

**О. П. Черкасова<sup>1</sup>, В. А. Володин<sup>2,3</sup>, В. А. Минаева<sup>4</sup>,  
Б. Ф. Минаев<sup>4</sup>, Г. В. Барышников<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Институт лазерной физики СО РАН  
пр. Акад. Лаврентьева, 13/3, Новосибирск, 630090, Россия  
E-mail: cherk\_63@mail.ru

<sup>2</sup> Институт физики полупроводников СО РАН  
пр. Акад. Лаврентьева, 13, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский государственный университет  
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>4</sup> Черкасский национальный университет им. Б. Хмельницкого  
бул. Шевченко, 81, Черкассы, 18031, Украина

## **ТЕМПЕРАТУРНАЯ ДИНАМИКА НИЗКОЧАСТОТНЫХ СПЕКТРОВ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА ПРОГЕСТЕРОНА, 17 $\alpha$ -ГИДРОКСИПРОГЕСТЕРОНА И КОРТИЗОНА**

Работа посвящена анализу спектров комбинационного рассеяния света прогестерона, 17 $\alpha$ -гидрокси-прогестерона и кортизона в диапазоне частот от 12 до 120 см<sup>-1</sup>. Спектры демонстрируют несколько интенсивных полос, которые имеют индивидуальную температурную динамику при понижении температуры до 83 К. Квантово-химические расчеты, проведенные методом функционала плотности B3LYP/6-31G(d,p), относят наблюдаемые спектральные особенности к колебаниям всего скелета молекулы и заместителей при атоме C<sup>17</sup>.

*Ключевые слова:* комбинационное рассеяние света, стероидные гормоны, квантово-химические расчеты.

**O. P. Cherkasova, V. A. Volodin, V. A. Minaeva, B. F. Minaev, G. V. Baryshnikov**

### **TEMPERATURE DYNAMICS FOR LOW-FREQUENCY RAMAN SPECTRA OF PROGESTERONE, 17 $\alpha$ -HYDROXYPROGESTERONE AND CORTISONE**

The Raman spectra of progesterone, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone and cortisone in the low-frequency region are studied. Several intense spectral features demonstrate clear temperature dynamics in the range of 83 K. Assignment of vibrational frequencies is performed with the use of density functional calculations at the B3LYP/6-31G(d,p) level. The observed spectral features are assigned to vibrations of the whole skeleton including substituents at the C<sup>17</sup> atom.

*Keywords:* Raman spectroscopy, corticosteroids, DFT calculations.

#### **Введение**

Прогестерон, 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерон и кортизон являются производными циклопентанофенантрена и относятся к кортико-стероидным гормонам. Эти молекулы имеют одинаковую общую структуру, представляющую собой систему из четырех конденсированных колец (А, В, С и D) и отличаются по положению гидроксильных групп, присоединенных к ядру молекулы

(рис. 1). Считают, что такая структура должна иметь большое число низкочастотных колебаний, которые играют значительную роль в гормон-рецепторном связывании [1]. Данные гормоны хорошо исследованы традиционной спектроскопией комбинационного рассеяния света (КРС), описаны частоты основных валентных колебаний [2], однако, низкочастотный диапазон исследован не был. Цель работы состояла в исследовании низкочастотных колебаний упомя-

