

УДК: 541.69 : 547.021 : 547.12 : 547.466.3 :  
: 577.17 : 591.1805 : 612.815 : 612.822.1.

## КОНФОРМАЦИЯ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ АНАЛОГОВ

*И. А. Сытинский, А. Т. Солдатенков*

Приведены теоретические и экспериментальные данные по изучению пространственного строения гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и ее аналогов. Рассмотрена возможная связь между структурной гибкостью молекулы ГАМК и ее биологической активностью.

Библиография — 90 ссылок.

### ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1256
II. Пространственное строение ГАМК и ее аналогов	1257
III. Моделирование взаимодействия ГАМК с ее рецептором	1267

### I. ВВЕДЕНИЕ

Впервые ГАМК была получена в 1883 г.<sup>1</sup> В середине нашего столетия она была обнаружена в нервных тканях центральной нервной системы (ЦНС) млекопитающих. В последнее время складывается представление о ГАМК как об одном из важнейших, с точки зрения биологической, природных веществ. Она является специфическим химическим медиатором (передатчиком) торможения нервных импульсов в ЦНС<sup>2-6</sup>. Недавно (с 1960 г.) ГАМК и ее производные начали использовать в качестве лекарственных препаратов для лечения нервных и психических заболеваний<sup>7</sup>. Успешное применение ГАМК и ее производных при различных невротических и психопатических состояниях открыло возможность создания новых синтетических лекарств избирательного действия, обладающих малой токсичностью благодаря своей близости к продуктам метаболизма в головном мозге. В этой связи большую важность приобретает вопрос о влиянии пространственного строения ГАМК на ее биологическое и фармакологическое действие. Как и многие другие вещества, обладающие фармакологической активностью ГАМК имеет неплоскую структуру. Конформационные изменения молекулы ГАМК могут привести к недостаточно полному взаимодействию ГАМК с ее рецептором. Вероятно, лишь определенная конформация молекулы ГАМК обеспечивает оптимальное расположение ее структурных элементов по отношению к рецептору, что необходимо для проявления наибольшей физиологической активности. По-видимому, в возникновении фармакологических свойств ГАМК и ее производных существенную роль играют не только конформационные, но и электронные свойства молекул. Изучению связи и взаимного влияния этих свойств и установлению активных конформных структур ГАМК и ее аналогов посвящены многочисленные работы, опубликованные за последние пять лет. При решении этих задач широко используются как теоретические, так и экспериментальные методы.

## II. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ ГАМК И ЕЁ АНАЛОГОВ

### 1. Квантовохимическое моделирование молекулы ГАМК

Квантовая механика позволяет приближенно рассчитывать энергию химических молекул, используя теорию молекулярных орбиталей и решая волновое уравнение Шредингера. Возможность учитывать в таких расчетах все валентные электроны приводит к тому, что определяемая общая энергия молекулы становится чувствительной к ее конформационным изменениям. Минимизация полной энергии в зависимости от заданных углов между связями в молекуле позволяет предсказать ее предпочтительную, наиболее энергетически выгодную конформацию. Квантовохимические расчеты позволяют также из соответствующих волновых функций определить электронную структуру конформеров, предсказать химическое поведение молекулы, вывести параметры, связанные с реакционной способностью биологически активной молекулы и т. д.

Для определения предпочтительной конформации ГАМК были использованы несколько полумпирических методов молекулярных орбиталей<sup>8-10</sup>.

Конформация ГАМК впервые определена теоретически в 1970 г.<sup>11</sup>, авторы рассчитали эту молекулу с помощью расширенного метода Хюккеля (РМХ)<sup>12</sup>. Этот метод учитывает взаимодействия не только связанных друг с другом, но и удаленных друг от друга атомов, и, следовательно, полная энергия молекулы рассчитывается как функция координат всех атомов молекулы. Расчеты показали, что для ГАМК предпочтительна конформация, в которой оиевая и  $\alpha$ -метиленовая группы находятся в транссоидном положении, а карбоксильная группа может свободно вращаться на  $360^\circ$  (рис. 1, а). Молекула ГАМК представлялась как цвиттер-ион с расстоянием между центрами зарядов  $[N^+ \text{ и } O^-]$ , равным 5,0–6,0 Å, что соответствует вытянутой (развернутой) конформации ГАМК. Следует иметь в виду, однако, что в РМХ не учитывается взаимное отталкивание электронов, и, возможно, поэтому получаемые результаты иногда противоречат данным других методов, особенно для полярных молекул<sup>13</sup>.

Более точная квантовохимическая теория — метод полного пренебрежения дифференциальным перекрыванием (ППДП) — была разработана Поплом<sup>14, 15</sup>. Расчет молекулы ГАМК по этому методу<sup>10</sup> привел к противоположным результатам — для изолированной молекулы ГАМК как в центральной, так и в цвиттер-ионной форме предпочтительна свернутая конформация (рис. 1, б), что не противоречит данным протонного магнитного резонанса<sup>16, 17</sup>. Авторы работы<sup>10</sup> отмечают, что влияние растворителя может вызвать конформационные изменения, и действительно, расчеты показали, что в присутствии растворителя предпочтительной становится вытянутая конформация. Однако теория Попла также имеет определенные ограничения<sup>13</sup>. Так, удовлетворительное описание распределения зарядов получают в большинстве случаев только для подвижных  $\pi$ -электронов, пренебрегая поляризацией простых  $\sigma$ -связей, которая, однако, у полярных молекул (т. е. у большинства фармакологически активных соединений) может иметь немаловажное значение.

Третий квантовохимический подход для определения конформации ГАМК использует метод локализованных молекулярных орбиталей

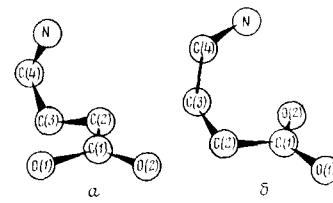


Рис. 1. Скелет молекулы ГАМК; а — вытянутая структура; б — свернутая структура

(ЛМО), учитывающий конфигурационные и электронные взаимодействия. Этот метод считают<sup>9, 18</sup> наиболее точным для расчета сильно поляризованных молекул. Теоретический поиск энергетически выгодной конформации ГАМК по методу ЛМО показал<sup>9</sup>, что свернутая конформация цвиттер-иона является наиболее устойчивой. Общая минимальная энергия вытянутой конформации изолированной гибкой молекулы ГАМК на 54 ккал/моль превышает энергию свернутой конформации, чему, по-видимому, благоприятствует сближение ионных концов молекулы в свернутой форме. Свернутая конформация предпочтительна и для катионной (в виде хлоргидрата) формы ГАМК, хотя в этом случае превышение энергии вытянутой конформации составляет всего 5 ккал/моль. Рассмотрение стереомоделей Дрейдинга также позволило предположить существование свернутой конформации цвиттер-иона ГАМК с углом 40° между связью С—N и плоскостью, в которой лежат три атома карбоксильной группы, что говорило о некотором взаимодействии между группами  $\text{NH}_3^+$  и  $\text{COO}^-$ <sup>19</sup>.

Конформационный анализ ГАМК с помощью рентгеноструктурного метода подтвердил, что ее молекула достаточно гибка и может существовать в различных конформациях<sup>20–24</sup>. В твердой фазе ГАМК образует призматические кристаллы с т. пл. 203° и находится в цвиттер-ионной форме<sup>20–23</sup>. Рентгеноструктурным анализом установлены наличие некоторой свернутости молекулы ГАМК с расстоянием между центрами зарядов 4,2–5,75 Å<sup>22, 23</sup> и возможность образования водородной связи длиной 2,7–3,1 Å с отклонением от линейности связей N—H...O не более, чем на 25°. Не исключена также возможность «раздвоения» водородной связи между соседними молекулами, что согласуется с температурой плавления<sup>19, 22</sup>. Группа  $\text{COO}^-$  лежит в плоскости, проходящей через цепь углеродных атомов<sup>21, 22</sup>. Ориентация этой группы меняется (она становится почти перпендикулярной указанной плоскости) в случае дигаммааминообутиратомеди<sup>23</sup>. В кристаллическом хлоргидрате ГАМК существует в катионной форме  $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_3^+$ <sup>24</sup>. В этих кристаллах катионная группа всегда находится в трансоидном положении к группе  $\text{CH}_2\text{COO}^-$ , а конформация по отношению к связи C(2)—C(3) либо скошенная, либо трансоидная. Таким образом, для кристаллического состояния могут оказаться предпочтительными как полностью вытянутая, так и частично свернутая конформации ГАМК. При этом для цвиттер-иона, по-видимому, наблюдается стремление стабилизировать вытянутую конформацию, так как противоположно заряженные атомы соседних молекул способны располагаться ближе друг к другу, чем такие же атомы одной и той же молекулы<sup>22</sup>.

