



УДК 577.175.8.02

ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРЫ И АКТИВНОСТИ В РЯДУ
АНТАГОНИСТОВ МУСКАРИНОВОГО АЦЕТИЛХОЛИНОВОГО
РЕЦЕПТОРА: ЧЕТЫРЕ СПОСОБА СВЯЗЫВАНИЯ
АНТАГОНИСТОВ С РЕЦЕПТОРОМ

Тропиа А.Э., Нижний С.В., Ягузинский Л.С.

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Межфакультетская проблемная научно-исследовательская лаборатория
молекулярной биологии и биоорганической химии им. А. Н. Белозерского*

С использованием оригинальной методики проведен анализ данных литературы о связи между структурой и активностью антагонистов мускаринового ацетилхолинового рецептора. Идентифицированы три группы аммонийсодержащих соединений, каждая из которых включает вещества с определенным обязательным элементом химической структуры. Показано, что в каждой группе логарифм константы связывания антагонистов с рецептором линейно зависит от логарифма коэффициента распределения их молекул в системе вода — октанол (π); коэффициенты линейной регрессии при π практически одинаковы. В отдельную группу выделены антагонисты, не содержащие аммониевой группировки. Сделан вывод о возможности реализации четырех типов связи в комплексе антагонист — рецептор.

В предыдущих работах [1, 2] нами был предложен новый подход к анализу связи между структурой и активностью в ряду соединений произвольной химической структуры, взаимодействующих с общим для них рецептором*, с использованием единственного эмпирически введенного параметра структуры — логарифма коэффициента распределения молекул в системе вода — октанол. Проведенный в работе [3] анализ показал, что существует три типа комплексов агонистов с мускариновым ацетилхолиновым рецептором. В настоящей работе указанный подход использован для анализа связи между структурой и активностью в ряду антагонистов этого рецептора.

**Методология и методика анализа связи
между структурой и активностью**

В основу анализа положено представление о возможности существования нескольких способов связывания аналогов гормона с рецептором [3]; реализация того или иного способа связывания зависит от конкретной химической структуры взаимодействующего с рецептором соединения; способы связывания могут различаться по числу функциональных групп рецептора, участвующих в образовании комплекса гормон — рецептор, а также по геометрии гормон-рецепторного комплекса [2, 3].

В настоящей работе вводится следующий дополнительный постулат: при реализации конкретного способа связывания определенные элементы структуры гормона и его аналогов (прежде всего полярные функциональные группы) могут не переходить в гидрофобную фазу рецептора. Этот постулат основывается на данных работы [4], в которой показано, что гидроксильная группа субстратов химотрипсина не переходит в гидрофобную фазу фермента, а также на данных работы [1], в которой аналогичный

Принятые сокращения: π — логарифм коэффициента распределения соединений между водой и октанолом.

* Здесь и далее под рецептором понимается та часть его молекулы, в которой происходит непосредственное связывание молекулы антагониста.

результат получен при исследовании взаимодействия цитокининов с их специфическим рецептором.

В соответствии с описанной ранее методикой [3] на первом этапе анализа изучают зависимость константы связывания от размера молекул в группах соединений с одинаковыми химическими свойствами и выявляют те из них, которые связываются с рецептором оптимально, т. е. без стерических затруднений. На втором этапе исследуют природу химических связей между гормоном и рецептором на множестве соединений различной химической природы, размеры молекул которых не препятствуют оптимальному связыванию. С этой целью логарифмы констант связывания таких соединений сопоставляют с логарифмами их коэффициентов распределения между водой и октанолом и находят линейные корреляции между этими величинами. В тех случаях, когда указанные корреляции не выявляются однозначно, используют сформулированный выше постулат о том, что определенные элементы структуры (полярные функциональные группы) в подгруппах соединений определенного химического класса могут не переходить в гидрофобную фазу рецептора (например, в группе субстратов химотрипсина это гидроксилсодержащие соединения, а соответствующий элемент структуры — гидроксильная группа) и соответственно при расчете значений параметра π их инкременты не должны учитываться. Ясно, что а priori установить, какие это элементы, невозможно. Варьируя значения параметра π в указанных подгруппах соединений, мы руководствуемся следующими критериями для выбора окончательного варианта [3]: все множество соединений должно разбиваться на минимальное число групп (условие 1), в пределах которых соблюдается линейная корреляционная зависимость между логарифмом константы связывания и параметром π (условие 2) и каждая из которых характеризуется специфическим, присущим только соединениям данной группы элементом структуры — функциональной группой (условие 3). Только одновременное выполнение этих условий мы рассматриваем в качестве критерия того, что для каждой группы существует своя специфика связывания с рецептором. О ее природе мы судим по тому характерному элементу структуры, который присущ соединениям данной группы.

Изложенный подход в настоящей работе использован для анализа связи между структурой и активностью в ряду антагонистов мускаринового рецептора.

