

Н. Е. Кузьмина, Е. С. Осипова, В. С. Кузьмин, В. Б. Ситников

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕКТРОННЫХ СВОЙСТВ АРИЛЬНОГО ФРАГМЕНТА МОЛЕКУЛ ЛИГАНДОВ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии, Москва

Проведено сравнение электронных свойств арильного фрагмента молекул агонистов и антагонистов опиатных рецепторов на основе оценки нормализованных вкладов его атомов в граничные молекулярные орбитали. Изучены лиганды в нейтральной, протонированной формах и в ассоциате “лиганд – фрагмент опиатного рецептора”. Сделан вывод о зависимости электронных свойств арильного фрагмента от последовательности взаимодействия активных центров тираминового фрагмента с опиатным рецептором. Выдвинуто предположение, что электронные свойства арильного фрагмента влияют на аффинность молекулы к опиатным рецепторам, но не влияют на ее внутреннюю активность.

Создание новых опиатных анальгетиков и высокоэффективных лекарственных препаратов для терапии острой передозировки опиоидами является одной из наиболее актуальных медицинских и социальных проблем.

Направленный синтез соединений, обладающих высокой опиатной активностью, основывается на современных представлениях о механизме взаимодействия “лиганд – опиатный рецептор”. В настоящее время это взаимодействие рассматривается в рамках концепции “message-address”, предложенной Швайзером [1]. В рамках этой концепции “message” – фармакофор лиганда, осуществляющий первичное распознавание рецептора, в результате которого образуется обратимый ассоциат “лиганд-рецептор”. Наличие “message”-фрагмента является необходимым, но недостаточным условием для формирования биологического отклика рецептора. “Address”-фармакофор, который, подстраиваясь к комплементарному участку места связывания рецептора и специфически взаимодействуя с ним, трансформирует обратимый ассоциат в необратимый [2]. “Address”-фармакофоры усиливают сродство связывания лиганда с опиатными рецепторами [3] и обеспечивают селективность связывания с их различными типами [1].

Принято считать, что главным структурным компонентом в молекуле лиганда, обеспечивающим взаимодействие опиатных лигандов с опиатными рецепторами, является тираминовый фрагмент (ТФ) [4]. По мнению ряда авторов, этот фрагмент является “message”-фармакофором, общим для всех опиатных лигандов [3, 5, 6]. Положительно заряженный атом азота ТФ обуславливает электростатическое взаимодействие с анионной группой опиатного рецептора, дополняемое водородным связыванием [7, 8]. Арильный фрагмент ТФ образует комплекс с переносом заряда с определенным комплементарным участком опиатного рецептора [9].

В литературе, посвященной квантово-химическим расчетам модельных соединений, электронные свойства арильного кольца ТФ определялись на основе оценки распределения зарядов в протонированных молекулах морфиноподобных анальгетиков [10] и путем сравнительного анализа опиатной активности производных аналогов с энергией граничных орбиталей их

арильных фрагментов [9]. В ходе этих исследований был сделан вывод о том, что арильный фрагмент при образовании комплекса с переносом заряда с комплементарным участком рецептора выступает в качестве донора.

Ввиду важности арильного кольца ТФ для процесса связывания “лиганд – рецептор” было проведено дополнительное исследование электронных свойств арильного фрагмента лигандов опиатных рецепторов. Электронные свойства арильного фрагмента оценивали с помощью нормализованных вкладов его атомов в граничные орбитали соответствующих молекул в нейтральной, протонированной формах и в ассоциате “лиганд – фрагмент опиатного рецептора”.

В качестве объектов исследования были выбраны алкалоидные лиганды опиатных рецепторов, проявляющие агонистические, антагонистические и смешанные свойства. Исследованные лиганды и экспериментальные данные по их опиатной активности представлены в табл. 1.

При построении стартовых моделей молекул лигандов опиатных рецепторов использовались данные рентгеноструктурного анализа [11].

При построении стартовой модели фрагмента опиатного рецептора были использованы результаты экспериментальных исследований первичной структуры опиатных рецепторов [12], процессов взаимодействия “лиганд – опиатный рецептор” [7, 8], а также результаты компьютерного моделирования трехмерного строения рецепторов [13, 14].