## 2. Конформация ГАМК и ее структурные аналоги

Квантовохимическое моделирование и рентгеноструктурный анализ ГАМК позволяют исследовать ее пространственную структуру в состоянии химического покоя. Однако статическая стереохимия не дает окончательного ответа на вопрос о конформации молекулы в момент проявления ее фармакологического действия. Методы прямого определения пространственного строения лекарственных препаратов при их действии на биологические объекты пока не достаточно разработаны. В связи с этим при решении стереохимических задач весьма плодотворным оказывается косвенный подход, который заключается в поиске, синтезе и биологическом испытании различных конформационно ограниченных аналогов ГАМК.

На рис. 2 и в таблице представлены некоторые основные структурные аналоги ГАМК, проявляющие ГАМК-подобное биологическое действие. Первым в ряду структурных аналогов ГАМК было изучено природное соединение мусцимол (рис. 2, б) — 3-окси-5-аминометилизоксазол, выделенный из грибов *Amanita muscaria*<sup>25</sup>. Джонстон с сотр.<sup>26</sup> предположили, что мусцимол является аналогом относительно фиксированной вытяну-

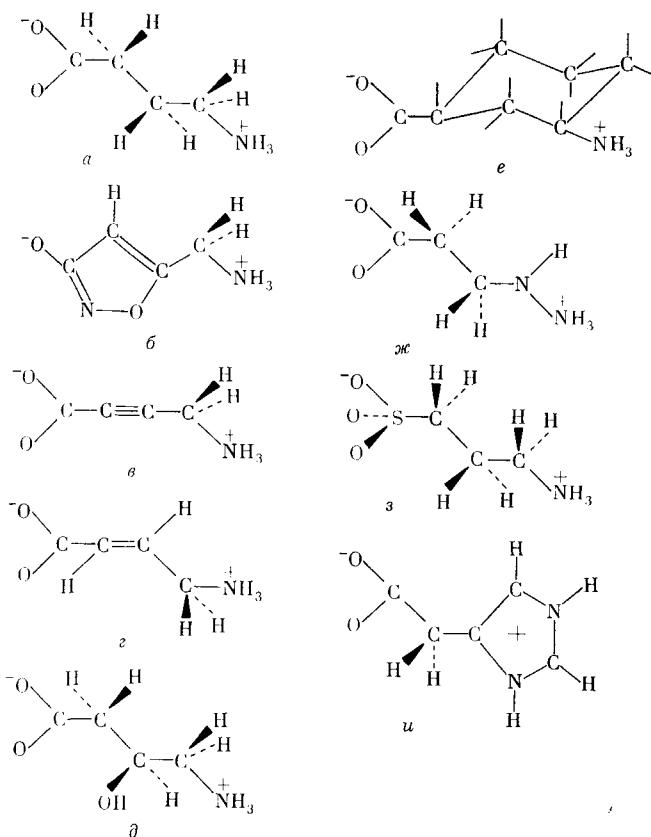


Рис. 2. Структурные формулы ГАМК и некоторых ее агонистов: *а* — ГАМК; *б* — мусцимол, *в* — 4-аминотетроловая кислота, *г* — 4-амино-транс-кротоновая кислота, *д* — 3-окси-ГАМК, *е* — цис-3-аминоциклогексанкарбоновая кислота, *ж* — гидразинопропионовая кислота, *з* — гомотаурин, *и* — имидазолилуксусная кислота

той конформации ГАМК. В дальнейшем при испытании биологического действия этого соединения оказалось, что оно так же, как и ГАМК, проявляет тормозящий эффект на центральных и периферических нейронах<sup>27, 28</sup>, т. е. является агонистом ГАМК, а не его антагонистом. Структурная аналогия между ГАМК и мусцимолом подтверждается также тем, что бициклическое производное последнего (4,5,6,7-тетрагидроизоксазоло[4,5-*c*]пиридин-3-ол) оказалось конкурентным ингибитором поглощения ГАМК в срезах мозга крыс<sup>29</sup>. В соответствии с моделью Дрейдинга расстояние между азотом тетрагидропиридинового цикла и кислородом гидроксильной группы составило 4,4 Å<sup>30</sup>.

Теоретические расчеты<sup>11</sup> указывали, что мусцимол может принимать аналогичную с ГАМК конформацию, причем минимальной полной энер-

## Предпочтительная конформация ГАМК и ее аналогов

Соединение	Метод определения конформации	Предпочтительная конформация *		Ссылки
		свернутая	вытянутая	
Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК)	PMX	—	+(5,0—6,0)	11
ГАМК **	ППДП	+	+	10
ГАМК	ЛМО	+	—	9
ГАМК	рентгеноструктурный анализ (PCA)	+(4,5)	—	22, 23
ГАМК	PCA	—	+	20, 24
Мусцимол	PMX	—	+(5,8)	11
Мусцимол	молекулярное моделирование (ММ)	—	+(5,7)	31
Мусцимол	PCA	—	+(5,77)	32
4-Аминотетроловая кислота	ММ	—	+(5,2—6,1)	33, 34, 84
транс-4-Аминокротоновая кислота	ММ	—	+(5,4—6,3)	84
Гидразинопропионовая кислота	PMX	—	+(5,1—6,1)	38
β-окси-γ-аминомасляная кислота **	PMX	+	+(5,0—6,0)	51
Гомотаурин	PMX	—	+(5,6—6,6)	38
Гомотаурин	PCA	—	+	43
Имидазолиллуксусная кислота	PMX	—	+(5,5—5,9)	38
Имидазолилпропионовая кислота	ММ	+(4,3)	+(5,1—6,3)	53, 55
Имидазолилакриловая кислота	ММ	—	+(7,0)	56
α-Гуанидинуксусная кислота **	ММ	+(3,2—4,8)	+(5,3—5,7)	54, 56
β-Гуанидинпропионовая кислота **	ММ	+(4,4)	+(5,7—6,9)	54, 56

\* «+» или «—» обозначает, что данная конформация является (или не является) предпочтительной в скобках указано расстояние между  $\text{N}^+$  и  $\text{O}^-$  в Å.

\*\* Обе конформации равновероятны.

гий обладает конформация, в которой боковая цепь копланарна с пятичленным кольцом и повернута в сторону эндоциклического атома кислорода. Заряженный эндоциклический атом кислорода расположен на расстоянии 5,8 Å от атома азота, несущего положительный заряд. Эти данные предполагают, с одной стороны, наличие у ГАМК полностью вытянутой цепочки углеродных атомов, и, с другой стороны, согласуются с присутствием в мусцимоле предполагаемой фармакофорной группы ГАМК<sup>11</sup>. На основании стереомоделей отмечена<sup>30</sup> изостеричность атома азота и карбоксильной группы ГАМК с эндоциклическим атомом азота и циклической группировкой  $\text{O}=\text{C}=\text{N}$  мусцимоля. Подобное соответствие молекулярного строения этих двух веществ наблюдается в случае вытянутой конформации ГАМК. Рентгенокристаллографические исследования также указывают на наличие элементов структурной аналогии ГАМК<sup>21</sup> и мусцимоля<sup>32</sup>. У последнего в кристаллическом состоянии боковая цепь действительно изогнута в сторону кольцевого атома кислорода и составляет угол в 60° с плоскостью кольца<sup>32</sup>. Расстояние между заряженными центрами у мусцимоля составило при этом 5,77 Å, что соответствует теоретически полученным данным<sup>11</sup> для вытянутой конформации ГАМК.