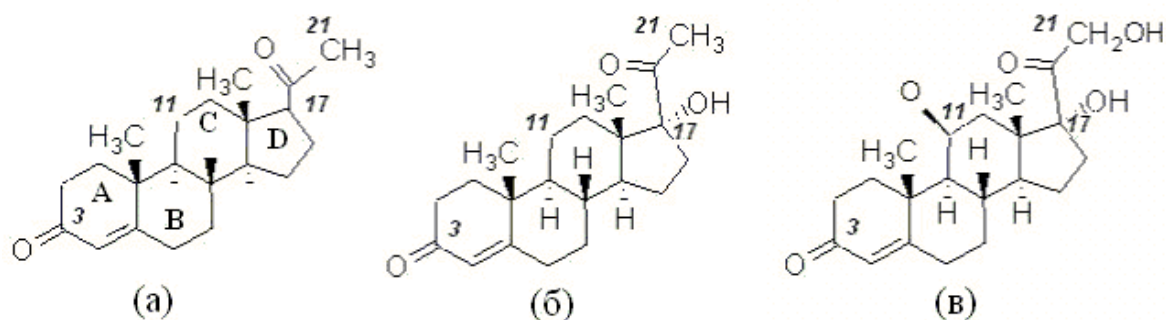


Рис. 1. Строение молекул прогестерона (а), 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона (б) и кортизона (в). Обозначения: 3, 11, 17, 21 – атомы углерода, упоминаемые в тексте; А, В, С, D – названия колец молекулы

нутых выше молекул методам КРС, анализе температурных зависимостей спектров и соотношении наблюдаемых спектральных особенностей с типами колебаний в молекулах.

### Эксперимент

Прогестерон (4-прегнен-3,20-дион), 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерон (17-гидроксипрегн-4-ен-3,20-дион) и кортизон (17,21-дигидрокси-прегн-4-ен-3,11,20-трион) были получены из фирмы Koch-Light Laboratories Ltd и использовались в работе без дополнительной очистки. Спектры КРС регистрировали на приборе T64000 (Horiba Jobin Yvon), оборудованного “micro-Raman” приставкой, в диапазоне 12–3200  $\text{cm}^{-1}$ , используя в качестве источника излучения аргоновый лазер (514,5 нм). Все исследования проводили при температурах 297 и 83 К, поляризационная геометрия рассеяния была поперечной, то есть поляризация рассеянного света перпендикулярна поляризации падающего света. Для измерений при разных температурах применялась термоячейка Linkam. Использовалось оборудование научно-образовательного комплекса «Наносистемы и современные материалы» НГУ. Расчет колебательных спектров исследуемых гормонов проведен в рамках теории функционала плотности методом B3LYP в базисе 6-31G(d,p) с использованием программы GAUSSIAN 03 [3, 4]. Возможность применения данного метода расчета для предсказания частот, форм колебаний и интенсивностей полос поглощения в спектрах ИК и КРС стероидных гормонов показана нами в работах [1, 5, 6].

### Результаты и обсуждение

Спектр КРС прогестерона имеет несколько интенсивных полос (рис. 2). При понижении температуры до 83 К наблюдается уменьшение интенсивности и ширины линий в спектрах КРС, линии сдвигаются в сторону высоких частот на 1–6  $\text{cm}^{-1}$ . При этом первые две полосы в спектре (29.5 и 37.0  $\text{cm}^{-1}$ ) сдвигаются незначительно (на 1–2  $\text{cm}^{-1}$ ). По данным квантово-химических расчетов эти полосы соответствуют качанием всего скелета молекулы со сгибанием и разгибанием. Полосы с максимумом при 53 и 98,9  $\text{cm}^{-1}$  сдвигаются на 6  $\text{cm}^{-1}$ . Эти полосы можно соотнести с частотами  $\nu_3$  и  $\nu_5$ , которые соответствуют качанию всего скелета молекулы и группы  $\text{COCH}_3$ , а также кручению метильных групп. Следует отметить, что молекула прогестерона имеет две карбонильные группы по концам молекулы, которые не участвуют в образовании водородных связей. Молекулы в ячейке связаны между собой межмолекулярными связями, включающими атом кислорода карбонильной группы при  $\text{C}^3$  и атомы углерода при  $\text{C}^{21}$ ,  $\text{C}^{19}$  и  $\text{C}^6$  соседних молекул [7]. Мы считаем, что такая температурная динамика полос в спектре КРС может быть связана с изменением планарности молекулы при понижении температуры и характерна для молекул, не связанных водородной связью.