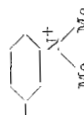
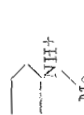


Анализ данных литературы. Проведенный в настоящей работе анализ основывался на полученных в течение ряда лет Барлоу и соавт. [5–8] данных об активности широкой группы антагонистов мускаринового ацетилхолинового рецептора. Работа с доступной литературой показала, что список соединений, изученных в этой лаборатории, включает практически все известные на сегодня структурные типы антагонистов. Соответственно отпадает необходимость в нормировании экспериментальных данных. В работе [9] было показано, что существует единственный (по критерию Хилла) центр связывания антагонистов с мембранно-связанным мускариновым ацетилхолиновым рецептором из мозга крысы. Авторы определили константы связывания K с рецептором для достаточно разнообразной по структуре группы антагонистов и показали, что логарифмы этих величин и логарифмы констант связывания K_D , рассчитанных Барлоу на основании данных о биологической активности этих соединений [5–8], связаны линейной зависимостью, которая описывается уравнением (1):

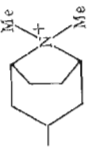
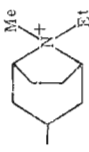
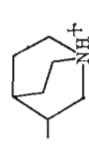
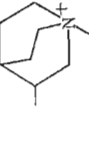

$$\lg K = 0,88 \lg K_D + 0,97. \quad (1)$$



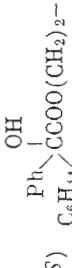
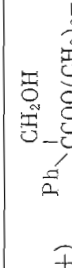
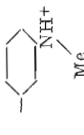
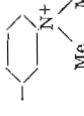
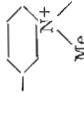
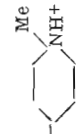
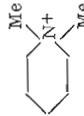
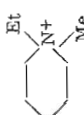
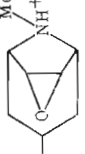





Этот результат позволяет нам интерпретировать данные о биологической активности антагонистов в терминах связывания этих соединений с рецептором и соответственно для анализа связи между структурой и активностью в ряду антагонистов мускаринового ацетилхолинового рецептора использовать разработанный нами подход.

В табл. 1 приведены структурные формулы и описаны некоторые свойства антагонистов, рассмотренных в ходе настоящего анализа. Логарифмы

Свойства антагонистов мускаринового рецептора (по данным работ [5-9]) *

I	-N+Me ₃	-N+Me ₂ Et	-N+MeEt ₂	-N+Et ₃	Me
CH ₃ CH ₂ O-CH ₂ CH ₂ -	4,30 —	Агонист 4,84 —	—	4,50 —	2 3,62 — 4,51
PhCH ₂ COO(CH ₂) ₂ -	4,40 —	4,94 —	5,38 —	5,92 —	9 5,04 — 10 5,43
PhCH ₂ CH ₂ O(CH ₂) ₂ -	4,40 —	4,94 —	5,48 —	6,02 —	17 5,14 — 18 5,55
C ₆ H ₁₁ CH ₂ COO(CH ₂) ₂ -	5,60 —	6,14 —	6,68 —	7,22 —	25 6,34 — 26 5,74
C ₆ H ₁₁ CH ₂ CH ₂ O(CH ₂) ₂ -	5,81 —	6,35 —	6,89 —	7,43 —	33 6,55 — 34 5,92
(C ₆ H ₁₁) ₂ CHCOO(CH ₂) ₂ -	8,40 —	8,94 —	9,48 —	10,02 —	41 9,14 — 42 8,09
(C ₆ H ₁₁) ₂ CHCH ₂ O(CH ₂) ₂ -	8,61 —	9,15 —	9,69 —	10,23 —	49 9,35 — 50 7,60
CH ₂ (CH ₂) ₄ -	Агонист	Агонист	6,44 —	6,98 —	55 6,10 — 56 4,63
Ph(CH ₂) ₅ -	6,88 —	7,48 —	8,02 —	8,56 —	63 7,68 — 64 5,89
C ₆ H ₁₁ (CH ₂) ₅ -	8,29 —	8,83 —	9,37 —	9,91 —	71 9,03 — 72 6,01
PhCH ₂ COO-	4,65 —	 5,31 —	 78 5,89	 79 6,42	 80 5,33 6,71 6,47

I	Et	Me	Et	Me	Et
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$	4,16 — 4,38	4,19 — 4,98	4,73 — 4,49	4,19 — 4,98	4,73 — 4,49
$\text{PhCH}_2\text{COO}(\text{CH}_2)_2-$	5,58 — 5,86	5,61 — 5,53	6,15 — 5,81	5,61 — 5,53	6,15 — 5,81
$\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$	5,68 — 5,73	5,71 — 5,67	6,25 — 5,80	5,71 — 5,67	6,25 — 5,80
$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{CH}_2\text{COO}(\text{CH}_2)_2-$	6,88 — 5,91	6,91 — 5,74	7,45 — 5,74	6,91 — 5,74	7,45 — 5,74
$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{CH}_2\text{CHO}(\text{CH}_2)_2-$	7,09 — 6,01	7,12 — 6,01	7,66 — 6,01	7,12 — 6,01	7,66 — 6,01
$(\text{C}_6\text{H}_{11})_2\text{CHCOO}(\text{CH}_2)_2-$	9,68 — 8,24	9,71 — 8,12	10,25 — 7,74	9,71 — 8,12	10,25 — 7,74
$(\text{C}_6\text{H}_{11})_2\text{CHCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$	9,89 — 7,31	9,92 — 7,40	10,46 — 6,78	9,92 — 7,40	10,46 — 6,78
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4-$	6,64 — 4,81	6,67 — 5,20	7,21 — 4,96	6,67 — 5,20	7,21 — 4,96
$\text{Ph}(\text{CH}_2)_5-$	8,22 — 5,92	8,25 — 5,96	8,79 — 5,77	8,25 — 5,96	8,79 — 5,77
$\text{C}_6\text{H}_{11}(\text{CH}_2)_5-$	9,57 — 6,08	9,60 — 6,19	10,14 — 6,27	9,60 — 6,19	10,14 — 6,27
					
