитывали по снижению максимального каталитического тока CYP17A1 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 $C_{20\text{-}C2'}$ и соответствующих *син*- и *анти*-ориентации двойных связей 17(20) и C=N [18] (значения двугранного угла $C_{20\text{-}C2'}$ 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 $C_{20\text{-}C2'}$.

Чтобы оценить сродство соединений **1 – 6** к CYP17A1, мы провели их молекулярный докинг в активный центр фермента (рис. 2). Результаты докинга сравнивали со структурой комплексов CYP17A1 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 CYP17A1 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 CYP17A1 происходит его изомеризация в энергетически менее выгодный 17(20)*Z*-изомер [17]. При связывании в активном центре CYP17A1 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 CYP17A. В комплексе CYP17A1 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 CYP17A1 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 CYP17A1 и их экспериментально определённая способность подавлять активность фермента.

Соединение	ΔH образования комплекса (ккал / моль)	Конфигурация $\Delta^{17(20)}$ в комплексе	Значение $\theta_{20\text{-}2'}$ в комплексе (°)	Расстояние от атома N до центра гема в комплексе (Å)	IC_{50} (мкМ)
1	-72,8	*Z*	-162,9	2,8	0,9 ± 0,1
2	-40,9	*Z*	-151,4	2,8	110 ± 15
3	-66	*Z*	153,6	3,1	не ингибирует
4	-74,6	*Z*	15,2	4,8	не ингибирует
5	-37,9	*Z*	34,2	4,7	13 ± 1,0
6	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

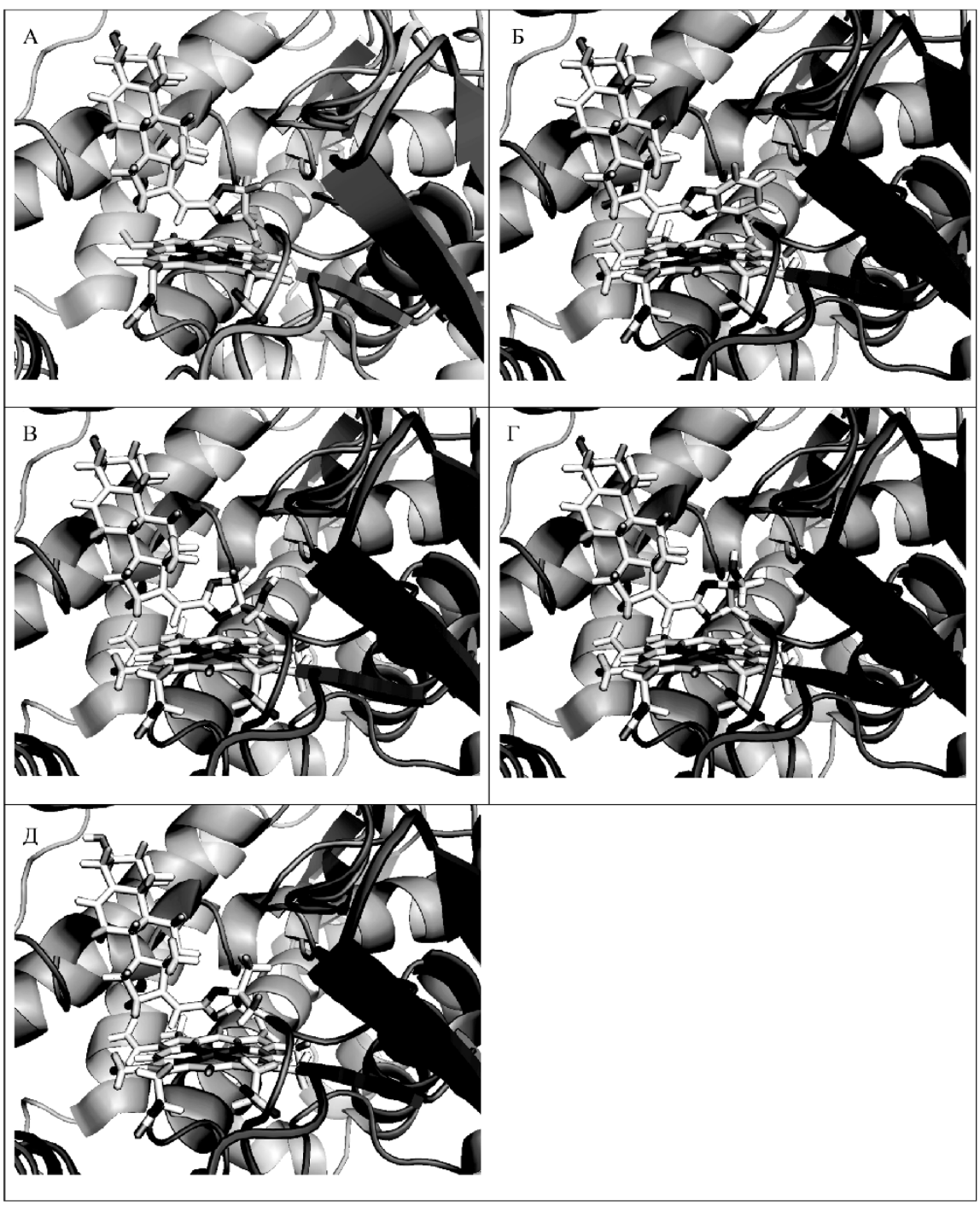

Рисунок 2. Докинг соединений **1** - **5** в активный центр CYP17A1.
А - комплекс CYP17A1 - **1**; Б - комплекс CYP17A1 - **2**; В - комплекс CYP17A1 - **3**; Г - комплекс CYP17A1 - **4**; Д - комплекс CYP17A1 - **5**.

