

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Р. А. Альтшулер, 2005

Р. А. Альтшулер

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СРОДСТВА ФЕНИЛЭТИЛАМИНОВ К МЕСТАМ СВЯЗЫВАНИЯ МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТЕРА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МОДЕЛЕЙ

Отдел фармакологии фармацевтического факультета Иерусалимского университета Медицинского центра Хадасса, Эйн Керем, Израиль

Причины, обуславливающие различие в сродстве фенилэтиламинов (ФЭА) к местам связывания мембранного транспортера, рассмотрены с помощью молекулярных моделей энантиомеров ФЭА. Показано, что в моделях энантиомеров, построенных в планарной *анти*-конформации, заместители на асимметрических атомах занимают различное положение по отношению к воображаемым местам связывания. Оценка положения этих заместителей в биофазе позволяет объяснить механизм, обуславливающий зависимость сродства ФЭА от их структуры.

Способность фенилэтиламинов (ФЭА) тормозить нейрональный захват норадреналина (НА) обусловлена их сродством к местам связывания мембранного транспортера (МТ) и не зависит от аккумуляции ФЭА внутри нейрона и высвобождения эндогенного НА [1]. ФЭА, ингибирующие захват НА, можно разделить на две группы. К первой относятся транспортируемые ФЭА, близкие по структуре и физико-химическим свойствам к НА. Эти ФЭА служат субстратами для МТ [1, 2], а их перенос через нейрональную мембрану опосредован образованием субстрат-транспортного комплекса. Ко второй группе относятся нетранспортируемые ФЭА, которые не могут служить субстратами для МТ, так как в их молекулах, в фрагменте β -фенилэтиламина, присутствуют объемные гидрофобные заместители.

Сравнение ингибирующей активности β -фенилэтиламина и его производных показало, что α -метилирование боковой цепи и присутствие фенольных гидроксильных групп в *пара*- и *мета*-положении усиливают, а β -гидроксилирование и *N*-алкилирование боковой цепи, а также *O*-метилирование фенольных гидроксильных групп — ослабляют ингибирующее действие препаратов [3–6]. Поскольку остается неясным, каким образом эти изменения структуры ФЭА приводят к изменению их ингибирующего действия, представляло интерес сравнить сродство ФЭА к воображаемым местам связывания МТ с помощью молекулярных моделей. Наиболее удобным объектом для такого сравнения являются энантиомеры ФЭА, так как при одинаковой химической структуре энантиомеров различие в их конфигурации (последовательности расположения заместителей вокруг асимметрического атома углерода) обуславливает различие в их сродстве и, соответственно, ингибирующем действии [3, 4, 7–9].

Метод рассмотрения молекулярных моделей ФЭА

С помощью молекулярных моделей Фейзер-Драйдинга рассмотрены различные производные β -фенилэтиламина, в том числе препараты, у которых атом азота в фрагменте β -фенилэтиламина включен в гетероцикл (таблица). Модели оптических изомеров, транспортируемых (НА, амфетамин, эфедрин) и нетранспортируемых ФЭА (сиднокарб, пипрадрол, дезоксипипрадрол и метилфенидат), строили в соответствии с данными об их абсолютной *R,S*-конфигурации: *L*-энантиомеры НА, амфетамина, пипрадрол и дезоксипипрадрол в *R*-конфигурации, а их *D*-энантиомеры в *S*-конфигурации; *L*-энантиомер эритро-эфедрин строили в $\alpha S, \beta R$ -, а *D*-энантиомер в $\alpha R, \beta S$ -конфигурации, *L*-энантиомер трео-эфедрин строили в $\alpha R, \beta R$ -, а *D*-энантиомер — в $\alpha S, \beta S$ -конфигурации. В отличие от оптических изомеров трео-эфедрин, *L*-энантиомер трео-метилфенидата имеет $\alpha S, \beta S$ -, а *D*-энантиомер $\alpha R, \beta R$ -конфигурацию.

Метод сравнительной оценки сродства ФЭА к местам связывания МТ разработан на моделях энантиомеров, транспортируемых ФЭА. Фрагмент β -фенилэтиламина в моделях ФЭА строили в предпочтительной конформации к местам связывания. В этой конформации модели энантиомеров отличаются друг от друга не только порядком расположения заместителей вокруг асимметрического атома углерода, но также ориентацией этих заместителей по отношению к воображаемым местам связывания. Оценка положения в биофазе заместителей в фрагменте β -фенилэтиламина позволяет сравнить кажущееся сродство одного ФЭА со сродством другого, результаты сравнительной оценки сродства ФЭА сопоставляли с рангом реальной ингибирующей активности сравниваемых препаратов.

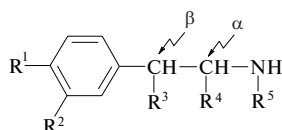
1. Факторы, обуславливающие средство ФЭА к местам связывания МТ.