Джонстон с сотр.<sup>30</sup> изучили связь между структурой ряда производных мусцимола и величиной проявляемой ими ГАМК-подобной биологической активности. Удлинение боковой цепи мусцимола на одну группу  $\text{CH}_2$  или замещение алифатического атома водорода на группу  $\text{CH}_3$  приводит к значительному снижению его депрессивного эффекта на нервных структурах. Замещение ароматических атомов водорода на алкильные группы в мусцимоле и некоторых его производных вызывало резкое снижение депрессивной активности. В связи с этим авторы предполагают, что метиновая группа в положении 4 мусцимола изостерична  $\alpha$ -метиленовой группе ГАМК. Введение алкильных групп в положение 4 изоксазольного кольца приводит к увеличению его структурной жесткости, что, вероятно, затрудняет взаимодействие замещенных производных мусцимола с постсинаптическими рецепторами ГАМК. Исследование биологической активности многочисленных аналогов мусцимола позволило авторам<sup>30</sup> предположить, что в процессе поглощения ГАМК нервными структурами и взаимодействия ее с постсинаптическими рецепторами участвуют различные конформеры.

Вопрос о предпочтительной конформации ГАМК изучали также с помощью ее конформационно ограниченного аналога — 4-аминотетроловой кислоты (4-АТК)<sup>33</sup>. В этом соединении линейность тройной связи фиксирует четыре атома углерода так, что заряженные центры  $\text{N}^+$  и  $\text{O}^-$  цвигтер-ионной формы расположены на расстоянии 5,2—5,8 Å один от другого. Жесткая молекула 4-АТК не может принять свернутую конформацию, и ее структура соответствует вытянутому конформеру ГАМК. При изучении действия 4-АТК на нейроны спинного мозга кошки обнаружено<sup>34</sup>, что она проявляет от 1/2 до 1/5 части активности ГАМК на эти рецепторы. Были получены и другие факты, подтверждающие физиологическую активность этого соединения. ГАМК-подобная активность 4-АТК говорит о том, что ГАМК оказывает свое биологическое действие в вытянутой конформации, и что структура 4-АТК, по-видимому, включает ГАМК-подобный фармакофор<sup>11</sup>. Это предположение получило дополнительное экспериментальное подтверждение после того, как Джонстон с сотр.<sup>35</sup> синтезировали и испытывали на тех же биологических объектах *цис*- и *транс*-аминокротоновые кислоты, которые представляют собой относительно жесткие структурные аналоги ГАМК в свернутой и вытянутой конформациях соответственно, *цис*-Изомер не проявлял биологической активности, в то время как *транс*-изомер, имитирующий вытянутый конформер ГАМК, действовал на ЦНС млекопитающих так же эффективно, как ГАМК. Рентгеноструктурный анализ показал, что структура хлоргидрата *транс*-4-аминокротоновой кислоты обладает определенным сходством со строением хлоргидрата ГАМК<sup>20</sup>.

Изучение других стерически ограниченных аналогов ГАМК (см. таблицу) показало<sup>36</sup>, что только те соединения, которые имитируют вытянутую конформацию ГАМК и у которых расстояние между  $\text{N}^+$  и  $\text{O}^-$  незначительно отличается от соответствующего расстояния для ГАМК, обнаруживают физиологическую активность. Так, из ряда аминоциклогексанкарбоновых кислот лишь *цис*-3-аминоциклогексанкарбоновая кислота (но не *транс*-изомер) проявляла ГАМК-подобную активность<sup>36</sup>. Только в ее дэкваториальном конформере расстояние между зарядами идентично найденному для вытянутой конформации ГАМК.

В ряду пиперидинкарбоновых кислот представляет интерес нипекотиновая кислота (пиперидин-3-карбоновая кислота), которая является сильным неконкурирующим ингибитором поглощения ГАМК в срезах головного мозга<sup>30</sup>. Она обладает конформационной жесткостью, что может быть использовано при исследованиях «активных» конформаций

ГАМК. В водном растворе и в твердом состоянии никотиновая кислота существует в конформации «кресла» с карбоксильной группой в экваториальном положении<sup>30</sup>. Расстояние между  $N^+$  и  $O^-$  у этой формы кислоты составило, по данным ЯМР-спектроскопии и рентгеноструктурного анализа, 4,24—4,76 Å<sup>30</sup>.

Открытие этого нового ингибитора поглощения ГАМК позволило расширить круг ГАМК-подобных соединений. Оказалось, что ряд алкалоидов орехов бетеля, *Areca catechu* L. (арекалин, арекаидин и др.) в сочетании с никотиновой кислотой усиливает эффект торможения биоэлектрической активности нервных клеток при действии ГАМК<sup>37</sup>.

Кир и сотр.<sup>38</sup> провели теоретические расчеты гидразинопропионовой и имидазолилуксусной кислот, 3-аминопропансульфоновой кислоты (гомотаурина) и таурина (см. рис. 2 и таблицу) с целью определения предпочтительной конформации и структурных элементов подобия с ГАМК. В последнее время было показано<sup>39—43</sup>, что эти соединения обладают способностью имитировать определенную биологическую активность ГАМК. Результаты расчета<sup>36</sup> свидетельствуют, что для всех указанных соединений в цвиттер-ионной форме предпочтительна вытянутая конформация, в которой (за исключением таурина) имеется аналогичная группировка, отстоящая от атома кислорода в среднем на  $5,8 \pm 0,2$  Å и обеспечивающая, как предполагают<sup>11</sup>, фармакологическую активность ГАМК. Для таурина, у которого энергетически более выгодной является *гоши*-конформация, это расстояние несколько короче (в среднем около 5,0 Å). Рентгеноструктурный анализ подтвердил существование вытянутой конформации у кристаллического гомотаурина с аналогичным расстоянием  $N^+—O^-$ <sup>44</sup>. В случае таурина экспериментальные данные<sup>45</sup> также согласуются с теоретическими расчетами<sup>38</sup>.

Измерение дипольных моментов у  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\omega$ -аминокислот (вплоть до  $C_{11}$ ) показало<sup>46, 47</sup>, что в растворах эти кислоты принимают в основном полностью вытянутую конформацию. Тем не менее квантовохимические расчеты предсказывают<sup>9, 10</sup>, что эта конформация не является единственной возможной, и весьма вероятно, что фармакологическая активность обусловлена существованием нескольких конформаций<sup>48, 49</sup>. Действительно, оказалось, что в водных растворах при pH 7,0 ГАМК состоит из смеси обоих конформеров<sup>36, 50</sup>. Однако авторы работы<sup>50</sup> предполагают, что физиологическая активность ГАМК связана с полностью вытянутой конформацией ее молекулы.

Интересные результаты получены<sup>51</sup> при расчете предпочтительной конформации бета-окси-гамма-аминомасляной кислоты (БОГАМК), которая является агонистом ГАМК<sup>52</sup>. Расширенным методом Хюккеля определены две энергетически равновыгодные конформации БОГАМК. Первая характеризуется углом 180° (вдоль связи  $C_\alpha—C_\beta$ ), свободным вращением карбоксильной группы и расстоянием 5,0—6,0 Å между оиневой группой и карбоксильными атомами кислорода. Эта транссоидная конформация согласуется с теоретически предсказанный ранее<sup>11</sup> вытянутой структурой ГАМК и с экспериментальными кристаллографическими исследованиями<sup>20, 21</sup>. Для второй конформации характерен угол 300° (связь  $C_\alpha—C_\beta$ ) с близким расположением гидроксильной группы и карбоксильной (по-видимому, благодаря водородным связям) и с фиксированным положением карбоксильной группы (угол  $O=C=C_\alpha$  равен 120°). Вторая конформация БОГАМК (*гоши*-конформация) соответствует свернутой форме молекулы кристаллической ГАМК<sup>19</sup>.