$\text{PhCH}_2\text{COO}-$	6,22 7,37 7,09	6,76 8,14 6,98	4,67 — 6,92	6,76 8,14 6,98	4,67 — 6,92
				5,21 — 84	5,75 — 85
				— — 5,81	— — 5,70

II	--NH+Me ₂	--N+Me ₃	--N+Me ₂ Et	--NH+Et ₂	--N+MeEt ₂	--N+Et ₃
Ph ₂ CHCOO(CH ₂) ₂ --	--	5,69 -- 7,25	6,23 -- 7,62	--	6,77 -- 7,62	7,31 -- 7,43
(±) 	--	2,51 -- 5,61	3,05 -- 6,13	--	3,69 -- 6,22	4,23 -- 6,31
(+) 	6,33 -- 7,46	7,10 -- 8,07	7,64 -- 8,43	7,64 -- 8,00	8,18 -- 8,42	8,72 -- 8,37
(S) 	4,76 -- 7,10	5,53 -- 7,33	6,07 -- 7,88	5,84 -- 7,77	6,61 -- 8,12	7,15 -- 7,98
(+) 	2,60 -- 5,86	3,37 -- 6,29	3,91 -- 6,80	3,68 -- 6,35	4,45 -- 6,83	4,99 -- 6,77
Ph ₂ CHCH ₂ O(CH ₂) ₂ --	--	5,79 -- 6,61	6,33 -- 6,86	--	6,87 -- 6,73	7,41 -- 6,58
Ph ₂ CH(CH ₂) ₄ --	--	8,25 -- 7,15	8,79 -- 7,37	--	9,33 -- 7,21	9,87 -- 6,88
						
(Ph) ₂ CHCOO--	5,81 -- 6,90	6,58 -- 7,19	7,12 -- 7,31	5,81 7,19	157 8,30	7,12 8,50 159 8,94
						
CH ₂ OH (R)PhCHCOO--	1,55 2,93 7,61	2,32 3,70 8,53	2,86 4,24 7,24	3,40 4,78 6,91	3,55 4,93 6,99	4,32 5,70 7,74
OH (S)PhCHCOO--	--	--	--	--	3,31 4,69 7,10	4,08 5,46 7,36

II						
$\text{Ph}_2\text{CHCOO}(\text{CH}_2)_2^-$	--	6,43 90 7,50	6,97 91 7,60	--	7,00 92 7,34	7,54 93 7,12
(±) $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{PhCHCOO}(\text{CH}_2)_2^- \end{array}$	--	3,25 98 6,15	3,79 99 6,44	--	3,82 100 5,90	4,36 101 6,08
(+) $\begin{array}{c} \text{Ph} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_{11} \\ \\ \text{CHCOO}(\text{CH}_2)_2^- \end{array}$	7,30 108 7,88	7,84 109 8,25	8,38 110 8,49	7,87 111 8,36	8,41 112 8,25	8,95 113 8,18
(S) $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_{11} \\ \\ \text{CCOO}(\text{CH}_2)_2^- \end{array}$	5,50 120 7,28	6,27 121 7,54	6,81 122 7,78	6,07 123 7,06	6,84 124 7,40	7,38 125 7,47
(+) $\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{Ph} \\ \\ \text{Me} \\ \\ \text{CCOO}(\text{CH}_2)_2^- \end{array}$	3,34 132 5,46	4,41 133 6,72	4,65 134 6,89	3,91 135 5,63	4,68 136 6,60	5,22 137 6,39
$\text{Ph}_2\text{CHCH}_2\text{O}(\text{CH}_2)_2^-$	--	6,53 142 6,70	7,07 143 6,77	--	7,10 144 6,41	7,64 145 6,36
$\text{Ph}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_4^-$	--	8,99 150 6,95	9,53 151 7,01	--	9,56 152 6,83	10,10 153 6,76
$(\text{Ph})_2\text{CHCOO}^-$	7,66 460 9,04 8,78	6,49 164 7,87 8,09	7,26 162 8,04 8,58	5,95 163 9,61	6,72 164 7,88	7,26 165 8,29
$(R)\text{PhCHCOO}^-$	4,86 172 6,24 7,17	5,40 173 6,78 6,46	5,94 174 7,32 6,14	--	--	--
(S) $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{PhCHCOO}^- \end{array}$	4,62 177 6,00 6,91	--	--	--	--	--

Таблица 1 (окончание)

III	--NH+Me ₂	--N+Me ₃	--N+Me;Et	--NH+Et ₂	--N+Me;Et ₂	--N+Et ₃
OH Ph ₂ CCOO(CH ₂) ₂ -	-	4,12 - 8,46	4,66 - 8,82	-	5,20 - 8,85	180 - 8,85
(R) OH C ₆ H ₁₁ > CCOO(CH ₂) ₂ -	4,76 - 8,78	5,53 - 9,45	6,07 - 9,81	5,84 - 9,15	6,61 - 9,77	190 - 9,77
CH ₂ OH (-)-Ph Me > CCOO(CH ₂) ₂ -	2,60 - 7,44	3,37 - 8,12	3,91 - 8,75	3,68 - 8,01	4,45 - 8,43	202 - 8,43
OH Ph ₂ CCOO-	4,24 - 8,63	5,01 - 8,75	5,55 - 8,75	4,24 5,62 9,71	5,01 6,39 9,99	214 6,93 9,39
CH ₂ OH (S)PhCHCOO-	4,55 4,47 ** 9,20	2,32 5,24 ** 9,50	2,86 5,78 ** 8,54	3,40 6,32 ** 8,21	3,55 4,93 9,22	226 5,70 9,47
IV						
Ph ₂ CHCOO(CH ₂) ₂ -	5,76 - 5,80	231 - 5,80				
Ph OH (±)C ₆ H ₁₁ > CCOO(CH ₂) ₂ -	5,60 - 6,64	232 - 6,64				
OH Ph ₂ CCOO(CH ₂) ₂ -	4,19 - 7,60	233 - 7,60				
OH (±)PhCHCOO(CH ₂) ₂ -	2,58 - 5,80	234 - 5,80				