Молекула 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона отличается от молекулы прогестерона наличием гидроксильной группы при атоме  $\text{C}^{17}$ , что приводит к образованию водородной связи между кислородом карбонильной группы

при  $C^3$  и гидроксильной группой при  $C^{17}$  соседних молекул [7]. В спектре КРС можно выделить 4 основные полосы при 24,9, 35,5, 50,6 и 62,9  $cm^{-1}$  (рис. 3). Сравнивая спектры КРС прогестерона и 17 $\alpha$ -гидроксиprogестерона, можно видеть, что появление гидроксильной группы и возможность образования водородной связи приводит к смещению полос на несколько обратных сантиметров в сторону низких частот. Подобное смещение положения колебательных полос в низкочастотную часть спектра при образовании молекулами водородной связи хорошо известно [8] и было отмечено при исследовании спектров нейтронного рассеяния молекул прогестерона и тестостерона [9].

При понижении температуры происходит снижение интенсивности КРС спектра, линии становятся узкими, и улучшается разрешение спектра. Происходит незначительное смещение положения основных полос в сторону высоких частот на 1–2  $cm^{-1}$ . Улучшение разрешения спектра приводит к тому, что на месте широкой полосы при 62,9  $cm^{-1}$  видны три полосы с частотами 58,8, 64,7 и 70  $cm^{-1}$ . Две последние частоты совпадают с частотами  $\nu_3$  и  $\nu_4$ , которые связаны с качанием всего скелета молекулы и боковых групп.

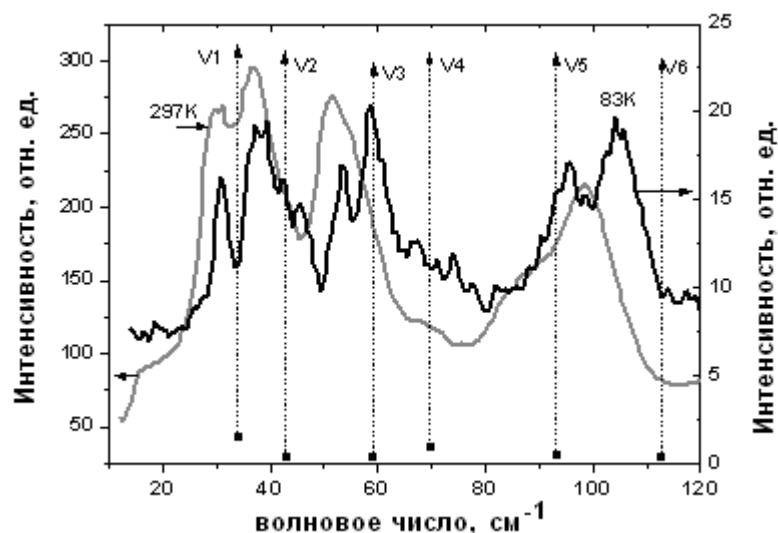


Рис. 2. Спектр КРС прогестерона в диапазоне частот 12–120  $cm^{-1}$  при 297 и 83 К ( $\nu_1$ – $\nu_6$  – данные квантово-химических расчетов)