Стюард и Кларк<sup>53</sup> попытались установить связь между строением двенадцати агонистов ГАМК<sup>26, 33, 53—56</sup> и их активностью. Пользуясь классическими расчетами потенциальной энергии, они определили вероят-

ность существования конформера с минимальной энергией. Полученные ими результаты «качественно аналогичны» данным<sup>17</sup> по исследованию методом ЯМР гамма-аминомасляной кислоты и ряда ее агонистов. С помощью молекулярных моделей были рассчитаны межзарядные расстояния в этих агонистах в их различных конформных состояниях. При этом авторы<sup>53</sup> учитывали, что по данным квантовохимических расчетов<sup>57</sup> заряды цвиттер-ионов, по-видимому, сосредоточены главным образом на атомах водорода протонированных основных групп и на атомах кислорода кислых групп. На основании проведенных расчетов Стюард и Кларк<sup>53</sup> делают вывод о том, что наибольшую активность проявляют те агонисты<sup>22, 32, 57, 58</sup>, у которых расстояние между цвиттер-ионными зарядами составляет  $\sim 5,4 \pm 0,4$  Å (таблица). Эти данные говорят в пользу того, что биологическая активность молекулы ГАМК связана с ее вытянутым конформером.

### 3. Конформация алкалоида бикукуллина — антагониста ГАМК

В последнее время значительное внимание уделяется изучению структурных характеристик ингибиторов ГАМК с целью установления подобия агонистов и выявления фармакофорной группы ГАМК. Наибольший интерес представляет строение бикукуллина — растительного алкалоида фталид-изохинолинового ряда, выделенного из *Coridalis species* (рис. 3). Как впервые показали Куртис с сотр.<sup>31</sup>, из ряда испытанных ими алкалоидов судорожного действия содержавших изохинолиновую структуру и

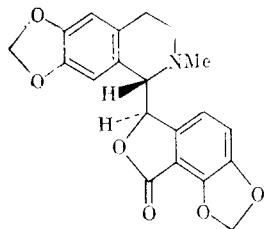


Рис. 3. Структурная формула алкалоида бикукуллина

потенциально способных соединяться с рецепторами ГАМК, бикукуллин оказался наиболее специфическим антагонистом депрессантного действия ГАМК; антагонизм, вероятно, обусловлен конкуренцией за одни и те же рецепторы на постсинаптической мембране. Открытие избирательного антагониста ГАМК стимулировало теоретические и экспериментальные работы по установлению структурной аналогии ГАМК и ее рецептора. Были сделаны попытки<sup>19, 35</sup> объяснить антагонистические свойства бикукуллина по отношению к ГАМК их стереохимическим соответствием, т. е. тем, что часть молекулы алкалоида должна быть изостерична биологически активной конформации ГАМК и некоторым конформационно ограниченным аналогам ГАМК<sup>35, 60</sup>. Это позволяет молекуле бикукуллина конкурировать с ГАМК за захват части ее рецептора. Рассмотрение молекулярных моделей этих двух соединений показало, что вытянутая (т. е. полностью транссоидная) молекула ГАМК, содержащая по концам атом азота и карбоксильную группу  $O=C-O$ , может быть точно изостерична участку молекулы бикукуллина с атомом азота и группировкой  $O=C-C$ <sup>31, 35</sup>. Структура частично свернутой конформации ГАМК более изостерична участку молекулы бикукуллина с атомом азота и лактонной

группировкой  $O=C-O^{19}$ . Последующие экспериментальные и теоретические исследования<sup>61-63</sup> подтвердили соответствие пространственного строения этих участков молекул обоих веществ и показали сходное распределение зарядов у атомов указанных группировок.

По всей вероятности, ранние молекулярные модели бикукуллина<sup>19, 34</sup> основывались на некорректной конфигурации алкалоида<sup>61</sup> и представляли лишь его диастереомер с псевдоаксиальным (а не с псевдоэкваториальным) расположением группы  $CH_3$  при атоме азота пиперидинового цикла<sup>62-64</sup>. Это однако не должно отражаться на установлении изостеричных групп ГАМК и бикукуллина<sup>62</sup>. Абсолютная конфигурация кри-

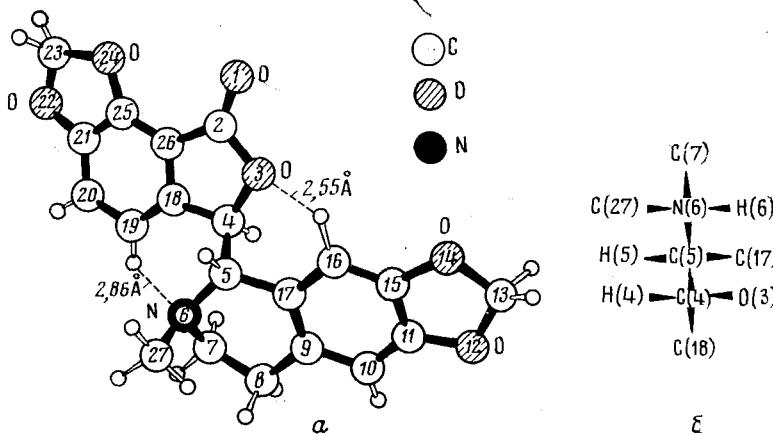


Рис. 4. Конфигурация бикукуллина в кристалле: *a* — абсолютная конфигурация, *б* — относительная конфигурация асимметрических атомов протонированной молекулы (нумерация атомов по<sup>61</sup>)

сталлического бикукуллина определена при анализе аномальной дисперсии рентгеновских лучей<sup>61, 65</sup>. На рис. 4, *a* изображено абсолютное пространственное строение молекулы бикукуллина в кристаллическом состоянии<sup>61</sup>. Наибольший интерес представляет относительная конфигурация асимметрических атомов углерода в молекуле. На рис. 4, *б* схематически показана центральная часть молекулы бикукуллина, которую обычно сравнивают с молекулой ГАМК. Установлено, что в этой конформации кристаллического бикукуллина атомы N (6) и O (3) антиперипланарны (почти *транс*-) по отношению к связи C (4)—C (5). Полностью вытянутая форма ГАМК требует только слабых напряжений для соответствия с конформацией бикукуллина в кристаллическом виде. При этом карбоксильная группа ГАМК изостерична с группой атомов O (1), C (2) и C (26) бикукуллина. Конформация бикукуллина, соответствующая вытянутой форме ГАМК, согласуется с данными<sup>23</sup> по изучению пространственного строения одной из кристаллических форм комплекса ГАМК с двухвалентной медью.

Однако для хлоргидрата и хлорметилата бикукуллина, которые оказались также биологически активными соединениями<sup>60</sup>, возможны другие конформации, отличные от вытянутой конформации кристаллического бикукуллина. Из рис. 4, *a* видно, что введение протона или метильной группы к атому N (6) алкалоида вызовет значительные стерические препятствия между H (19) и N (6), которые в свободном основании расположены друг от друга на предельном расстоянии 2,86 Å. Это в свою очередь может привести к вращению ароматических групп вокруг связи

С (4) — С (5) и к изменению конформации ГАМК-подобного фрагмента молекулы бикукуллина. Для определения предпочтительной конформации бикукуллина были использованы расчеты по РМХ<sup>51</sup> и методу ЛМО<sup>65</sup>, а также данные ПМР для протонированной формы алкалоида и его хлорметилата в водных растворах<sup>50, 66</sup>. Для протонированного бикукуллина выявлена предпочтительная конформация с протоном в *цикло*-положении относительно лактонного кольца<sup>50</sup>. Наиболее низкий уровень энергии обнаружен для случая *цикло*-положения с двугранным углом между ароматическими кольцами  $\sim 90^\circ$ . В этой конформации расстояние между ониевой группой и карбонильным кислородом составляет 5,6 Å, что указывает на наличие у бикукуллина структурных черт и размеров, соответствующих вытянутой конформации ГАМК. Данные Эндрюса и Джонстона<sup>66</sup> не противоречат этой гипотезе и свидетельствуют, что возможно вращение вокруг связи С (4) — С (5) (см. рис. 4, *a*) в пределах от  $-70$  до  $-110^\circ$ \* и что, следовательно, должны существовать предпочтительные вращательные конформеры. При этом отмечается, что свободный алкалоид в растворе может иметь конформацию, отличающуюся от конформаций солей бикукуллина. В указанных пределах углового вращения возможно достижение изостеричного соответствия фрагмента алкалоида структуре ГАМК и ряда ее агонистов (у которых наблюдается некоторое колебание расстояний между N<sup>+</sup> и O<sup>-</sup>). Предпочтительной конформацией N-содержащего кольца протонированного алкалоида является «полукресто» с псевдоаксиальным расположением фталидного кольца.