III						
OH Ph ₂ CCOO(CH ₂) ₂ -	-	4,86 - 8,52	5,40 - 8,58	-	5,43 - 8,03	5,97 - 8,02
OH Ph C ₆ H ₁₁ \ CCOO(CH ₂) ₂ -	5,50 - 8,77	6,27 - 9,45	6,81 - 9,52	6,07 - 8,89	6,84 - 9,30	7,38 - 9,11
CH ₂ OH Ph Me \ CCOO(CH ₂) ₂ -	3,34 - 7,70	4,41 - 8,21	4,65 - 8,27	3,91 - 7,53	4,68 - 8,09	5,22 - 8,41
OH Ph ₂ CCOO-	6,09 7,47 8,72	4,92 6,30 9,31	5,69 7,07 10,1	4,38 - 9,72	5,15 - 9,27	5,69 - 9,19
CH ₂ OH (S) ₂ Ph ₂ CHCOO-	4,86 6,24 8,70	5,40 6,78 7,57	5,94 7,32 7,21			

* Кавалая клетка таблицы содержит в правом верхнем углу — порядковый номер соединения; в левом верхнем углу — расцепное значение параметра τ ; в левом нижнем углу — значение параметра τ после вычитания инкремента COO-группы (только для соединений, у которых фрагмент А трехзвенный), в правом нижнем углу — логарифмы константы смещения, рассчитанные по уравнению (1). ($r=0,995$).

† Из значений параметра τ кроме инкремента COO-группы вычитали также инкремент атома кислорода.

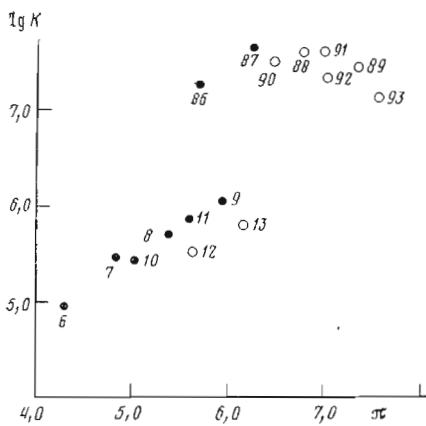


Рис. 1. Зависимость константы связывания K от параметра π в группах гомологов. Зачерненные кружки соответствуют соединениям, связывающимся с рецептором оптимально (без стерических затруднений), незачерненные кружки — соединениям, связывающимся неоптимально

и размеры которых контролируют связывание (см. табл. 2, химическую формулу I): аммониевая группа с алкильными заместителями или трет-бутильная группа (I, фрагмент Y); сложноэфирная группа или группа, ее замещающая (I, фрагмент X); цепочка углеродных атомов между фрагментами X и Y (I, фрагмент A); заместитель при группе X (I, фрагмент R).

Вначале были определены оптимальные размеры фрагмента Y. Для каждого типа структуры антагонистов (определенного набора фрагментов X и R, формулы которых приведены в первом столбце табл. 1) найдены

коэффициентов распределения соединений между водой и октанолом, как и ранее [3], рассчитаны нами по методу, описанному в работе [10], исходя из предположения, что инкремент π аммониевого атома азота для всех антагонистов одинаков, и поэтому этот инкремент не учитывали. Константы связывания рассчитаны по уравнению (1) на основании данных Барлоу и соавт. [5–8].

Определение оптимальных размеров антагонистов. В соответствии с изложенным выше подходом на первом этапе анализа были выявлены соединения, которые связываются без стерических препятствий. При этом, как и для агонистов мускаринового ацетилхолинового рецептора [3], выделены а priori следующие фрагменты структуры антагонистов, которым соответствуют определенные локусы связывания на рецепторе

Таблица 2

Специфические элементы структуры антагонистов мускаринового рецептора (по данным табл. 1)

Формула I	R—X—A—Y		Строение фрагмента R		
	Строение фрагмента X	Число углеродных атомов во фрагменте A	Строение фрагмента Y	характерное	нехарактерное
I	$\begin{array}{l} -\text{COO}- \\ -\text{CH}_2\text{O}- \\ -(\text{CH}_2)_2- \end{array}$	2–3	$\begin{array}{c} \text{R}' \\ \diagdown \\ -\text{N}^+-\text{R}'' \\ \diagup \\ \text{R}''' \end{array}$	—	PhCH ₂ —
II	$\begin{array}{l} -\text{COO}- \\ -\text{CH}_2\text{O}- \\ -(\text{CH}_2)_2- \end{array}$	2–3	$\begin{array}{c} \text{R}' \\ \diagdown \\ -\text{N}^+-\text{R}'' \\ \diagup \\ \text{R}''' \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{Ph}-\text{C}- \\ \end{array}$	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)\text{OH} \\ \\ \text{Ph}-\text{C} \\ \end{array}$
III	—COO—	2–3	$\begin{array}{c} \text{R}' \\ \diagdown \\ -\text{N}^+\text{R}'' \\ \diagup \\ \text{R}''' \end{array}$	$\begin{array}{c} (\text{CH}_2)\text{OH} \\ \text{Ph}-\text{C}- \\ \end{array}$	—
IV	—COO—	2	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array}$	—	$\begin{array}{c} \text{PhCH}_2- \\ \text{Ph}-\text{C}- \\ \\ (\text{CH}_2)\text{OH} \\ \\ \text{Ph}-\text{C}- \\ \end{array}$