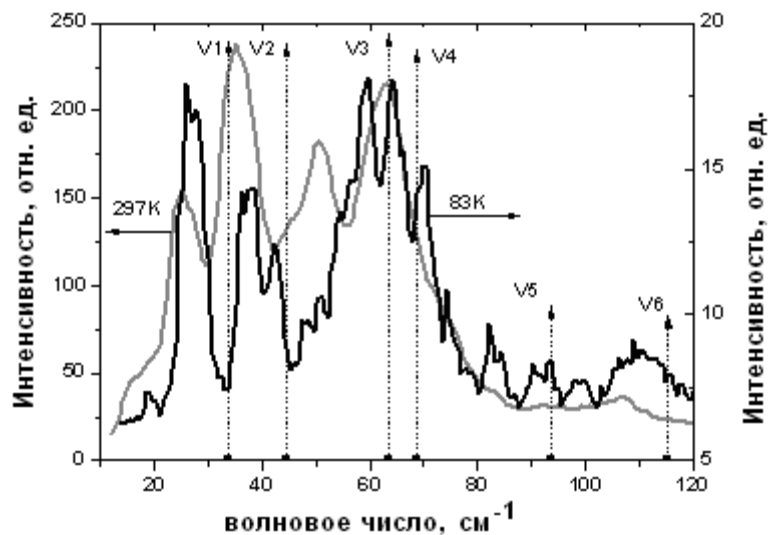


Рис. 3. Спектр КРС 17 $\alpha$ -гидроксиprogестерона в диапазоне частот 12–120  $cm^{-1}$  при 297 и 83 К ( $\nu_1$ – $\nu_6$  – данные квантово-химических расчетов)

Рис. 4. Спектр КРС кортизона в диапазоне частот 12–120  $\text{см}^{-1}$  при 297 и 83 К ( $\nu_1$ – $\nu_7$  – данные квантово-химических расчетов)

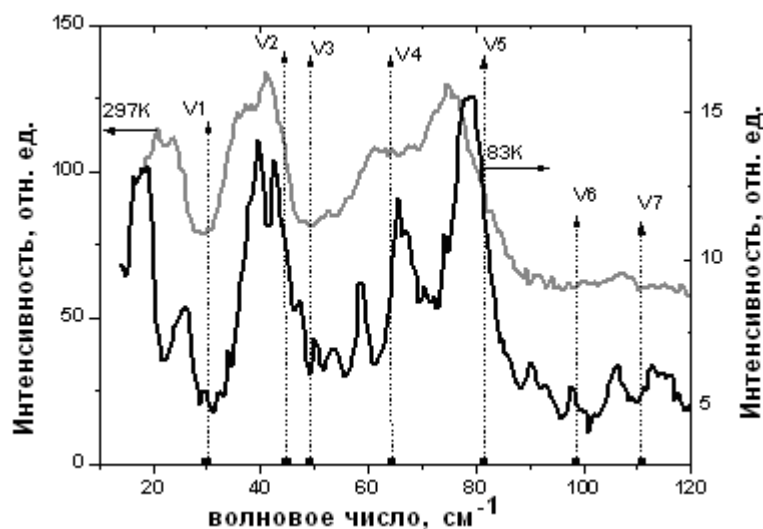
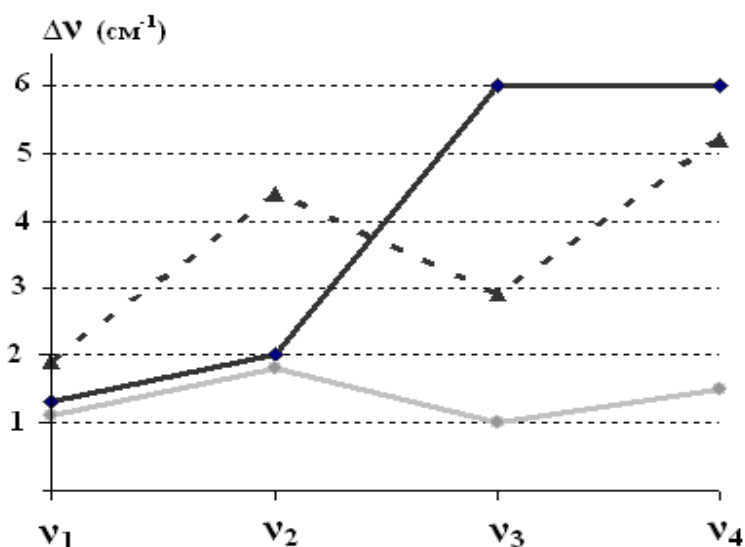


Рис. 5. Сдвиг ( $\Delta\nu$ ) основных полос в спектрах КРС прогестерона (черная линия), 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона (серая линия) и кортизона (пунктир) при понижении температуры до 83 К



Молекула кортизона отличается от молекулы 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона кето-группой при атоме  $\text{C}^{11}$  и дополнительной гидроксильной группой при  $\text{C}^{21}$ , что приводит к тому, что молекула кортизона может образовывать две водородные связи между соседними молекулами. В спектре КРС проявляются все группы линий, отмеченные в спектрах прогестерона и 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона (рис. 4). При сравнении спектров КРС прогестерона и кортизона наблюдается та же закономерность, что и для спектров КРС прогестерона и 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона – возможность образования водородной связи приводит к смещению полос на несколько обратных сантиметров в сторону низких частот.