Определенное значение для установления предпочтительных конформаций бикукуллина, для отличия агонистов от антагонистов ГАМК, а также для выяснения механизма взаимодействия ГАМК с ее рецептором имеет распределение зарядов атомов в трехмерном пространстве. На рис. 5 представлены скелеты молекул ГАМК (вытянутой конформации) и протонированного бикукуллина с рассчитанными атомными зарядами<sup>67</sup>. Расчеты показали<sup>67</sup>, что группа O (10) — С (11) = O (12) (рис. 5, *a*) имеет большую, чем группа С (2') — С (11) = O (12), аналогию с карбоксильной группой цвиттер-иона ГАМК, причем отрицательно заряженные атомы лактонной группировки бикукуллина (рис. 5, *a*) несут меньшие по величине заряды, чем атомы карбоксильной группы ГАМК (для ее частично свернутого конформера заряды изменяются незначительно).

Часть молекулы бикукуллина, изостеричная ГАМК, содержит два асимметрических центра, что отвечает возможности существования четырех оптических изомеров. В связи с тем, что ранее<sup>31, 34</sup> исследования проводились лишь с (+)-бикукуллином (рис. 3), Коллинз и Хилл<sup>68</sup> синтезировали по методу<sup>69</sup> и испытали биологическую активность хлорметилата его (—)-изомера (рис. 6, *a*), редко встречающегося в природе<sup>70</sup>. Результаты испытаний показали, что только (+)-форма хлорметилата\*\* бикукуллина оказывает антагонистическое действие как на депрессивные свойства ГАМК, так и на пресинаптическое торможение. Кроме того, (+)-изомер является более сильным судорожным агентом, чем (—)-изомер (примерно в 400 раз). Очевидно, конформация (+)-изомера более изостерична предпочтительной биологически активной конформации ГАМК, чем в случае (—)-энантиомера.

\* Торсионный угол положителен, если N(6) — С(5) вращается вокруг С(4) — С(5) по часовой стрелке.

\*\* Необходимо отметить, что растворимость хлоргидрата бикукуллина при «биологическом» значении pH очень мала, и это привело к некоторым противоречиям при определении эффективности действия (+)-формы алкалоида<sup>17, 72</sup>, кроме того, недавно было найдено<sup>69</sup>, что (+)-форма хлорметилата бикукуллина является эффективным антагонистом ГАМК и в 100 раз более растворима в воде, чем хлоргидрат алкалоида.

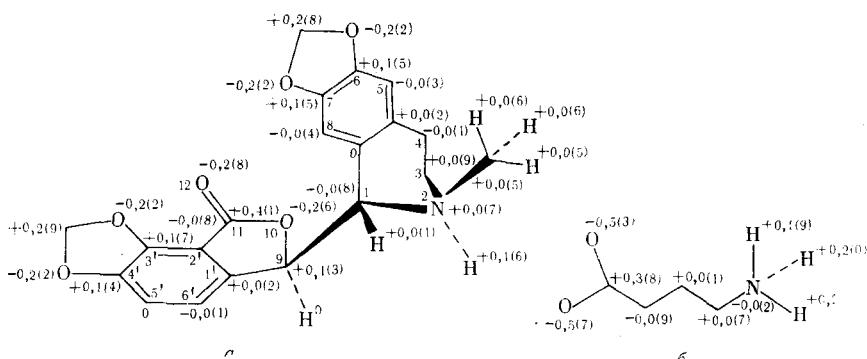


Рис. 5. Распределение зарядов в бикукуллине и ГАМК: *а* — протонированный бикукуллин (в конформации, предпочтительной для раствора алкалоида), *б* — цвиттер-ион ГАМК (нумерация атомов по<sup>67</sup>)

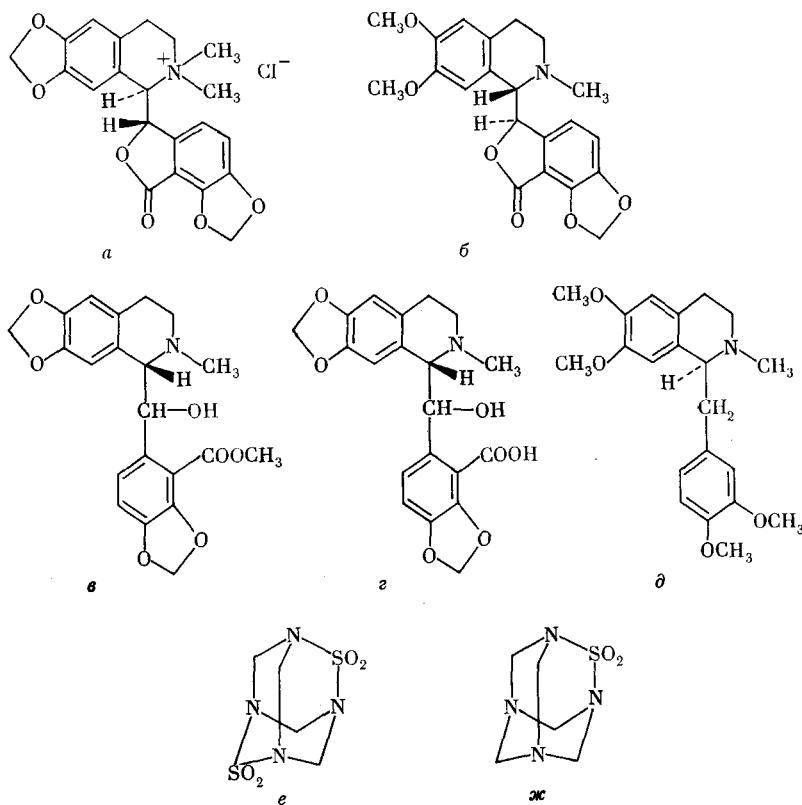


Рис. 6. Структурные формулы некоторых антагонистов ГАМК и их аналогов: *а* — хлорметилат (—)-бикукуллина, *б* — корлумин, *в* — метиоловый эфир бикуцина, *г* — бикуцин, *д* — лауданозин, *е* — тетраметилен-дисульфотетрамин, *ж* — пентаметиленмоносульфотетрамин

(+)-Бикукуллин имеет 1*S*, 9*R*-конфигурацию (у его (—)-формы 1*R*, 9*S*-конфигурация<sup>64, 73</sup>) и, по-видимому, можно ожидать, что только такие его аналоги, которые обладают подобной конфигурацией у асимметрических центров, могут проявлять физиологическую ГАМК-ингибирующую активность. В связи с этим выяснению вопроса оптической изби-

рательности бикууллина и механизма его antagonизма будет способствовать изучение структурных и функциональных аналогов этого алкалоида. Одним из таких соединений, имеющих одинаковую с (+)-бикууллином конфигурацию ( $1S, 9R$ )<sup>68</sup>, является корлумин<sup>74</sup> (рис. 6, б), который, как и метиловый эфир бикуцина (рис. 6, в), оказался эффективным antagonистом ГАМК<sup>60</sup>. Однако их близкие аналоги бикуцин<sup>75</sup> и лауданозин (рис. 6, г и д) не проявляют ГАМК-ингибирующей активности<sup>31, 60</sup>. Поэтому представляет интерес изучить биологическую активность эпимеров бикууллина и родственных ему соединений с тем, чтобы определить, может ли служить указанная конфигурация ( $1S, 9R$ ) критерием antagonизма по отношению к ГАМК в этом ряду алкалоидов<sup>60, 68</sup>.