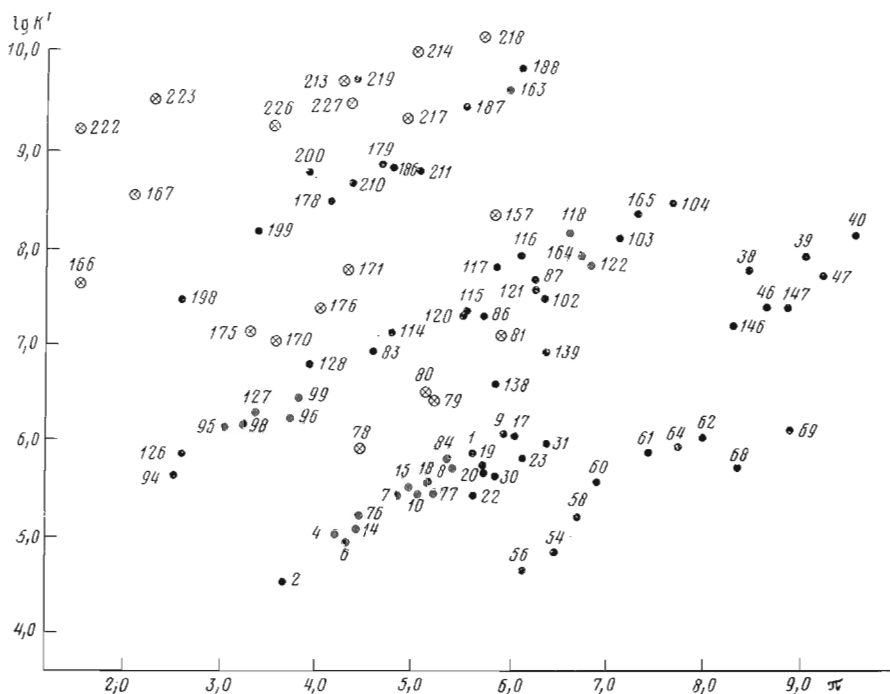


Рис. 2. Сопоставление константы связывания K с параметром π для соединений, связывающихся с рецептором оптимально. Зачерненные кружки соответствуют соединениям, у которых число звеньев n , составляющих фрагмент А (см. формулу 1 в табл. 2), равно 2; кружки с крестиком внутри — соединениям, у которых $n=3$

константы связывания гомологов с различной структурой фрагмента Y (табл. 1, горизонтальные ряды). Была изучена зависимость логарифма константы связывания от размеров молекул указанных соединений. Поскольку в рядах гомологов коэффициент распределения соединений между водой и октанолом пропорционален размеру их молекул, практически рассматривалась зависимость константы связывания от параметра π . Примеры таких зависимостей приведены на рис. 1; аналогичные исследования проведены для всех типов структуры антагонистов. Как указывалось ранее [2], падение (точнее, невозрастание) константы связывания с ростом π в группах гомологов может быть обусловлено только появлением стерических затруднений при связывании. Анализ показал, что, как правило, без стерических затруднений связываются соединения, размер фрагмента Y которых не превышает размеров этилдиметиламмониевой группы (пример — рис. 1, соед. (86) и (87)); антагонисты с большими по размеру заместителями при атоме азота в ходе последующего анализа не рассматривались. Исключение составили соединения, фрагмент R которых содержит одно фенильное ядро (табл. 1, соед. (6), (14), (60) и их гомологи) — у этих соединений требования к размеру фрагмента Y для оптимального связывания оказались более мягкими (пример — рис. 1, соед. (6)–(13)), т. е. уменьшение размеров фрагмента R частично снимает ограничения на размер фрагмента Y.

Влияние длины фрагмента А на активность антагонистов рассмотрено ниже. Проведенный нами анализ не выявил стерических ограничений для связывания фрагмента R.

Изучение природы связи антагонистов с рецептором. В соответствии с описанной выше методикой мы сопоставили логарифмы констант связывания соединений с различной химической структурой, размеры которых не препятствуют оптимальному связыванию, с логарифмами коэффициентов распределения их молекул между водой и октанолом (рис. 2). Очевидно, что можно выделить отдельные группы соединений, в пределах которых наблюдается линейная зависимость между указанными величинами,