Экспериментально установлено, что положительно заряженный атом азота ТФ лиганда взаимодействует с карбоксильным анионом боковой цепи аспарагиновой кислоты Asp(III:7) в третьей трансмембранной спирали опиатного рецептора [7, 15 – 18]. При построении фрагмента опиатного рецептора, участвующего в образовании обратимого ассоциата “лиганд – рецептор”, использовали ключевой остаток Asp(III:7) и соседние с ним аминокислотные остатки — изолейцил и тирозил [12].

Фрагмент рецептора такого размера достаточен для корректного описания взаимодействия “катионной головки” лиганда с анионом аспарагиновой кислоты, поскольку он воспроизводит петлю в трансмембранной спирали и учитывает стерические факторы, возникаю-

Формула	Соединение	Опиатная активность	
		ED ₅₀ , мг/кг	AD ₅₀ , мг/кг
	I морфин	0,60 ^a [27] 3,9 ^b [27]	Не активен [27]
	II метадон	1,6 ^b [28]	
	III налоксон	60 ^a [27]	0,008 ^c [27] 0,08 ^f [29]
	IV налтрексон	Не активен [32]	0,05 ^f [27]
	V R=OH циклазоцин	0,1 ^a [28] 0,04 ^a [31]	0,019 ^g [28] 0,029 ^f [31]
	VI R=NH ₂	0,80 ^a [31]	2,7 ^e [31]
	VII R=NHCH ₂ CH ₃	1,3 ^a [31]	80 ^e [31]
	VIII R=NH(CH ₂) ₂ CH ₃	1,2 ^a [31]	40 ^e [31]
	IX R=N(CH ₃) ₂	0,79 ^a [31]	80 ^e [31]
	X R=CH ₃ метазоцин	0,015 ^a [35] 0,11 ^d [35] 2,6 ^d [34]	> 10 ^g [28] Не активен ^f [35]
	XI R=CH ₂ CH ₂ CH ₃ N-пропилнорметазоцин	3,9 ^a [35]	Не активен ^f [35] 0,019 ^g [29]
	XII R=CH ₂ -CH=CH ₂ N-аллилнорметазоцин	Не активен ^b [30]	0,047 ^g [29]
	XIII R=CH ₂ -CH=C(CH ₃) ₂ пентазоцин	2,2 ^a [31] 3,1 ^a [28]	3,9 ^g [28] 9,0 ^f [31]
	XIV — R=OCH ₃	7 [32*]	
	XV — R=OCOCH ₃ ,	0,5 [32*]	
	XVI — R=OH	0,2 ^d [33]	Не активен [33]
	XVII — R=NH ₂	13,2 ^d [33]	Не активен [33]

^a — метод судорог (мышы, подкожно); ^b — метод прищепления хвоста (мышы, подкожно); ^c — метод прищепления хвоста (кролики, подкожно); ^d — метод горячей пластины (мышы, подкожно); ^e — антагонизм относительно феназоина, метод прищепления хвоста (кролики, подкожно); ^f — антагонизм относительно морфина, метод судорог (мышы, подкожно); ^g — антагонизм относительно петидина, метод прищепления хвоста (мышы, подкожно); * в первоисточнике приведена доля агонистической активности по отношению к пентазоцину (ED₅₀^c = 120 мг/кг [33]).
ED₅₀ — доза, вызывающая анальгетический эффект у 50 % животных из опытной группы.
AD₅₀ — доза, вызывающая 50 % понижение анальгетического эффекта от дозы ED₅₀ агониста.