1.1. Способность адреналина, тирамина, амфетамина и метараминола конкурировать с L-НА за места связывания МТ [1] свидетельствует, что ФЭА и L-НА имеют общие места связывания, а предпочтительная конформация ФЭА, в которой фрагмент фенилэтиламина в их молекулах комплементарен к местам связывания соответствует предпочтительной конформации L-НА. К основным функциональным группам, взаимодействующим с местами связывания, относятся фенильный цикл и азот аминогруппы. Кроме них с активными центрами мест связывания взаимодействуют также *para*- и *meta*-гидроксилы фенильного цикла. Присутствие этих гидроксильных групп усиливает средство ФЭА [3]. В отличие от фенольных гидроксильных групп β-гидроксильная группа в боковой цепи ФЭА не взаимодействует с местами связывания. Показано, что β-гидроксилирование ФЭА приводит к уменьшению их средства [3, 4, 10]. С местами связывания не взаимодействуют также N-алкильные и α-алкильные заместители в боковой цепи ФЭА и метоксигруппы в фенильном цикле O-метилированных ФЭА, поскольку эти заместители отсутствуют у L-НА, как естественного субстрата для МТ.

1.2. МТ НА получен путем клонирования, определен аминокислотный состав этого белка, но его тре-

тичная структура не установлена [11]. Согласно представлениям о липидобелковой мозаичной структуре клеточных мембран [12] трансмембранные транспортные протеины имеют гидрофильные участки, расположенные на наружной и внутренней поверхностях мембраны, и среднюю гидрофобную область, которая погружена в двойной липидный слой мембраны. Таким образом, на наружной поверхности нейрональной мембраны места связывания находятся на границе между экстрацеллюлярной жидкостью и гидрофобной областью транспортера, а на внутренней поверхности они располагаются между гидрофобной областью транспортера и гидрофильной средой цитоплазмы (рис. 1, а). На границе раздела двух сред заместители, не взаимодействующие у ФЭА с местами связывания, стремятся занять энергетически выгодное положение — гидрофильные заместители в направлении к гидрофильной среде, а гидрофобные — в направлении к гидрофобной области МТ. Однако у энантиомеров ФЭА, имеющих предпочтительную конформацию к местам связывания, ориентация заместителей на асимметрическом атоме углерода зависит от последовательности их расположения (конфигурации) вокруг этого атома и поэтому может быть как выгодной, так и неблагоприятной энергетически. В случае изменения ориентации заместителя на асимметрическом атоме энантиомер утрачивает предпочтительную конформацию и не может эффективно взаимодействовать с местами связывания (рис. 1, б).

Производные фенилэтиламина и соединения, содержащие фрагмент фенилэтиламина



Препараты*	Заместители				
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
Норадреналин (β)	ОН	ОН	ОН	Н	Н
Октопамин (β)	ОН	Н	ОН	Н	Н
Амфетамин (α)	Н	Н	Н	СН ₃	Н
Эфедрин (α, β)	Н	Н	ОН	СН ₃	СН ₃
Прениламин (α)	Н	Н	Н	СН ₃	СН ₂ СН ₂ СН(С ₆ Н ₅) ₂
Буфенин (β)	ОН	Н	ОН	Н	СН(СН ₃)СН ₂ СН ₂ С ₆ Н ₅
Сиднокарб (α)					
Пипрадрол и родственные соединения:					
Пипрадрол (α)	R' = ОН, R'' = С ₆ Н ₅				
Дезоксипипрадрол (α)	R' = Н, R'' = С ₆ Н ₅				
Метилфенидат (α, β)	R' = COOСН ₃ , R'' = Н				

* — (α) и (β) обозначают положение асимметрического атома углерода в фенилэтиламинном фрагменте препаратов.

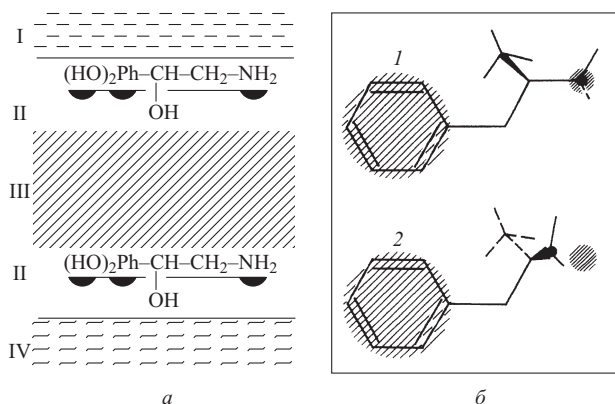


Рис. 1. а). Схема расположения мест связывания НА на мембранном транспорте: черные полукружия — места связывания; I — экстрацеллюлярная жидкость; II — гидрофильная и III — гидрофобная области транспортера; IV — цитоплазма. б). Плоскость молекулярной модели L-амфетамина в двух конформациях. Черный кружок — атом азота; штриховка — область воображаемых мест связывания фенильного цикла и азота аминогруппы; в боковой цепи связи между углеродными и водородными атомами не показаны: 1 — L-Амфетамин в предпочтительной конформации; обе функциональные группы расположены на плоскости и комплементарны к местам их связывания, метильная группа на асимметрическом α -углеродном атоме находится над плоскостью. 2 — L-Амфетамин в результате поворота метильной группы (она находится за плоскостью) утратил предпочтительную конформацию; атом азота аминогруппы некомплементарен к месту его связывания и находится над плоскостью