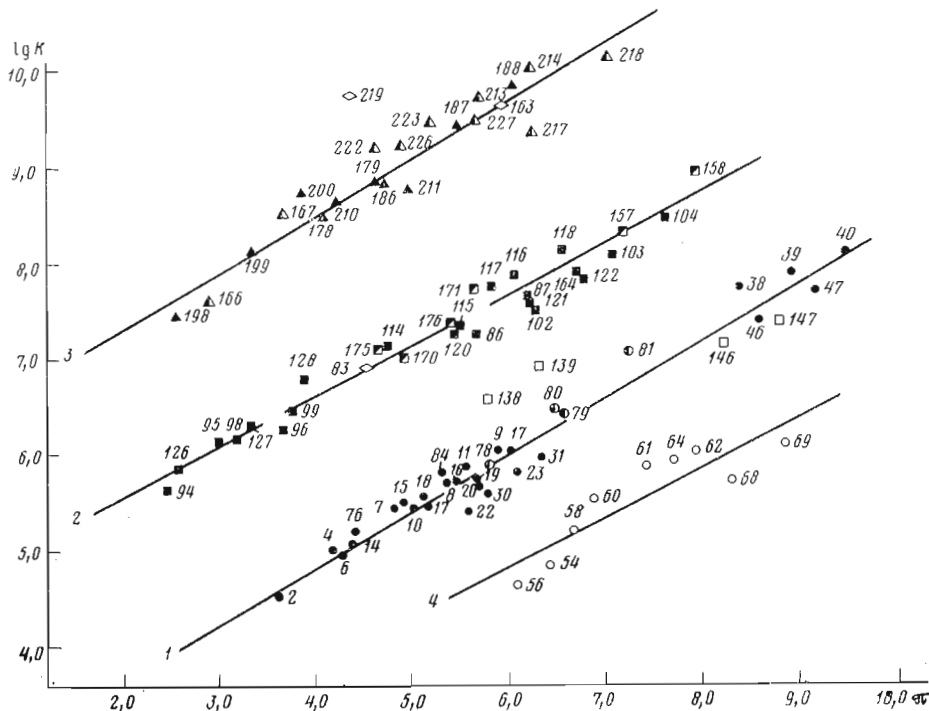


Рис. 3. Зависимость константы связывания K от параметра π : 1 — соединения первой группы (см. табл. 1) (кружки: зачерненные соответствуют соединениям, у которых число звеньев n , составляющих фрагмент А (см. формулу 1 в табл. 2), равно 2; наполовину зачерненные — соединениям, у которых $n=3$; уравнение (2), $r=0,983$); 2 — соединения второй группы (квадраты: зачерненные — соединения, у которых $n=2$, наполовину зачерненные — соединения, у которых $n=3$; уравнение (3), $r=0,977$); 3 — соединения третьей группы (треугольники: зачерненные — соединения, у которых $n=2$, наполовину зачерненные — соединения, у которых $n=3$; уравнение (4), $r=0,939$); 4 — соединения первой группы, не содержащие сложноэфирной группировки (незачерненные кружки; уравнение (5), $r=0,895$). Незачерненные квадраты — соединения второй группы, не содержащие сложноэфирной группировки, незачерненные ромбы — соединения с хиноклидиновым ядром

однако картина в целом трудно дать однозначную трактовку. На данном этапе анализа был использован введенный выше постулат о том, что определенные фрагменты антагонистов (в первую очередь полярные функциональные группы) могут не связываться в гидрофобной области рецептора. Анализируя данные табл. 1 и рис. 2, мы обратили внимание на то, что соединения типа (77), (155) и (211), в которых заряженная аммониевая группа и сложноэфирная группа разделены двумя звеньями, при одинаковом значении параметра π менее активны, чем их аналоги (79), (158), (214), в которых эти группы разделены тремя звеньями. Мы предположили далее, что при связывании последних сложноэфирная группа не переходит в гидрофобную область рецептора, и в соответствии с описанной выше методикой вычислили ее инкремент π ($\pi_{\text{COO}} = -1,38$) из величины полного коэффициента распределения указанных соединений. После выполнения этой процедуры была получена следующая картина (рис. 3). Множество антагонистов оказалось разбито на три большие группы, в пределах каждой из которых наблюдается линейная зависимость между логарифмом константы связывания и параметром π . Наблюдаемое разбиение можно считать неслучайным только тогда, когда в каждой из групп можно выделить характерный (необходимый) элемент структуры — функциональную группу (см. выше). При анализе строения фрагментов Y и X изученного множества соединений такие элементы не были выявлены. В то же время анализ особенностей строения фрагмента R показывает (табл. 2), что характерными элементами структуры этого фрагмента в соединениях, принадлежащих к группе III (см. табл. 1 и кривую 3 на рис. 3), являются

фенильное ядро и гидроксильная группа; обязательным элементом структуры фрагмента R соединений группы II является фенильное ядро, связанное с третичным или четвертичным атомом углерода; соединения группы I не содержат характерного элемента структуры, способного к специфическому взаимодействию с рецептором (табл. 2). Таким образом, для каждой группы антагонистов действительно существует своя специфика в строении фрагмента R. Зависимости константы связывания от параметра π в группах I—III (табл. 1), рассчитанные по методу наименьших квадратов, описываются уравнениями

$$\lg K = 0,59\pi + 2,44, \quad (2)$$

$$\lg K = 0,53\pi + 4,46, \quad (3)$$

$$\lg K = 0,57\pi + 6,24. \quad (4)$$

Можно видеть (рис. 3), что корреляционным зависимостям (2) и (3) не подчиняются свойства соединений первой и второй группы, не содержащие сложноэфирной группировки (соответственно соединения (54), (56), (58), (60)—(62), (64), (68), (69) и (138), (139), (146), (147)). В пределах указанной подгруппы соединений первой группы наблюдается следующая корреляционная зависимость (кривая 4 на рис. 3):

$$\lg K = 0,52\pi + 1,70. \quad (5)$$

Таким образом, применение разработанной нами методики позволило однозначно и количественно установить связь между структурой и активностью антагонистов мускаринового рецептора. Ниже детально обсуждается специфика связывания соединений отдельных групп.