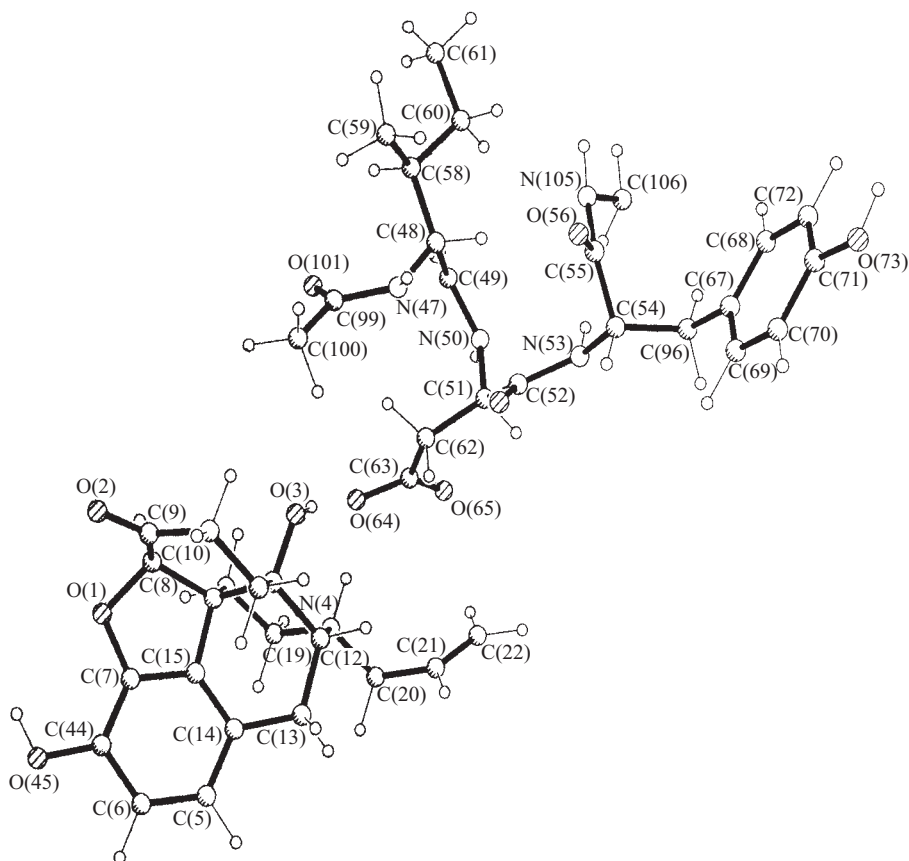


Рис. 1. Строение ассоциата “антагонист III – фрагмент опиатного рецептора”

щие при подходе лиганда к комплементарному участку рецептора. Дальнейшее увеличение полипептидной цепи не имеет смысла, так как точное строение места связывания рецептора не известно.

Поскольку в макромолекуле опиатного рецептора изолейциновый и тирозильные остатки включены в полипептидную цепь, в трипептидном фрагменте в качестве концевых были использованы ацильная и метиламидная группы.

При оптимизации геометрических параметров фрагмента рецептора сохранялась конформация полипептидной цепи и ориентация боковой цепи Asp(III:7), рассчитанные Погожевой с соавторами для опиатных рецепторов различных типов [14]. Ориентация боковой цепи Asp(III:7) варьировалась в зависимости от природы опиатной активности лиганда: $\chi^1 = -60^\circ$ и 180° при взаимодействии карбоксильного аниона Asp(III:7) с агонистами и антагонистами соответственно [14].

При оптимизации строения ассоциата рецептора с лигандом вторичная структура полипептидной цепи комплементарного участка рецептора считалась фиксированной ($-70^\circ < \varphi < -50^\circ$, $-50^\circ < \varphi < -30^\circ$ [14]). Кроме того, накладывались жесткие ограничения на параметры водородной связи N–H...O между заряженным атомом азота и карбоксилатной группой Asp(III:7): $R_{N...O} = 2,9\text{Å}$; $160^\circ \leq \text{NHO} \leq 180^\circ$ [19]. Полученные в результате оптимизации ассоциаты “антагонист – фрагмент рецептора” и “агонист – фрагмент рецептора” показаны на рис. 1 – 2.

Для оценки донорно-акцепторных свойств арильного фрагмента опиатных лигандов проводили расчет вкладов атомов фенильного кольца и атомов заместителя, копланарных плоскости фенильного кольца и участвующих в сопряжении с ним, в высшую занятую молекулярную и низшую свободную молекулярную орбитали (HOMO и LUMO соответственно). Принято считать, что HOMO коррелирует с потенциалом ионизации и характеризует донорные свойства молекулы, LUMO — со сродством к протону и характеризует акцепторные свойства молекулы [20].

Для сравнения вкладов атомов арильных фрагментов различных молекул проводили их нормировку на разницу энергий граничных орбиталей η :

$$F\eta^H C(i) = (C_{\text{HOMO}(i)})^2/\eta$$

$$F\eta^L C(i) = (C_{\text{LUMO}(i)})^2/\eta$$

где $C_{\text{HOMO}(i)}$ — коэффициент атомной орбитали i в HOMO, $C_{\text{LUMO}(i)}$ — в LUMO.

На рис. 3 – 5 приведены гистограммы нормированных вкладов атомов арильного фрагмента в граничные молекулярные орбитали нейтральных, протонированных молекул лигандов и ассоциатов “лиганд – фрагмент опиатного рецептора”.