1.3. Представления о предпочтительной конформации ФЭА основаны на данных изучения наиболее устойчивой конформации НА, дофамина (ДА) и амфетамина в твердом состоянии и в водных растворах, а также на данных изучения ингибиторов захвата, имеющих конформационно-ригидную структуру [13]. Эти исследования показали, что боковая этиламинная цепь в молекулах ФЭА полностью вытянута и находится в трансoidalном положении по отношению к фенильному циклу (*анти*-конформация). Поскольку боковая цепь может вращаться вокруг своей связи с фенильным циклом, авторы [14] считают, что для взаимодействия с местами связывания оптимальной является планарная *анти*-конформация, в которой боковая цепь и фенильный цикл находятся на одной плоскости. По мнению других авторов [6, 15], оптимальной является непланарная *анти*-конформация, в которой боковая цепь повернута на 90° по отношению к плоскости фенильного цикла. Энергетическое различие между этими конформациями составляет не более 0,2 ккал/моль, что в 50 – 60 раз меньше энергии связывания препаратов с их рецепторами [13].

1.4. Модели L-НА, построенные в непланарной и планарной *анти*-конформации (рис. 2, а и б), ориентировали к воображаемым местам связывания в соответствии с представлением о расположении мест связывания на границе раздела двух сред. Фенильный цикл в моделях L-НА помещали на плоскость, ниже которой находится воображаемая гидрофобная область МТ, а выше плоскости — гидрофильная экстрацеллюлярная среда. На границе раздела двух сред пла-

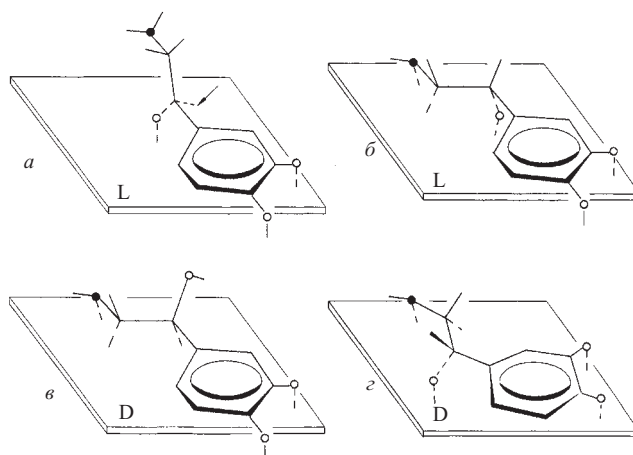


Рис. 2. Стереомодели энантимеров НА. Черный кружок — атом азота; светлые кружочки — атомы кислорода. а — L-НА в непланарной конформации; стрелкой показано положение β -ОН группы у D-энантиомера. б — L-НА и в — D-НА в планарной конформации. г — D-НА в планарной конформации перевернута на 180° , фенильный цикл и аминогруппа совмещены с воображаемыми местами связывания этих групп у L-НА

нарное положение фенильного цикла является энергетически наиболее выгодным. В отличие от фенильного цикла β -гидроксильная группа не только не взаимодействует с местами связывания, но присутствие этой группы в молекулах ФЭА уменьшает их сродство к МТ [3, 4, 10]. Поэтому боковую цепь L-НА ориентировали по отношению к плоскости фенильного цикла так, чтобы β -гидроксильная группа находилась в энергетически неблагоприятном положении, ниже плана фенильного цикла в направлении к воображаемой гидрофобной области МТ. Фрагмент β -фенилэтиламина в моделях ФЭА ориентировали к воображаемым местам связывания аналогично его ориентации в модели L-НА.

1.5. Согласно существующим представлениям процесс активного транспорта моноаминов имеет дискретный характер, он прекращается, если переносчик связан, и возобновляется после его освобождения от транспортируемого моноамина на внутренней поверхности мембраны [1]. Гидрофильные свойства транспортируемых ФЭА облегчают их переход в цитоплазму и, тем самым, способствуют распаду субстрат-транспортного комплекса и освобождению переносчика. В отличие от этих препаратов нетранспортируемые ФЭА обладают выраженными гидрофобными свойствами. Коэффициент распределения октанол — вода для метилфенидата, пипрадрол и сиднокарба составляет соответственно 1,86; 2,58 и 3,6, в то время как величина этого коэффициента для амфетамина равна 0,21, для эфедрина — 0,28, а тирамин в фазу октанола практически не переходит [4]. Липофильные свойства нетранспортируемых ФЭА обуславливают их способность переходить путем диффузии из экстрацеллюлярной среды в гидрофобную область МТ и достигать мест связывания на внутренней поверхности мембраны. В результате взаимодействия этих препаратов с местами связывания МТ образуется