Особенности связывания с рецептором сложноэфирной группы. Роль фрагмента A

Множество антагонистов мускаринового рецептора можно разбить на три группы, каждая из которых характеризуется специфическим элементом структуры (табл. 1 и 2), если исходить из предположения, что в случае соединений, в молекулах которых фрагмент A состоит из трех звеньев, сложноэфирная группа не переходит в гидрофобную область рецептора и, следовательно [4], не участвует в образовании специфической связи с рецептором. После введения соответствующей поправки в величину π таких антагонистов (табл. 1) оказалось, что они подчиняются тем же корреляционным зависимостям между константой связывания и параметром π , что и соединения, в которых фрагмент A двухзвенный и для которых такая поправка не вводилась. Из этого следует, что и в последних сложноэфирная группа, хотя и переходит в гидрофобную область рецептора, также не образует специфической связи. Таким образом, во всех антагонистах сложноэфирная группа не участвует в специфическом взаимодействии с рецептором, причем в зависимости от длины фрагмента A переходит либо не переходит в гидрофобную область рецептора.

Как указывалось выше, соединения, не содержащие сложноэфирной группы, при одинаковом значении параметра π связываются с рецептором менее прочно, чем их карбоксилсодержащие аналоги. Можно предположить, что различие в энергии связывания этих групп соединений с рецептором обусловлено не особенностью химических свойств сложноэфирной группы, а ее стерическими особенностями.

Четыре способа связывания антагонистов с рецептором

Существование полученных выше зависимостей (уравнения (2)—(4)) означает, что в пределах каждой группы изменение константы связывания определяется только изменением общей гидрофобности молекул антагонистов. Важно, что эта зависимость для всех групп однотипна, поскольку значения коэффициента при π в уравнениях (2)—(4) близки. Это озна-

чает, что способ сорбции соединений всех трех групп на гидрофобной площадке рецептора одинаков, а дискретная разница в константах связывания антагонистов из разных групп при равном значении параметра π (рис. 3) обусловлена тем, что при связывании более активных соединений за счет характерных особенностей структуры реализуется некоторый дополнительный тип взаимодействия.

В табл. 2 представлены элементы структуры фрагмента R антагонистов, способные априори к специфическому взаимодействию с рецептором. Анализ этой таблицы позволяет дискриминировать те элементы структуры, которые определяют специфику связывания с рецептором соединений каждой группы.

Особенности связывания с рецептором соединений первой группы. Анализ данных табл. 2 (группа I) показывает, что фрагмент R соединений первой группы не содержит характерного (присутствующего во всех соединениях группы) элемента структуры, способного к специфическому взаимодействию с рецептором. Таким образом, следует заключить, что связывание соединений первой группы с рецептором определяется исключительно эффективностью гидрофобного взаимодействия с рецептором.

Специфические элементы структуры, участвующие в связывании с рецептором соединений второй группы. Характерным элементом структуры фрагмента R соединений второй группы является фенильное ядро, связанное с третичным или четвертичным атомом углерода. Существенно, что соединения, в которых фенильное ядро связано с вторичным атомом углерода (табл. 1, соед. (6) и его гомологи), принадлежат к группе I (табл. 1, кривая 1 на рис. 3). Это обстоятельство указывает на то, что сочетание во фрагменте R таких специфических элементов структуры, как разветвление и фенильное ядро, приводит к тому, что последнее приобретает способность к специфическому взаимодействию с рецептором. Это взаимодействие и обуславливает более высокое сродство к рецептору соединений группы II по сравнению с соединениями группы I.

Специфические элементы структуры, участвующие в связывании с рецептором соединений третьей группы. Так же как и в соединениях второй группы, обязательным элементом структуры фрагмента R соединений третьей группы является фенильное ядро при третичном или четвертичном атоме углерода (табл. 2), участвующее, как показано выше, в специфическом взаимодействии с рецептором. Другим обязательным элементом структуры этих соединений является гидроксильная группа. Настоящий раздел посвящен доказательству того, что более высокие, чем у соединений второй группы, константы связывания соединений третьей группы при одинаковом значении параметра π обусловлены специфическим взаимодействием с рецептором именно этой функциональной группы.

Как видно из табл. 1, часть молекул антагонистов содержит асимметрический атом углерода, причем стереоизомеры, как правило, существенно различаются по величине сродства к рецептору: менее активные входят в группу II (соед. (114), (126), (170) и их гомологи), а более активные — в группу III (соед. (186), (198), (226)); см. кривые 2 и 3 на рис. 3). Столь большая разница в величинах констант связывания стереоизомеров (примерно на два порядка), а также то обстоятельство, что кривые зависимости константы связывания соединений обеих групп от параметра π имеют одинаковый наклон (ср. уравнения (3) и (4)), означают, что в менее активных стереоизомерах определенная функциональная группа (во всех соединениях одна и та же) не участвует во взаимодействии с рецептором. Можно видеть, что этой группой является гидроксил.