Недавно предположили<sup>76</sup> и затем экспериментально подтвердили<sup>77, 78</sup>, что antagonистом ГАМК может служить 2,6-дигидро-1,3,5,7-тетразадамантан-2,2,6,6-тетраоксид или тетраметилендисульфотетрамин<sup>79</sup> (рис. 6, е). Это вещество является сильным судорожным агентом и ингибитором, подобно бикууллину, деполяризующий эффект ГАМК в симпатическом ганглии крысы. Однако в отличие от бикууллина действие тетраметилендисульфотетрамина является неконкурентным, и, по-видимому, неспецифическим. Возможно, что природа его antagonизма иная, чем у бикууллина<sup>80</sup>. Следует отметить, что такой ближайший аналог нового антиагониста, как пентаметиленмоносульфотетрамин (рис. 6, ж) не проявляет ГАМК-ингибирующего действия<sup>80</sup>. Изучение природы antagonизма тетраметилендисульфотетрамина, не имеющего, на первый взгляд, структурной аналогии с ГАМК, представляет особый интерес в связи с возможностью нового подхода к объяснению физиологической активности ГАМК и ее аналогов.

### III. МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГАМК С ЕЕ РЕЦЕПТОРОМ

Реализация депрессивного действия ГАМК на нервные структуры достигается взаимодействием с ее рецептором. Сведения о химической природе ГАМК-рецепторов носят весьма фрагментарный и в значительной степени умозрительный характер. Изучение пространственного строения многих агонистов ГАМК, имеющих структурную аналогию и качественно подобную физиологическую активность, помогает глубже выявить структуру рецепторов. В соответствии с современными представлениями эти рецепторы состоят из белкового материала<sup>81</sup> в липидной (гидрофобной) фазе, которая расположена в пре- или постсинаптических мембранах<sup>82, 83</sup>. Рецепторы захвата ГАМК могут, по-видимому, отличаться от рецепторов, связанных с ее физиологической активностью.

Один из вероятных механизмов взаимодействия рецептора с молекулой ГАМК — передатчиком нервного импульса — основан на представлении<sup>49, 84</sup> о возможности существования ГАМК в виде двух конформеров. Первоначально рецептор «узнает» одну из конформаций ГАМК по размерам молекулы, наличию зарядов  $N^+$  и  $O^-$ , их величине и расстоянию между ними и притягивает ее. Затем наступает этап взаимодействия исходного конформера с рецептором, протекающий, вероятно, с фиксацией определенной конформации ГАМК на рецепторе. Ионизированное состояние молекулы ГАМК, меняющееся в зависимости от рН среды, обусловливает специфическую сорбцию ее молекулы на внешней стороне мембраны, где натрий является доминирующим катионом. Точки связывания ГАМК с натрием, по-видимому, являются теми рецепторными участками на мемbrane, где адсорбированная ГАМК проявляет свои физиологические эффекты. Эта связанная форма ГАМК свободно обменивается с молекулами ГАМК, находящимися в растворе.

Второй конформер может участвовать в образовании переходного комплекса ГАМК — рецептор в процессе изменения мембранный проводимости. Взаимодействие ГАМК, находящейся в определенной «жесткой» конформации, с рецептором приводит к изменению ориентации двойного слоя липидных и фосфолипидных молекул, увеличению прочности связи ГАМК с рецептором и образованию пор в мембране. Размеры пор определяются расстоянием между двумя заряженными группами молекулы ГАМК, положение которой на мембране закрепляется электростатическими силами и водородными связями. Через поры мембранны поступают в клетку или выходят из нее моновалентные ионы калия или хлора

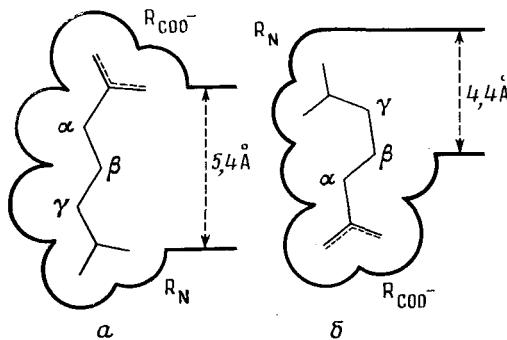


Рис. 7. Схема взаимодействия конформеров ГАМК с ее рецептором ( $R_{COO^-}$  и  $R_N$  — активные участки рецептора, взаимодействующие с карбоксильной и аминогруппой ГАМК и ее аналогов)<sup>84</sup>: а — вытянутый конформер; б — свернутый конформер

ра<sup>85, 86</sup>, которые обеспечивают процесс торможения в нейронах, или гидратированные ионы натрия, ответственные за передачу возбуждения<sup>85</sup>. Способность ГАМК оказывать как тормозящее, так и возбуждающее действие на нейроны была ранее обнаружена Керкутом и Уокером<sup>87, 88</sup>. Избирательное изменение проницаемости мембраны для различных ионов, по-видимому, связано не только с конформационными изменениями молекулы ГАМК, но и с изменениями геометрии активных участков рецептора, что имеет определенную аналогию со стереоспецифическими реакциями.

Образование водородных связей обеспечивает жесткость структуры конформера ГАМК внутри мембраны, что особенно важно в растворах, где молекула ГАМК способна существовать в нескольких конформациях. Расстояние между двумя заряженными группами вытянутого конформера ГАМК составляет от 5,4 до 6,3 Å, и при взаимодействии с рецептором он способен открывать в мембране поры, размером около 5,4 Å (рис. 7, а)<sup>84</sup>. Это обеспечивает пропускание гидратированных ионов натрия (размер которых составляет 4,8—5,1 Å) и, следовательно, возбуждение нейрона и передачу нервного импульса<sup>89</sup>. В случае частично свернутой конформации ГАМК размер пор в мембране уменьшается до 4,4 Å (рис. 7, б)<sup>84</sup>, что достаточно для прохождения только гидратированных ионов хлора (их размер 3,32—3,86 Å)<sup>90</sup>, ответственных за торможение нервных сигналов. Эта модель взаимодействия ГАМК с рецептором соответствует всем полученным ранее теоретическим и экспериментальным фактам. Так, различие в расстояниях между зарядами  $N^+$  и  $O^-$  у ряда агонистов ГАМК свидетельствует о том, что ГАМК-рецепторы имеют некоторую эластичность активного участка, которая позволяет менять

расстояние реакционных заряженных центров рецептора в определенном диапазоне<sup>53</sup>. Подобное представление согласуется с гибкой природой мембранных белков.

Тормозящее и возбуждающее действие ГАМК на два типа клеток нейронов улитки *Helix aspersa*<sup>87-89</sup> может быть объяснено гибкостью и легким изменением структурной специфичности ее молекулы (взаимным переходом конформеров) под влиянием внешних условий, а также возможностью структурных различий самих рецепторов у различных видов клеток<sup>84</sup>. С одним из рецепторов взаимодействует молекула ГАМК в вытянутой конформации (при этом  $\beta$ -аланин, у двух возможных конформеров которого расстояние  $\text{N}^+-\text{O}^-$  составляет 3,4 и 4,7 Å<sup>53</sup>, не проявляет физиологического действия, а мусцимол в 10—100 раз более активен, чем ГАМК<sup>84</sup>), тогда как с другим рецептором реагирует частично свернутый конформер ГАМК (в этом случае  $\beta$ -аланин показывает ГАМК-подобную активность, а мусцимол по своей эффективности не отличается от ГАМК<sup>84</sup>).