Сравнительный анализ этих вкладов свидетельствует об отсутствии принципиальных различий в электронных свойствах арильного фрагмента молекул агонистов и антагонистов. Следует отметить, что как агонисты, так и антагонисты обладают аффинностью к

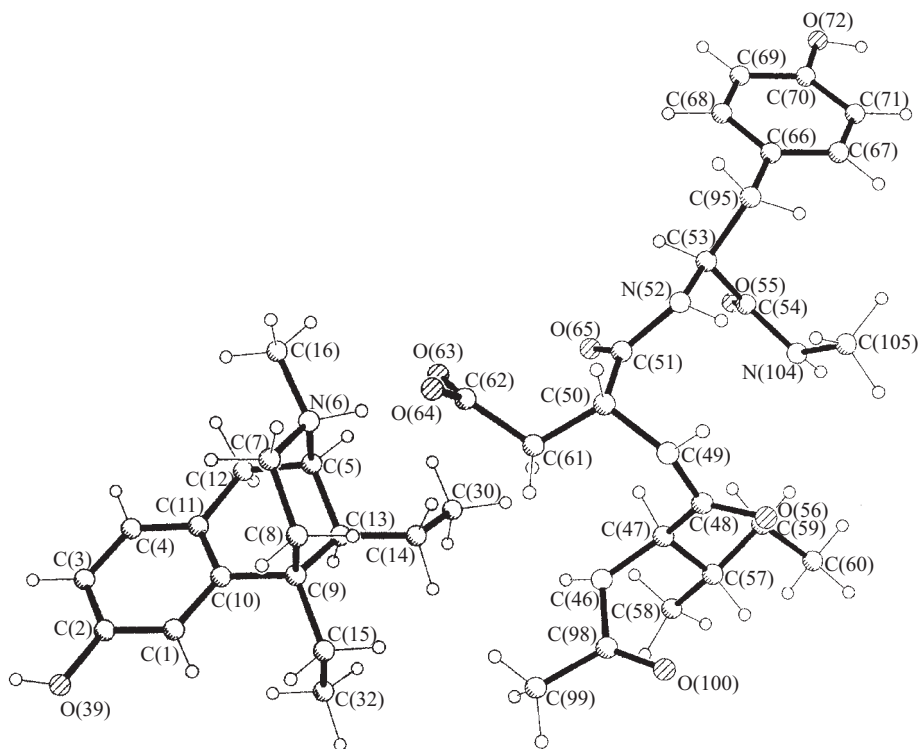


Рис. 2. Структура ассоциата “агонист XVI – фрагмент опиатного рецептора”

опиатным рецепторам, но только агонисты способны стимулировать опиатные рецепторы и вызывать биологический отклик, то есть обладают внутренней активностью. Отсутствие различий в нормированных вкладах атомов арильного фрагмента молекул агонистов и антагонистов в граничные орбитали позволяет предположить, что электронные свойства арильного фрагмента влияют на аффинность молекулы к опиатным рецепторам, но не влияют на ее внутреннюю активность.

Из гистограмм видно, что наблюдается существенное различие в электронных свойствах арильного фрагмента в зависимости от ионного состояния лиганда (нейтральная молекула, катион, ассоциат “катион лиганда – анионный фрагмент рецептора”). В нейтральных молекулах наблюдается вклад арильного фрагмента как в НОМО, так и в LUMO, причем электроно-

акцепторные свойства арильного фрагмента превалируют над донорными (рис. 3). В протонированных молекулах атомы арильного фрагмента проявляют донорные свойства, так как имеют вклады только в НОМО (рис. 4). В ассоциате “лиганд – фрагмент опиатного рецептора” вклады в НОМО незначительны, арильный фрагмент проявляет акцепторные свойства (рис. 5).

Таким образом, электронные свойства арильного фрагмента при образовании комплекса с переносом заряда с комплементарным участком рецептора зависят от последовательности взаимодействия активных центров ТФ с опиатным рецептором. Если взаимодействие положительно заряженного атома азота и арильного фрагмента с комплементарными участками рецептора происходит одновременно, то арильный фрагмент лиганда будет, по-видимому, выступать в качестве донора электронной плотности при образова-