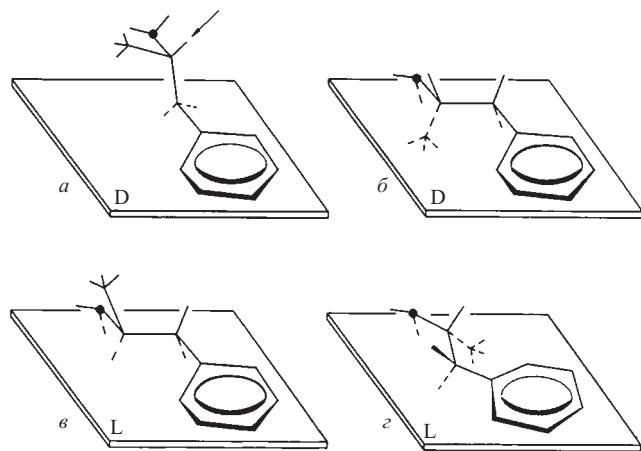


Рис. 3. Стереомодели энантимеров амфетамина: *a* — D-Амфетамин в непланарной конформации; стрелкой показано положение α -метильной группы у L-энантиомера. *б* — D-Амфетамин и *в* — L-амфетамин в планарной конформации. *г* — Модель L-амфетамина в планарной конформации перевернута на 180° , фенильный цикл и аминогруппа совмещены с воображаемыми местами связывания этих групп у L-НА. Обозначения те же, что на рис. 2

комплекс. Освобождение переносчика из этого комплекса затруднено, поскольку липофильные свойства препаратов препятствуют их переходу в гидрофильную среду цитоплазмы, а присутствие в их молекулах гидрофобных заместителей способствует нековалентному связыванию ФЭА с гидрофобным компонентом МТ. Таким образом, нетранспортируемые ФЭА, задерживая высвобождение переносчика с внутренней поверхности мембраны, тормозят активный транспорт НА и других гидрофильных моноаминов.

2. Транспортируемые ФЭА

2.1. Энантимеры НА. Известно, что сродство L-НА к местам связывания больше сродства D-энантиомера и различие в их сродстве обусловлено положением гидроксильной группы на асимметрическом β -углеродном атоме [4, 16, 17]. Однако у обоих энантимеров в непланарной конформации β -гидроксильная группа находится в зеркально сходном положении, ниже плоскости фенильного цикла (рис. 2, *a*). Маловероятно, что сходная ориентация этой группы по отношению к гидрофобной области МТ обуславливает различия в сродстве энантимеров НА к местам связывания.

У энантимеров НА в планарной конформации β -гидроксильная группа имеет различную ориентацию, у L-НА эта группа обращена к гидрофобной области МТ, а у D-НА — к гидрофильной экстрацеллюлярной среде (рис. 2, *б* и *в*). Однако β -гидроксильная группа D-НА не может иметь энергетически выгодную ориентацию к гидрофильной среде, так как в этом случае сродство D-НА к местам связывания должно быть больше сродства L-НА. Изменение ориентации этой группы путем ее поворота вокруг асимметрического атома в сторону гидрофобной области МТ нарушает планарную конформацию D-НА. Поэтому взаимодей-

ствие D-НА в планарной конформации с местами связывания возможно только при условии, что вся молекула D-НА перевернется на 180° , а фенильный цикл и аминогруппа совместятся с местами связывания так же, как и для L-НА. Однако и в этом случае положение на местах связывания боковой цепи и фенольных гидроксильных групп у D-НА не совпадает с их положением у L-НА (рис. 2, *г*). Следовательно, в планарной конформации относительно слабое сродство D-НА обусловлено как неблагоприятным положением его боковой цепи, так и пространственным несоответствием между фенильными гидроксильными и соответствующими активными центрами мест связывания.

2.2. Энантимеры амфетамина. В непланарной конформации у обоих энантимеров α -метильная группа на асимметрическом атоме углерода находится выше аминогруппы и обращена к воображаемой экстрацеллюлярной среде (рис. 3, *a*). Показано, что на границе между гидрофильной и гидрофобной фазами поворот метильной группы к гидрофобной фазе дает выигрыш в 1,34 ккал/моль [18]. Однако энергетически выгодный поворот α -метильной группы нарушает непланарную конформацию энантимеров амфетамина.