Антагонизм бикууллина и родственных ему соединений может быть связан с тем, что после «узнавания» рецептором ГАМК-подобного элемента структуры алкалоида последний не может принять вторую конформацию<sup>49, 53</sup>. Это связано, по-видимому, с распределением зарядов в остальной части громоздкой трехмерной молекулы бикууллина<sup>67</sup>. Его конкурентный антагонизм, возможно, зависит от меньшей величины отрицательных зарядов атомов лактонного кольца бикууллина по сравнению с группой СОО в ГАМК, что приводит к более слабому (затрудненному) связыванию объемистой молекулы алкалоида с рецептором; это слабое связывание не может вызвать конформационных изменений, соответствующих конечным стадиям действия ГАМК. Предполагают также<sup>49</sup>, что заряды остатка молекулы бикууллина могут взаимодействовать с окружением активного участка рецептора и предотвращать, таким образом, быстрое освобождение рецептора. Кроме того, у бикууллина возможно наличие большого энергетического барьера для перехода в другой конформер<sup>49</sup>. Бикууллин, таким образом, ингибитирует активность ГАМК, имитируя ее «исходный» конформер и занимая реакционные участки рецептора, но не проявляя при этом ГАМК-подобного физиологического действия.

Отсутствие элементов структурного подобия у другого антагониста ГАМК — тетраметилендисульфотетрамина предполагает возможность полной блокировки рецептора и закрытия доступа к нему молекулам ГАМК за счет электростатического взаимодействия заряженных группировок рецептора и антагониста. В пользу этого предположения говорит неспецифичность его действия и неконкурирующий антагонизм.

Ван Гельдер<sup>90</sup> предложил иную схему взаимодействия ГАМК с рецептором. В соответствии с его моделью процесс торможения связан только с конфигурацией при  $\gamma$ -атоме углерода ГАМК, а именно со стерическим влиянием  $\gamma$ -атома водорода. При взаимодействии ГАМК с рецептором  $\gamma$ -атомы водорода определяют размеры пор в мембране, которые составляют по расчетам<sup>90</sup> 3,7—4,5 Å, что соответствует диаметру гидратированных ионов хлора. Однако эта теория не может объяснить действия некоторых агонистов ГАМК, а также факта возбуждающей активности ГАМК<sup>88, 89</sup>.

В заключение следует отметить основные структурные особенности соединений с ГАМК-подобной активностью:

1. Для проявления активности ГАМК необходимы свободные аминогруппы и карбоксильная (или сульфоксильная) группы, так как производные с эфирной или амидной группами почти не обладают активностью<sup>7</sup>. Срав-

нительная неэффективность разветвленных или замещенных производных ГАМК объясняется, по-видимому, тем, что заместители мешают ориентации ГАМК относительно группировок рецептора.

2. Оптимальную длину атомной цепочки между азотом основной группы и кислородом кислой группы составляют четыре атома. Молекулы с двумя-тремя или пятью-шестью атомами в этой цепи проявляют малую активность или же совсем неактивны.

3. Рецепторы ГАМК реагируют с молекулой, обладающей по крайней мере двумя сильно заряженными областями, которые имеют противоположные знаки с центрами положительных и отрицательных зарядов на амино- и карбоксильных группах соответственно.

4. ГАМК-подобное соединение должно обладать стереоспецифичностью структуры, т. е. соответствовать одной из конформаций ГАМК. При этом для проявления активности заряды катионной ( $N^+$ ) и анионной ( $O^-$ ) групп цвиттер-ионной формы должны находиться на расстоянии 5,0—6,0 Å (возбуждающее действие) или 3,7—4,5 Å (тормозящее действие)<sup>84, 90</sup>.

5. Для взаимодействия с рецептором важны не только указанные выше свойства; в некоторых случаях «узнавание» молекулы рецептором требует определенной оптической конфигурации. Для объяснения хиральной специфичности рецептора требуется дальнейшее изучение физиологического действия алкалоидов фталид-изохинолинового ряда.

\* \* \*

Взаимодействие биологически активной молекулы с макромолекулярным рецептором возможно благодаря влиянию межмолекулярных сил и предполагает определенную межмолекулярную ориентацию, что, по-видимому, не исключает изменения конформации молекулы при ее сближении с рецептором. Окончательное решение вопроса о предпочтительной конформации лекарственных веществ зависит от прямых экспериментальных наблюдений комплексов действующих молекул с рецептором. При этом наиболее перспективными методами установления «топографии» активных центров рецепторов и раскрытия механизма действия ГАМК и других лекарственных препаратов могут стать рентгеноструктурный анализ и ядерный магнитный резонанс комплексов ГАМК — рецептор в самой биофазе. При решении этих задач мощным подспорьем для химиков, биохимиков и фармакологов является компьютерный квантовохимический анализ. Последний, кроме того, при учете влияния окружающей среды и рецептора на энергетически выгодную конформацию ГАМК, а также конформационных и электронных изменений структуры макромолекулярного комплекса лекарство — рецептор для различных ГАМК-подобных лекарственных препаратов может в будущем послужить для предсказания и проектирования новых эффективных лекарственных веществ с желаемым диапазоном воздействия на центральную нервную систему человека.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. C. Schöten, *Ber.*, **16**, 643 (1883).
2. Е. Робертс, в сб. *Биохимия и функция нервной системы*, «Наука», Л., 1967, стр. 60.
3. И. А. Сытинский, *Ж. эвол. биох. физиол.*, **6**, 162 (1970).
4. Дж. Экклс, *Тормозные пути центральной нервной системы*, «Мир», М., 1971.
5. И. А. Сытинский, Гамма-аминомасляная кислота в деятельности нервной системы, «Наука», Л., 1972.
6. И. А. Сытинский, *Природа*, **1973**, № 1, 20.
7. И. А. Сытинский, *ЖВХО им. Менделеева*, **18**, 182 (1973).
8. L. B. Kier, *Adv. Chem. Series*, **1973**, № 114, 278.