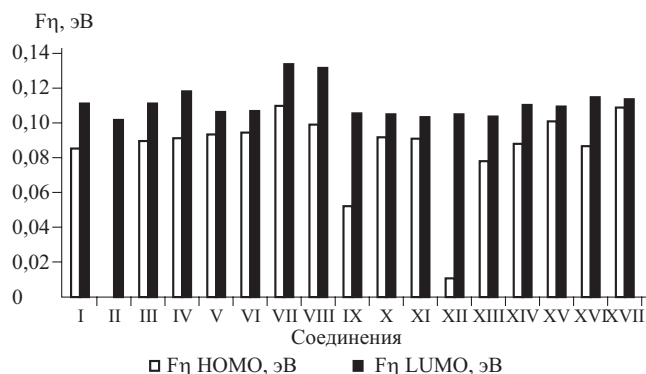


Рис. 3. Нормированные вклады атомов арильного фрагмента в граничные молекулярные орбитали нейтральных молекул лигандов опиатных рецепторов

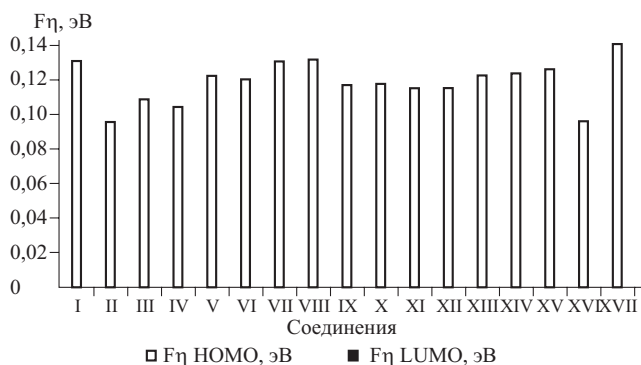


Рис. 4. Нормированные вклады атомов арильного фрагмента в граничные молекулярные орбитали протонированных молекул лигандов опиатных рецепторов

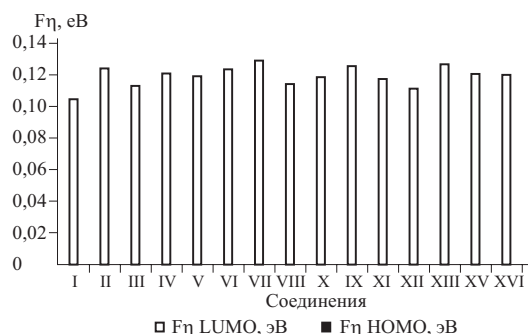


Рис. 5. Нормированные вклады атомов арильного фрагмента в граничные молекулярные орбитали ассоциата “лиганд – фрагмент опиатного рецептора”

нии комплекса с переносом заряда. Если взаимодействие активных центров ТФ с опиатным рецептором происходит последовательно, то есть формирование обратимого ассоциата предшествует образованию комплекса с переносом заряда, арильный фрагмент будет, по-видимому, выступать в качестве акцептора электронной плотности. Способность арильного фрагмента образовывать комплекс с переносом заряда влияет на аффинность молекулы к опиатным рецепторам, но не на ее внутреннюю активность.

Экспериментальная часть

Расчеты осуществляли с использованием программы HyperChem-7 [23]. Оптимизацию геометрических параметров проводили в два этапа: сначала методом молекулярной механики (параметризация ММ+ [24]), затем квантово-механическим методом с использованием параметризации РМ3 [25]. При расчете электронных характеристик применялась параметризация АМ1 [26]. Оптимизацию геометрии считали законченной при достижении нормы градиента менее 0,1 ккал/(моль А).

ЛИТЕРАТУРА

1. R. Schwyzer, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **297**(1), 3 – 26 (1977).
2. P. S. Portoghese, T. G. Metzger, and M. G. Paterlini, *J. Med. Chem.*, **44**(6), 857 – 862 (2001).
3. P. S. Portoghese, *J. Med. Chem.*, **34**(6), 1757 – 1762 (1991).
4. С. С. Крылов, *Хим.-фарм. журн.*, **26**(7 – 8), 122 – 124 (1992).
5. P. S. Portoghese, M. Sultana, and A. E. Takemori, *J. Med. Chem.*, **33**(6), 1714 – 1720 (1990).
6. C. Chavkin and A. Goldstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **78**, 6543 – 6547 (1981).
7. A. Mansour, L. P. Taylor, J. L. Fine, et al., *J. Neurochem.*, **68**(1), 344 – 353 (1997).