В планарной конформации энантимеров α -метильная группа у D-амфетамина расположена ниже плоскости молекулы в энергетически выгодной ориентации к гидрофобной области МТ, но у L-амфетамина эта группа находится выше плоскости и обращена к экстрацеллюлярной среде (рис. 3, *б* и *в*). Чтобы взаимодействовать в планарной конформации с местами связывания L-энантиомер должен перевернуться на 180° , а его фенильный цикл и аминогруппа совместиться с местами связывания так же, как у L-НА. Однако и в этом случае сродство L-амфетамина к местам связывания меньше сродства D-амфетамина, так как у L-амфетамина положение боковой цепи на местах связывания не соответствует положению этой цепи у L-НА (рис. 3, *г*). Отмеченное различие в сродстве энантимеров амфетамина согласуется с рангом их ингибирующей активности в норадренергических [8, 9, 19] и дофаминергических нейронах [5, 20].

2.3. Энантимеры эфедрина. В боковой цепи эфедрина α -метильная и β -гидроксильная группы связаны с асимметрическими углеродными атомами. Поэтому эфедрин имеет 4 стереоизомера: энантимеры псевдоэфедрина или треоизомеры и энантимеры "собственно" эфедрина или эритроизомеры. Ингибирующая активность стереоизомеров эфедрина различна [7]. Однако в непланарной конформации у эритро- и треоизомеров эфедрина α -метильная группа обращена к гидрофильной среде (рис. 4, *a* и *б*). Поскольку энергетически выгодный поворот α -метильной группы к гидрофобной области МТ нарушает непланарную конформацию стереоизомеров эфедрина, очевидно, что в этой конформации они не способны взаимодействовать с местами связывания.

В планарной конформации у наиболее активного L-эфедрина (L-эритроизомера) положение β -гидро-

кисильной и α -метильной групп ниже плоскости молекулы аналогично их положению у *l*-НА и *d*-амфетамина (рис. 4, *в*). У менее активного *d*-эфедрина (*d*-эритроизомера) обе группы находятся выше плоскости молекулы. Поэтому чтобы присоединиться к МТ этот энантиомер должен перевернуться на 180° . Энантиомеры псевдоэфедрина (треоизомеры) отличаются крайне слабой ингибирующей активностью. Взаимодействие псевдоэфедрин с местами связывания МТ затруднено, так как у обоих энантиомеров α -метильная и β -гидроксильная группы находятся по разные стороны планарного фрагмента молекулы (рис. 4, *г*).

Результаты рассмотрения способности энантиомеров НА, амфетамина и эфедрина к взаимодействию в непланарной и планарной конформации с местами связывания МТ свидетельствуют, что предпочтительной является планарная *анти*-конформация, поскольку только в этой конформации сравнительная оценка сродства энантиомеров к местам связывания согласуется с рангом их реальной ингибирующей активности. В соответствии с этим заключением в дальнейшем все модели рассматривали в планарной *анти*-конформации.

2.4. Рацематы α -метилированных ФЭА обладают большим сродством, чем аналоги этих препаратов, лишенные α -метильной группы [3]. Однако сродство рацематов меньше сродства энантиомеров α -метилированных ФЭА, если у этих энантиомеров α -метильная группа находится в энергетически выгодном положении ниже плоскости молекул, так же как в молекулах *D*-амфетамина и *L*-эритроизомера эфедрина. Гидрофобные взаимодействия между метильной группой и гидрофобной областью МТ способствуют рецепторному связыванию энантиомеров, увеличивая их сродство. Хотя метильная группа находится ниже плоскости, относительно небольшой размер этой группы не препятствует связыванию препаратов. Однако замена метильной группы на другой алкильный заместитель стерически затрудняет взаимодействие ФЭА с местами связывания. Показано, что сродство α -этилнорадреналина меньше сродства (\pm)НА, в то время как сродство α -метилнорадреналина больше сродства (\pm)НА [3].

2.5. *N*-алкилированные и *O*-метилированные ФЭА. Энергетически выгодное положение *N*-алкильных заместителей ниже плоскости молекулы стерически затрудняет взаимодействие аминогруппы с нуклеофильным центром мест связывания. Показано, что сродство *N*-метиламфетамина и *N*-метилдофамина меньше сродства их дезметильных аналогов. В ряду *N*-алкилпроизводных НА сродство препаратов к местам связывания уменьшается по мере увеличения размера алкильного заместителя; *N*-изопропилнорадреналин (изадрин), как ингибитор захвата, неактивен [3]. К резкому уменьшению сродства ФЭА приводит также *O*-метилирование гидроксильных в *para*- и особенно в *meta*-положении фенильного цикла [3]. На границе раздела двух сред метильные группы в фенильном

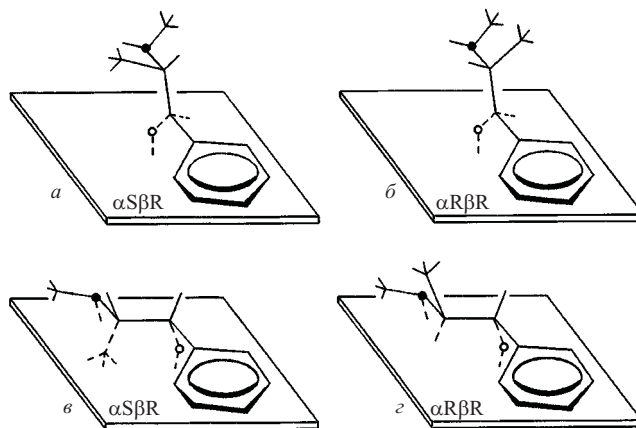


Рис. 4. Стереомодели эритро- и треоизомеров эфедрина. *a* — *L*-Эритроизомер и *б* — *L*-треоизомер эфедрина в непланарной конформации. *в* и *г* — Те же изомеры в планарной конформации. Обозначения те же, что и на рис. 2