Квантово-химические расчеты предсказывают в этом диапазоне частот семь коле-

бательных мод, которые, в общем, совпадают с колебаниями, описанными для первых двух молекул. Появление более массивной группы при  $\text{C}^{17}$  приводит к тому, что полоса с частотой  $\nu_5$ , обусловленная качанием всего скелета молекулы и маятниковым качанием заместителя при  $\text{C}^{17}$ , имеет наибольшую интенсивность в экспериментальных спектрах КРС кортизона в рассматриваемой нами области частот. Хорошее совпадение с данными квантово-химических расчетов наблюдается в области более высоких частот. При понижении температуры линии в спектрах КРС становятся узкими, происходит смещение линий в сторону больших частот на 2–5  $\text{см}^{-1}$ . Температурная динамика полос отличается от таковой у прогестерона (рис. 5).

### Заключение

В ходе выполнения работы установлено, что низкочастотные спектры КРС прогестерона, 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона и кортизона имеют несколько интенсивных полос, которые связаны, в основном, с колебанием скелета молекулы и заместителей при атоме C<sup>17</sup>. Данные расчетов, в целом, находятся в хорошем согласии с экспериментальными данными. При понижении температуры наблюдается падение интенсивности в КРС спектрах, улучшение разрешения и проявляется температурная динамика полос, зависящая от возможности молекул образовывать водородные связи.

### Список литературы

1. *Minaeva V. A., Minaev B. F., Hovorun D. N.* Vibrational spectra of the steroid hormones, estradiol and estriol, calculated by density functional theory. The role of low-frequency vibrations // *Ukr. Biokhim. Zh.* 2008. Vol. 80. No. 4. P. 82–95.
2. *Falcon J. A., Berglund K. A.* In situ monitoring of antisolvent addition crystallization with principal components analysis of Raman spectra // *Crystal Growth & Design.* 2004. Vol. 4. No. 3. P. 457–463.
3. *Becke A. D.* Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange // *J. Chem. Phys.* 1993. Vol. 98. P. 5648–5652.
4. *Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Montgomery J. A. Jr., Vreven T., Kudin K. N., Burant J. C., Millam J. M., Iyengar S. S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G. A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Klene M., Li X., Knox J. E., Hratchian H. P., Cross J. B., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Ayala P. Y., Morokuma K., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Zakrzewski V. G., Dapprich S., Daniels A. D., Strain M. C., Farkas O., Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cui Q., Baboul A. G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Gonzalez C., Pople J. A.* Gaussian 03, revision C.02. Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2004.
5. *Minaev B. F., Minaeva V. A.* Study of IR spectrum of the 17 $\beta$ -estradiol using quantum-chemical density functional theory // *Biopolymers and cell.* 2006. Vol. 22. No. 5. P. 363–374.
6. *Минаева В. А., Минаев Б. Ф., Капунус С. С.* Исследование инфракрасного спектра тестостерона и эгистерона квантово-химическим методом функционала плотности // *Biopolymers and Cell.* 2010. Vol. 26. No. 1. P. 62–70.
7. *Duax W. L., Norton D. A.* Atlas of steroid structure. N. Y.: Plenum press, 1975.
8. Применение спектроскопии в химии / Под ред. В. Вест. М.: Изд-во иностр. лит., 1959. С. 243.
9. *Szyczewskia A., Hołderna-Natkaniec K., Natkaniec I.* Progesterone and testosterone studies by neutron scattering and nuclear magnetic resonance methods and quantum chemistry calculations // *Journal of Molecular Structure.* 2004. Vol. 693. P. 49–71.

10.09.2010