8. C. K. Surratt, P. S. Jonhson, A. Moriwaki, et al., *J. Biol. Chem.*, **269**(32), 20548 – 20553 (1994).
9. K. S. Razzak and K. A. Hamid, *J. Pharm. Sci.*, **69**(7), 796 – 799 (1994).
10. G. H. Loew and D. S. Berkowitz, *J. Med. Chem.*, **18**(7), 656 – 662 (1975).
11. <http://www.ccdc.cam.ac.uk/>
12. J. M. Baldwin, *EMBO J.*, **12**(11), 1693 – 1703 (1993).
13. M. Filizola, L. Laakonen, and G. H. Loew, *Protein Engineering*, **12**(3), 927 – 942 (1999).
14. I. D. Pogozheva, A. L. Lomize, and H. I. Mosberg, *Biophys. J.*, **75**(8), 612 – 634 (1998).
15. C. M. Fraser, C.-D. Wang, D. A. Robinson, et al., *Mol. Pharmacol.*, **36**(6), 840 – 847 (1989).
16. T. M. Savarese and C. M. Fraser, *Biochem J.*, **283**(1), 1 – 19 (1992).
17. C.-D. Wang, M. A. Buck, and C. M. Fraser, *Mol. Pharmacol.*, **40**(1), 168 – 179 (1991).
18. B. Y. Ho, A. Karshin, T. Branchek, et al., *FEBS Lett.*, **312**(2), 259 – 262 (1992).
19. L. N. Kuleshova and P. M. Zorkii, *Acta Cryst.*, **B37**(7), 1363 – 1366 (1981).
20. Г. Клопман (ред.), *Реакционная способность и пути реакций*, Мир, Москва (1977), сс. 66 – 73.
21. K. Befort and L. Tabbara, *J. Biol. Chem.*, **271**(17), 10161 – 10168 (1996).
22. M. Valiquette, H. K. Vu, S. Y. Yue, et al., *J. Biol. Chem.*, **271**(31), 18789 – 18796 (1996).
23. <http://www.hyper.com/>
24. U. Burkert and N. L. Allinger, *Molecular mechanics. American Chemical Society Monograph 177*, Washington, D. S. (1982).
25. J. J. P. Stewart, *J. Computer-Aided Molecular Design*, **4**(1), 1 – 105 (1990).
26. K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd (eds.), *Reviews in Computational Chemistry*, VCH Publishers, New York (1990).
27. W. F. Michne, T. R. Lewis, J. Michalec, et al., *J. Med. Chem.*, **22**(10), 1158 – 1163 (1979).
28. G. R. Lenz, S. M. Evans, D. E. Walters, *Opiates*, Academic Press. Inc., New York (1986), p. 409.
29. C. H. Mitch, J. D. Leander, L. G. Mendelsohn, et al., *J. Med. Chem.*, **36**(10), 2842 – 2850 (1993).
30. A. F. Cazy, *Opioid analgetics*, Plenum Press, New York (1986).
31. S. Archer, N. Albertson, and A. Pierson, *Agonist and Antagonist Actions of Narcotic Analgesic Drugs*, Macmillan, London (1973), p. 27.
32. E. L. May, A. E. Jacobson, M. V. Mattson, et al., *J. Med. Chem.*, **43**(10), 5030 – 5036 (2000).
33. M. P. Wentland, N. F. Albertson, and A. K. Pierson, *J. Med. Chem.*, **23**(1), 71 – 74 (1980).
34. A. Goldstein and A. Naidu, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 1033 – 1035 (1978).
35. A. E. Jacobson and E. L. May, *J. Med. Chem.*, **8**(2), 563 (1965).
36. P. S. Portoghese, *J. Med. Chem.*, **35**(11), 1927 – 1937 (1992).
37. H. Merz and K. Stockhaus, *J. Med. Chem.*, **22**(12), 1475 – 1483 (1979).

Поступила 09.12.04.

ELECTRON PROPERTIES OF ARYL FRAGMENTS IN OPIOID RECEPTOR LIGANDS

N. E. Kuz'mina, E. S. Osipova, V. S. Kuz'min, and V. B. Sitnikov

State Research Institute of Organic Chemistry and Technology, Moscow, Russia

The electron properties of aryl moiety in the molecules of opioid receptor agonists and antagonists are compared in terms of the normalized contributions of atomic electron densities to the boundary (frontal) molecular orbitals. Ligands in neutral and protonated forms, as well as in the associated “ligand – receptor fragment” complexes were investigated. The electron properties of the aryl moiety depend on the order of interaction of the active centers of tyramine fragment with opioid receptor. It is suggested that the electron properties of the aryl moiety influence the affinity of molecules to opioid receptors, but do not affect the level of internal activity.