цикле занимают энергетически выгодное положение ниже плоскости этого цикла. Вероятно, взаимодействие этих групп с гидрофобной областью МТ нарушает планарное положение фенильного цикла, в связи с чем *O*-метилированные ФЭА утрачивают планарную конформацию и сродство их к местам связывания уменьшается. Поскольку фенильный цикл может вращаться вокруг своей связи с углеродным атомом боковой цепи, эффект метильной группы в *meta*-положении цикла более выражен.

3. Нетранспортируемые ФЭА

3.1. Прениламин и буфенин являются *N*-алкиларилпроизводными амфетамина и октопамина, соответственно (таблица). В молекулах этих препаратов размер высоко гидрофобных *N*-алкиларильных заместителей больше размера функциональной части молекулы, фрагмента β -фенилэтиламина. Показано, что рацематы прениламина и буфенина угнетают нейрональный захват НА, причем ингибирующая активность буфенина больше активности рацемата октопамина [3]. Однако эти препараты не могут подобно амфетамину и октопамину взаимодействовать с местами связывания на наружной поверхности мембраны, так как алкиларильные заместители в энергетически выгодном положении обращены к гидрофобной области МТ, то есть находятся ниже плоскости молекулы и стерически препятствуют ее взаимодействию с местами связывания. Взаимодействие прениламина и буфенина с местами связывания МТ возможно только на внутренней поверхности мембраны. Здесь алкиларильные заместители также обращены к гидрофобной области МТ, но теперь они находятся выше плоскости молекулы (см. рис. 1, *a*) и не препятствуют взаимодействию молекул препаратов с местами связывания.

3.2. Энантиомеры сиднокарба. Сиднокарб является непрямодействующим ФЭА, оказывающим выраженный стимулирующий эффект на ЦНС [21, 22]. Этот препарат можно рассматривать как аналог амфетамина, у которого атом азота аминогруппы включен в гетероцикл сиднонимина (см. таблицу). У *L*- и *D*-энан-

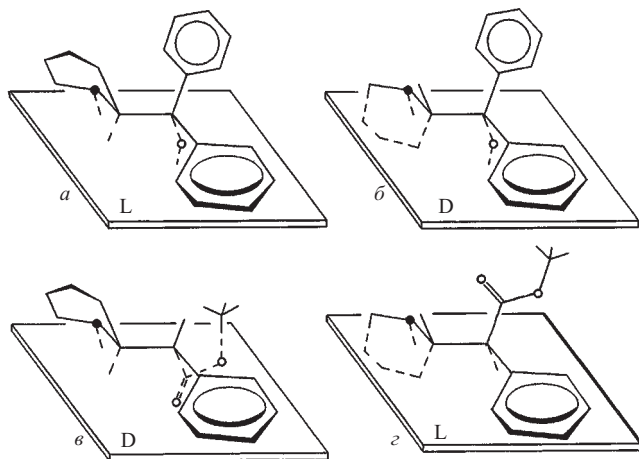


Рис. 5. Стереомодели энантимеров пипрадрола и *трео*-метилфенидата в планарной конформации. *a* — L-Энантиомер и *b* — D-энантиомер пипрадрола, *в* — D-Энантиомер и *z* — L-энантиомер *трео*-метилфенидата. Обозначения те же, что на рис. 2

тиомеров сиднокарба положение α -метильной группы на асимметрическом атоме углерода такое же, как у соответствующих энантиомеров амфетамина (рис. 3, *b* и *в*). Однако сиднокарб, в отличие от амфетамина, взаимодействует с местами связывания на внутренней поверхности мембраны. Здесь положение α -метильной группы выше планарной части молекулы в направлении к гидрофобной области МТ является энергетически выгодным. Поэтому сродство L-сиднокарба к местам связывания должно быть больше сродства D-энантиомера, у которого α -метильная группа обращена к гидрофильной среде цитоплазмы. С этим утверждением согласуются данные экспериментов [23], в которых показано, что стимулирующее действие на ЦНС оказывает L-сиднокарб, в то время как D-сиднокарб практически неактивен. Способность L-сиднокарба в опытах на наркотизированных животных резко усиливать эффекты эндогенного и экзогенного НА свидетельствует о его ингибирующем действии на нейрональный захват НА, D-энантиомер в этом отношении также практически неактивен. В отличие от сиднокарба у амфетамина более активным является D-энантиомер, при этом активность L-амфетамина выражена достаточно отчетливо.