чем связывание соединения **2** (таблица), что, очевидно, обусловлено бóльшим 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 $\theta_{20\text{-}2'}$ 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 $\theta_{20\text{-}2'}$ 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 $\theta_{20\text{-}2'}$ 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 TOK-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 гидроксилирования 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 пиридиновый циклы практически одинаково располагаются относительно гема (рис. 3А).

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

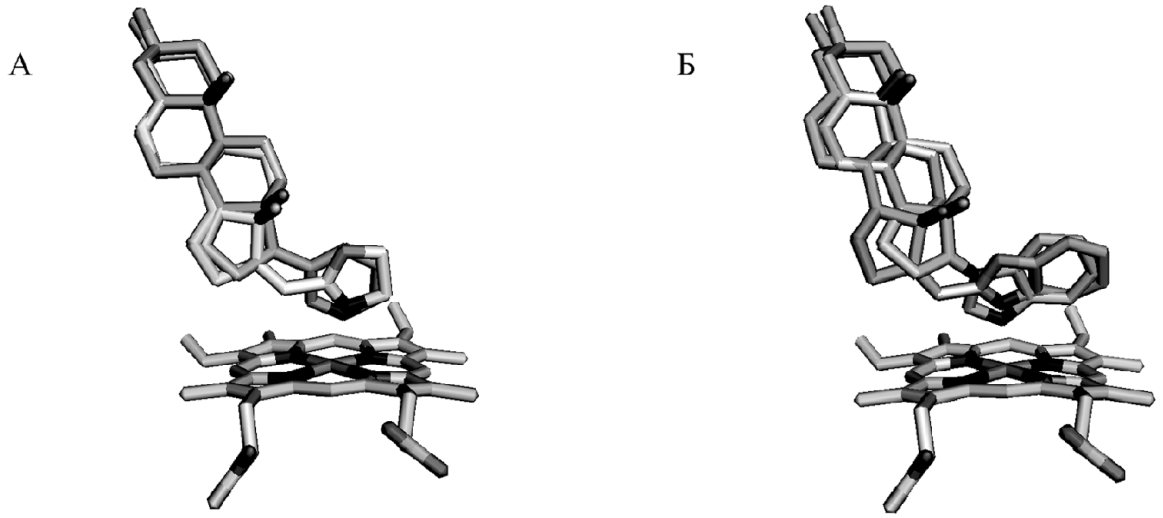

Рисунок 3. Модели локализации соединений **1** и **2** в активном центре CYP17A1 в сравнении с известными ингибиторами. А - сравнение соединения **1** (тёмно-серый) и абиратерона (светло-серый); Б - сравнение соединения **2** (тёмно-серый) и TOK-001 (светло-серый).

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

1. *Ahmedin J., Freddie B., Melissa M., Center M.P.* (2011) CA Cancer J. Clin., **61**, 69-90.
2. *Bruno R.D., Njar V.C.O.* (2007) Bioorg. Med. Chem., **15**, 5047-5060.
3. *Montgomery R.B., Mostaghel E.A., Vessella R., Hess D.L., Kalhorn T.F., Higano C.S.* (2008) Cancer Res., **68**, 4447-4454.
4. *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.
5. *Bruno R.D., Gover T.D., Burger A.M., Brodie A.M., Njar V.C.* (2008) Mol. Cancer Ther., **7**, 2828-2836.
6. *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.
7. *Njar V.C.O., Brodie A.M.H.* (1999) Curr. Pharm. Des., **5**, 163-180.
8. *Ling Y., Li J., Liu Y., Kato K., Klus G.T., Brodie A.M.* (1997) J. Med. Chem., **40**, 3297-3304.
9. *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.
10. *Potter G.A., Barrie S.E., Jarman M., Rowlands M.G.* (1995) J. Med. Chem., **38**, 2463-2471
11. *Hartmann R.W., Hector M., Haidar S., Ehmer P.B., Reichert W., Jose J.* (2000) J. Med. Chem., **43,** 4266-4277.
12. *Hakki T., Bernhardt R.* (2006) Pharmacol. Ther., **111**, 27-52.
13. *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.
14. *Baston E., Leroux F.R.* (2007) Recent Pat. Anti-Cancer Drug Disc., **2**, 31-58.
15. *Stulov S.V., Tkachev Y.V., Novikov R.A., Zavialova M.G., Timofeev V.P., Misharin A.Y.* (2012) Steroids, **77**, 77-84.
16. *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.
17. *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.
18. *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.
19. *Shumyantseva V.V., Ivanov Y.D., Bistolas N., Sheller F.W., Archakov A.I., Wollenberger U.* (2004) Anal. Chem., **76**, 6046-6052.
20. *Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Archakov A.I.* (2005) J. Inorg. Biochem., **99**, 1051-1063.
21. *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.
22. *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.
23. *Шумянцева В.В., Булко Т.В., Мишарин А.Ю., Арчаков А.И.* (2011) Биомед. химия, **57**, 402-409.
24. *DeVore N.M., Scott E.E.* (2012) Nature, **482**(7383), 116-119.
25. *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.
26. *Vasaitis T.S., Njar V.C.O.* (2010) Future Med. Chem., **2**, 667-680.
27. *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 17α-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