9. B. Pullman, H. Berthod, *Compt. rend.*, D, 278, 1433 (1974).
10. D. Warner, E. G. Steward, *J. Molec. Struct.*, 25, 403 (1975).
11. L. B. Kier, E. B. Truitt, *Experientia*, 26, 988 (1970).
12. R. Hoffmann, *J. Chem. Phys.*, 39, 1397 (1963).
13. L. B. Kier, *Molecular Orbital Theory in Drug Research*, Acad. Press, N. Y., 1971.
14. J. A. Pople, D. P. Santry, G. A. Segal, *J. Chem. Phys.*, 43, 5129 (1965).
15. J. A. Pople, D. L. Beveridge, *Approximate Molecular Orbital Theory*, McGraw-Hill, N. Y., 1970.
16. В. А. Щербаков, И. А. Сытинский, Материалы к симпозиуму Физиологические, биохимические и фармакологические эффекты ГАМК в нервной системе, «Наука», Л., 1964, стр. 43.
17. N. S. Ham, VI Jerusalem Symposium on Molecular and Quantum Pharmacology, Acad. Press, N. Y., 1974.
18. S. Diner, J. P. Malrien, P. Claverie, *Theoret. Chim. Acta*, 13, 1 (1969); 15, 100 (1969).
19. E. G. Steward, R. Player, J. P. Quilliam, D. A. Brown, M. J. Pringle, *Nature New Biology*, 233, 87 (1971).
20. K. Tomita, *Tetrahedron Letters*, 1971, 2587.
21. K. Tomita, H. Higashi, T. Fujiwara, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 46, 2199 (1973).
22. E. G. Steward, R. B. Player, D. Warner, *Acta Cryst.*, B29, 2038 (1973).
23. A. Takenaka, E. Oshima, S. Yamada, T. Watanabe, Там же, B29, 503 (1973).
24. E. G. Steward, R. B. Player, D. Warner, Там же, B29, 2825 (1973).
25. C. H. Egster, *Adv. Org. Chem.*, 2, 427 (1960).
26. G. A. R. Johnston, D. R. Curtis, W. D. de Groat, A. W. Duggan, *Biochem. Pharmac.*, 17, 2488 (1968).
27. D. R. Curtis, L. Hosli, G. A. R. Johnston, *Exptl. Brain Res.*, 6, 1 (1968).
28. D. R. Curtis, A. W. Duggan, D. Felix, G. A. R. Johnston, *Brain Res.*, 32, 69 (1971).
29. P. Krogsgaard-Larsen, G. A. R. Johnston, *J. Neurochem.*, 25, 797 (1975).
30. P. Krogsgaard-Larsen, G. A. R. Johnston, D. R. Curtis, C. J. A. Game, R. M. McCulloch, Там же, 25, 803 (1975).
31. D. R. Curtis, A. W. Duggan, D. Felix, G. A. R. Johnston, *Nature*, 226, 1222 (1970).
32. L. Brehm, H. Hjeds, P. Krogsgaard-Larsen, *Acta Chem. Scand.*, 26, 1298 (1972).
33. P. M. Beart, G. A. R. Johnston, *Austral. J. Chem.*, 25, 1359 (1972).
34. P. M. Beart, D. R. Curtis, G. A. R. Johnston, *Nature New Biology*, 234, 80 (1971).
35. G. A. R. Johnston, D. R. Curtis, P. M. Beart, C. J. A. Game, R. M. McCulloch, B. Twitchin, *J. Neurochem.*, 24, 157 (1975).
36. M. Segal, K. Sims, L. Maggiora, E. Smissman, *Nature New Biology*, 245, 88 (1973).
37. G. A. R. Johnston, в кн. GABA in Nervous System Function (ed. E. Roberts, T. N. Chasse, D. B. Tower), Raven Press, N. Y., 1976, p. 395.
38. L. B. Kier, J. M. George, H.-D. Höltje, *J. Pharm. Sci.*, 63, 1435 (1974).
39. N. M. Van Gelder, *J. Neurochem.*, 15, 747 (1968).
40. E. G. Anderson, H. L. Haas, L. Hosli, *Experientia*, 28, 741 (1972).
41. D. R. Curtis, A. W. Duggan, D. Felix, G. A. R. Johnston, *Nature*, 228, 676 (1970).
42. D. R. Curtis, L. Hosli, G. A. R. Johnston, Там же, 215, 1502 (1967).
43. A. N. Davison, L. K. Kaczmarek, Там же, 234, 107 (1971).
44. S. Ueoka, T. Fujiwara, K. Tomita, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 45, 3644 (1972).
45. Y. Okaya, *Acta Crystallogr.*, 21, 726 (1966).
46. J. T. Edward, P. G. Farrell, J. L. Job, *J. Phys. Chem.*, 77, 2191 (1973).
47. J. T. Edward, P. G. Farrell, J. L. Job, *J. Am. Chem. Soc.*, 96, 902 (1974).
48. F. Conti, A. Damiani, C. Pietronero, N. Russo, *Nature New Biology*, 233, 232 (1971).
49. D. Warner, R. B. Player, E. G. Steward, Molecular flexibility and Drug Action, in First European crystallographic Meeting, (Bordeaux, 5—8 Septembre), B 4, p. 93, 1973.
50. M. Segal, K. Sims, E. Smissman, *Brit. J. Pharm.*, 54, 181 (1975).
51. L. B. Kier, J. M. George, *Experientia*, 29, 501 (1973).
52. T. Hayashi, *J. Physiol.*, 145, 570 (1959).
53. E. G. Steward, G. R. Clarke, *J. Theor. Biol.*, 52, 493 (1975).
54. C. Edwards, S. W. Kuffler, *J. Neurochem.*, 4, 19 (1959).
55. M. W. Swage, K. Ikeda, E. Roberts, *Nature New Biology*, 246, 91 (1973).
56. E. G. McGeer, P. L. McGeer, H. McLennan, *J. Neurochem.*, 8, 36 (1961).
57. D. Warner, P. W. Borthwick, E. G. Steward, *J. Molec. Struct.*, 25, 397 (1975).
58. P. N. Roy, S. K. Majumdar, N. N. Saha, *Ind. J. Phys.*, 41, 771 (1967).
59. E. G. Steward, D. Warner, G. R. Clarke, *Acta Cryst.*, B30, 813 (1974).
60. G. A. R. Johnston, P. M. Beart, D. R. Curtis, C. J. A. Game, R. M. McCulloch, R. M. MacLachlan, *Nature New Biology*, 240, 219 (1972).
61. R. D. Gilardi, Там же, 245, 86 (1973).
62. E. G. Steward, R. B. Player, D. Warner, Там же, 245, 91 (1973).
63. G. A. R. Johnston, D. R. Curtis, *Nature*, 248, 804 (1974).
64. G. Snatzke, G. Wollenberg, J. Hrbek, F. Santavy, K. Blaha, W. Klyne, R. J. Swan, *Tetrahedron*, 25, 5059 (1969).

65. C. Gorinsky, D. S. Moss, J. Cryst. Molec. Struct., 3, 299 (1973).
66. P. R. Andrews, G. A. R. Johnston, Nature New Biology, 243, 29 (1973).
67. E. G. Steward, P. W. Borthwick, G. R. Clarke, D. Warner, Nature, 256, 600 (1975).
68. J. F. Collins, R. G. Hill, Там же, 249, 845 (1974).
69. S. Teitel, J. O'Brien, A. Brossi, J. Org. Chem., 37, 1879 (1972).
70. С. М. Юнусов, С. Ю. Юнусов, Химия природн. соед., 4, 61 (1968).
71. J. M. Godfraind, K. Krnjevic, R. Pumain, Nature, 228, 675 (1970).
72. D. W. Straughan, M. J. Neal, M. A. Simmonds, G. G. S. Collins, R. G. Hill, Там же, 233, 352 (1971).
73. F. Santavy, in The Alkaloids, ed. R. H. F. Manske, V. 12, Acad. Press, N. Y., 1970, p. 396.
74. H. V. Rice, J. Pharm. Exp. Ther., 63, 329 (1938).
75. R. H. F. Manske, Canad. J. Res., 9, 436 (1933).
76. J. R. Smythes, Ann. Rev. Pharm., 14, 19 (1974).
77. D. R. Curtis, G. A. R. Johnston, Ergeb. der Physiol., 69, 97 (1974).
78. N. G. Bowery, D. A. Brown, J. F. Collins, Brit. J. Pharm., 53, 422 (1975).
79. G. Hecht, H. Henecka, Angew. Chem., 61, 365 (1949).
80. J. F. Collins, R. G. Hill, F. Roberts, Brit. J. Pharm., 54, 239 (1975).
81. A. W. Mittag, in Fundamentals of Cell Pharmacology, ed. S. Dikstein, Springfield, Illinois, 1973, p. 3.
82. M. H. F. Wilkins, A. E. Blaurock, D. M. Engelmann, Nature New Biology, 230, 72 (1971).
83. S. J. Singer, G. L. Nicolson, Science, (N. Y.), 175, 720 (1972).
84. M. J. Azanza, R. J. Walker, Comp. Biochem. Physiol., 50C, 147 (1975).
85. J. C. Eccles, The Physiology of Synapses, Springer-Verlag, Berlin, 1964; Дж. Экклс, Физиология синапсов, «Мир», М., 1966.
86. J. J. Dreifuss, J. S. Kelly, K. Krnjevic, Exptl. Brain Res., 9, 137 (1969).
87. G. A. Kerkut, R. J. Walker, Comp. Biochem. Physiol., 3, 143 (1961).
88. G. A. Kerkut, R. J. Walker, Там же, 7, 277 (1962).
89. R. J. Walker, M. J. Azanza, G. A. Kerkut, G. N. Woodruff, Там же, 50C, 147 (1975).
90. N. M. van Gelder, Canad. J. Physiol. Pharmac., 49, 513 (1971).

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова,  
Университет дружбы народов им. П. Лумумбы,  
Москва