Действительно, ОН-группа не является обязательным элементом структуры соединений второй группы (ср., например, соед. (86) и (95)), тогда как все соединения группы III содержат ее. Соединение (115) (стереоизомер более активного соединения (187)) является оксипроизводным соединения (104), причем оба принадлежат ко второй группе. Это обстоятельство свидетельствует о том, что при связывании соединений второй группы гидроксил неспецифически переходит в гидрофобную область рецептора. Существенно также, что соединение (86), не имеющее оптически активно-

го атома углерода, входит в группу II, тогда как его гидроксилсодержащий аналог (179), также оптически неактивный, принадлежит к группе III. Таким образом, совокупность приведенных здесь фактов доказывает, что при взаимодействии соединений третьей группы входящая в их состав ОН-группа образует специфическую связь с рецептором; в случае же соединений второй группы эта связь не образуется.

Роль аммониевой группы в связывании антагонистов с рецептором. Выше были рассмотрены три группы антагонистов, содержащих положительно заряженную аммониевую группировку. Было показано, что увеличение объема заместителей при атоме азота приводит к уменьшению константы связывания антагонистов; это обстоятельство указывает на участие четвертичной аммониевой группы в связывании с рецептором. Об этом же говорит тот факт, что соединения с хинуклидиновым ядром (83), (163), (219), у которых третичный аммониевый атом азота менее экранирован, чем у их метилпроизводных (84), (164), (220), связываются с рецептором прочнее последних (табл. 1). В то же время известны антагонисты мускаринового рецептора, не содержащие аммониевой группы [8]: это соединения (231)–(234), являющиеся аналогами описанных выше соединений (86), (115), (178), (95). Константы связывания этих соединений сопоставимы с константами связывания их аммонийсодержащих аналогов (см. табл. 1). Таким образом, можно выделить четвертый тип связывания антагонистов с рецептором, который реализуется без участия аммониевой группы (табл. 2).

Особенности взаимодействия агонистов и антагонистов с мускариновым ацетилхолиновым рецептором

Проведенный в предыдущей [3] и настоящей работах анализ взаимодействия агонистов и антагонистов с мускариновым ацетилхолиновым рецептором позволяет выявить следующие основные различия в связывании этих групп соединений с рецептором: 1) для активации рецептора агонистом достаточно связывания гидрофобного катиона (тетраметиламмоний, по данным работы [11], является полным агонистом); для антагонистов участие заряженной аммониевой группы в связывании не является обязательным (соединения (231)–(234), лишённые аммонийной группы, достаточно эффективно связываются с рецептором). Таким образом, «минимальный» агонист — это гидрофобный катион, а «минимальный» антагонист — электронейтральная гидрофобная молекула; 2) сложноефирная группа агонистов специфически взаимодействует с рецептором, тогда как в случае антагонистов эта группа не принимает участия в таком взаимодействии. Этим обусловлено качественное различие в характере зависимостей логарифмов констант связывания с рецептором в отдельных подгруппах агонистов и антагонистов от параметра π . В случае антагонистов введение новой функциональной группы в молекулу приводит к увеличению логарифма константы связывания на постоянную величину. В случае же агонистов введение дополнительных функциональных групп сопряжено с изменением тангенса угла наклона прямой, отражающей зависимость логарифма константы связывания от параметра π .

ЛИТЕРАТУРА

1. Рахманинова А. Б., Хавкин Э. Е., Ягужинский Л. С. Биохимия, 1978, т. 43, № 5, с. 806–823.
2. Тропша А. Э., Рахманинова А. Б., Ягужинский Л. С. Биоорг. химия, 1984, т. 10, № 4, с. 482–493.
3. Тропша А. Э., Нижний С. В., Ягужинский Л. С. Биоорг. химия, 1985, т. 11, № 10, с.
4. Березин И. В., Мартинек К. Основы физической химии ферментативного катализа. М.: Высшая школа, 1977.
5. Abramson F. B., Barlow R. B., Mustafa M. G., Stephenson R. P. Brit. J. Pharmacol., 1969, v. 37, № 1, p. 81–93.
6. Abramson F. B., Barlow R. B., Franks F. M., Pearson J. D. M. Brit. J. Pharmacol., 1974, v. 51, № 1, p. 81–93.

7. Barlow R. B., Franks F. M., Pearson J. D. M. *J. Med. Chem.*, 1973, v. 16, № 5, p. 439-446.
8. Barlow R. B., Tubby J. H. *Brit. J. Pharmacol.*, 1974, v. 51, № 1, p. 95-100.
9. Hulme E. C., Birdsall N. J. M., Burgen D. S. V., Menta P. *Mol. Pharmacol.*, 1978, v. 14, № 7, p. 737-750.
10. Hansch C., Leo A. *Substituents constants for correlation analysis in chemistry and biology*. N. Y.: Wiley, 1979.
11. Van Rossum J. M., Ariens E. J. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1959, v. 118, № 3-4, p. 418-446.

Поступила в редакцию
1.11.1985

STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS IN THE SERIES OF MUSCARINIC ANTAGONISTS: FOUR MODES OF ANTAGONIST-RECEPTOR BINDING

TROPSHA A. E., NIZHNY S. V., YAGUZHINSKY L. S.

*A. N. Belozersky Laboratory of Molecular Biology and Bioorganic
Chemistry, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow*

The data available in literature on the structure-activity relationships in the series of muscarinic antagonists have been analyzed. Three groups of the ammonium compounds are distinguished, each containing a specific chemical structure element. For the antagonist association with the receptor, the binding constant logarithms within each group depend linearly on the partition coefficient (π) logarithms characterizing their distribution in the water-octanol system. The linear regression coefficients for π are practically identical. A separate group consists of antagonists that have no ammonium grouping. Four possible modes of antagonist-receptor binding are surmized.