3.3. Энантимеры пипрадрола и дезоксипипрадрола. В планарном фенилэтиламинном фрагменте этих ФЭА асимметрический α -углеродный атом и атом азота включены в гетероцикл пиперидина, а неасимметрический β -углеродный атом замещен у пипрадрола фенильным циклом и гидроксильной группой, а у дезоксипипрадрола только фенильным циклом. Эти заместители занимают на внутренней поверхности мембраны энергетически выгодную позицию, фенильный цикл располагается над планарным сегментом в направлении к гидрофобной области МТ, а гидроксильная группа находится ниже плоскости и обращена к гидрофильной среде цитоплазмы. Однако положение углеводородной части пиперидина в моле-

кулах энантиомеров различно. У L-энантиомеров пипрадрола и дезоксипипрадрола она находится выше плоскости в энергетически выгодном положении и не мешает взаимодействию L-энантиомеров с местами связывания (рис. 5, *a*), но у D-энантиомеров эта часть пиперидина расположена ниже планарного фрагмента молекулы и стерически затрудняет взаимодействие D-энантиомеров с местами связывания (рис. 5, *b*). Различия в сродстве L- и D-энантиомеров пипрадрола и дезоксипипрадрола к воображаемым местам связывания согласуются с экспериментальными данными. Показано, что только L-пипрадрол и L-дезоксипипрадрол активны, как ингибиторы нейронального захвата НА и дофамина [14, 20] и как стимуляторы ЦНС [24].

3.4. Энантимеры метилфенидата. В сегменте фенилэтиламина этого препарата α - и β -углеродные атомы асимметричны, поэтому метилфенидат имеет 4 стереоизомера; L- и D-треоизомеры и L- и D-эритроизомеры. Из всех стереоизомеров метилфенидата только D-треоизомер способен эффективно взаимодействовать с местами связывания на внутренней поверхности мембраны (рис. 5, *в*). В его молекуле углеводородная часть пиперидина обращена к гидрофобной области МТ. Энергетически выгодную ориентацию имеет также карбметоксильный заместитель (COOCH_3), его гидрофильная карбонильная группа (CO) обращена к цитоплазме, а метильная группа к гидрофобной области МТ. У L-треоизомера положение заместителей у α - и β -углеродных атомов противоположно их положению у D-треоизомера (рис. 5, *z*). Очевидно, что взаимодействие L-треоизомера с местами связывания возможно только в том случае, если этот изомер перевернется на 180° . Активность D-треоизомера, как ингибитора захвата катехоламинов и стимулятора ЦНС, в десятки раз больше активности L-треоизомера и в сотни раз больше активности эритроизомеров метилфенидата [14, 25, 26]. У эритроизомеров гидрофобная цепь пиперидина и гидрофильная карбонильная группа не могут одновременно находиться в энергетически выгодном положении, так как они расположены по одну сторону планарного фрагмента молекулы.

3.5. Различие в ингибирующей активности оптических изомеров у нетранспортируемых ФЭА выражено значительно более резко, чем у транспортируемых ФЭА. Так, L-энантиомер треометилфенидата, D-энантиомеры сиднокарба, пипрадрола и дезоксипипрадрола практически лишены активности в то время, как у транспортируемых ФЭА L-энантиомер амфетамина, D-энантиомеры НА и эритро-эфедрина сохраняют относительно высокую активность [4, 7–9, 13, 16, 17]. Как было показано выше, эти энантиомеры транспортируемых ФЭА способны взаимодействовать с местами связывания после поворота их молекул на 180° (рис. 2, *z* и 3, *z*). Поворот этих молекул происходит в гидрофильной экстрацеллюлярной среде. Такой же поворот молекул неактивных энантиомеров нетранспортируемых ФЭА должен происходить только в гидрофобной среде, так как эти препараты

диффундируют к местам связывания гидрофобной области МТ. Вязкость липидного слоя мембраны, в которой погружена гидрофобная область МТ, в 100 – 1000 раз больше вязкости экстрацеллюлярной жидкости [27]. По-видимому, высокая вязкость гидрофобной среды препятствует повороту нетранспортируемых ФЭА, в связи с чем указанные энантиомеры этих препаратов практически не способны взаимодействовать с местами связывания.

Таким образом, с помощью молекулярных моделей проведена сравнительная оценка средства энантиомеров транспортируемых и нетранспортируемых ФЭА. Кроме того, средство ФЭА, имеющих N-алкильные заместители или метоксигруппы в фенильном цикле, сравнивали со средством аналогов этих ФЭА, лишенных соответствующих заместителей. Показано, что у всех сравниваемых препаратов предполагаемое различие в средстве к местам связывания согласуется с рангом их активности, как ингибиторов захвата НА. Согласие экспериментальных данных с данными рассмотрения молекулярных моделей свидетельствует об адекватности следующих представлений, положенных в основу этой работы.

Места связывания МТ расположены на границе раздела двух сред, в связи с чем гидрофобные и гидрофильные заместители в молекулах ФЭА стремятся занять в биофазе энергетически выгодное положение.

Предпочтительной конформацией ФЭА к местам связывания МТ является планарная *анти*-конформация. Ориентация L-НА к местам связывания обусловлена положением β-гидроксильной группы ниже плоскости молекулы.

ФЭА, обладающие выраженными гидрофобными свойствами (нетранспортируемые ФЭА), переходят путем диффузии через гидрофобную область мембраны и взаимодействуют с местами связывания транспортера на внутренней поверхности нейрональной мембраны.

ЛИТЕРАТУРА

1. K. Graefe, H. Bonisch, *Handbook of Experimental Pharmacology*, **90** / 1, Springer-Verlag, Berlin (1988), pp. 191 – 245.
2. H. Bonisch and U. Trendelenburg, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer-Verlag, New York (1988), pp. 247 – 277.

3. A. Burgen and L. Iversen, *Br. J. Pharmacol.*, **25**, 34 – 49 (1965).
4. J. Coyle and S. Snyder, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **170**(2), 221 – 231 (1969).
5. J. Holmes and C. Rutledge, *Biochem. Pharmacol.*, **25**(4), 447 – 451 (1976).
6. A. Horn, *Frontiers in Catecholamine Research*, Pergamon Press, New York, London, Paris (1973), pp. 411 – 413.
7. E. Handley, S. Snyder, J. Fauley, and J. LaPidus, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **183**(1), 103 – 116 (1972).
8. M. Raiteri, R. Del Carmine, A. Bertolini, and G. Zevi, *Eur. J. Pharmacol.*, **41**(2), 133 – 143 (1977).
9. R. Zaczek, S. Calp, and De Souza, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **257**(2), 830 – 835 (1991).
10. A. Horn, *Br. J. Pharmacol.*, **47**(2), 332 – 338 (1973).
11. S. Amara and M. Kuhar, *Ann. Rev. Neurosci.*, **16**, 73 – 93 (1993).
12. S. Singer and G. Nicolson, *Science*, **175**(23), 720 – 731 (1972).
13. R. Maxwell, R. Ferris, and J. Burcsu, *The mechanism of neuronal and extraneuronal transport of catecholamines*, Raven Press, New York (1976), pp. 95 – 152.
14. R. Maxwell, E. Chaplin, S. Eckhardt, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **173**(1), 158 – 165 (1970).
15. An. Horn and S. Snyder, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **180**(3), 523 – 530 (1972).
16. K. Graefe and H. Bonisch, *Arch. Pharmacol.*, **302**(3), 275 – 283 (1978).
17. L. Iversen, B. Jarret, and M. Simmonds, *Br. J. Pharmacol.*, **43**(4), 845 – 855 (1971).
18. S. Davis, *J. Pharm. Pharmacol.*, **25**(1), 1 – 12 (1973).
19. B. Koe, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **199**(3), 649 – 661 (1976).
20. R. Ferris, F. Tang, and R. Maxwell, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **181**(3), 407 – 416 (1972).
21. Р. А. Альтшулер, Л. Ф. Рощина, М. Д. Машковский, *Фармакол. и токсикол.*, **1**, 9 – 14 (1976).
22. М. Д. Машковский, Р. А. Альтшулер, Г. Я. Авруцкий, *Ж. невропатол. и психонейр.*, **11**, 1704 – 1709 (1971).
23. Р. А. Альтшулер, М. Д. Машковский, *Фармакол. и токсикол.*, **4**, 345 – 349 (1980).
24. P. Portoghese, T. Pazdernik, G. Hite, and A. Shafi'ee, *J. Med. Chem.*, **11**(1), 12 – 15 (1968).
25. Р. А. Альтшулер, *Фармакол. и токсикол.*, **4**, 410 – 413 (1974).
26. Y. Ding, J. Fowler, N. Volkow, et al., *Psychopharmacol.*, **131**(1), 71 – 78 (1997).
27. A. Lehninger, *Biochemistry*, Worth publisher (1973), pp. 302 – 305.

Поступила 09.09.04

COMPARATIVE ESTIMATION OF THE AFFINITY OF PHENYLETHYLAMINES TO THE BINDING SITES OF MEMBRANE TRANSPORTER USING MOLECULAR MODELS

R. A. Altshuler

Pharmacology Department, Farmaceutical Faculty, Jerusalem University, Hadassa Medical Center, Ein Kerem, Israel

A difference in the affinity of phenylethylamines (PEAs) to the binding sites of membrane transporter was studied using the molecular models of PEAs enantiomers built in preferred conformation. It is shown that in the molecules of PEAs enantiomers interacting with the binding sites chiral atom substituents are situated either in favourable or unfavourable (configuration – dependent) positions. Estimation of the positions of these substituents in the biophase make it possible to explain a relationship between the structure and the affinity of PEAs.