

Развитие представлений о взаимодействии лекарственных веществ с опиатными рецепторами

Н.Е.Кузьмина, В.С.Кузьмин

Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии
111024 Москва, ш. Энтузиастов, 23, факс (495) 673–2405

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова
119992 Москва, ул. Трубецкая, д. 8/2

Кратко изложено развитие представлений о молекулярных механизмах действия лекарственных веществ на опиатные рецепторы. Представлена современная точка зрения на механизм активации опиатных рецепторов, базирующаяся на результатах химерного и сайт-направленного мутагенеза клонированных опиатных рецепторов, а также компьютерного моделирования зоны рецепции и лиганд-рецепторных комплексов. Подробно рассмотрены трехмерные модели опиатного фармакофора, полученные с использованием традиционной методологии и методом сравнительного анализа молекулярных полей.

Библиография — 307 ссылок.

Оглавление

I. Введение	157
II. Положение лиганда опиатного рецептора относительно сайтов связывания рецептора. Строение зоны рецепции	158
III. Механизм возникновения биологического ответа клетки на взаимодействие опиатного рецептора с лигандом	162
IV. Понятие фармакофора. Модели опиатного фармакофора	168

I. Введение

В современной фармакологии одной из актуальных задач является поиск лигандов опиатных рецепторов (ОР) с заданным соотношением агонистических и антагонистических свойств. Опиатные анальгетики являются самыми эффективными из всех, применяемых в практической медицине. Они составляют основную группу болеутоляющих средств, которые эффективны при сильных болевых синдромах, связанных с травмой, хирургическими операциями, заболеваниями внутренних органов, опухолевыми процессами, при выведении из состояния болевого шока и острого алкогольного отравления и т.п. Аллергия, шизофрения, расстройство сна, астма, инсульт, боли и мигрени, повышенное давление — это неполный список недугов, которые также можно облегчить и преодолеть с помощью опиатных болеутоляющих средств. Их основной недостаток — наркотический эффект, поэтому

активно ведется поиск новых опиатных анальгетиков с улучшенными анальгетическими свойствами, с большей широтой терапевтического эффекта (с большим отношением летальной и терапевтической (эффективной) доз LD_{50}/ED_{50}), увеличенной продолжительностью действия и значительно меньшей способностью вызывать привыкание.

Поиск новых анальгетиков, агонистов ОР, происходит одновременно с поиском антагонистов ОР и соединений, проявляющих как агонистические, так и антагонистические свойства. Это обусловлено тем фактом, что антагонисты ОР являются наиболее эффективными средствами для лечения алкогольной и наркотической зависимости. Существующий во всем мире рост наркомании и алкоголизма и необходимость лечения больных с использованием заместительной терапии для купирования наркотической и алкогольной зависимости повышают интерес к антагонистам ОР.

В настоящее время целевой поиск новых лекарственных препаратов на основе агонистов и антагонистов ОР базируется на их компьютерном молекулярном моделировании. Дизайн структурных прототипов будущих лекарств невозможен без изучения особенностей строения ОР и их лигандов, механизмов лиганд-рецепторного взаимодействия и формирования биологического отклика.

Основные представления о механизмах взаимодействия лиганд–ОР и возникновения внутриклеточного биологического отклика сформировались в 70-е гг. прошлого века. Они основывались, главным образом, на косвенных данных, получаемых при анализе действия лекарственного вещества

Н.Е.Кузьмина. Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник ГНИИОХТ. e-mail: vsk46@yandex.ru

В.С.Кузьмин. Доктор химических наук, профессор стоматологического факультета Первого МГМУ. e-mail: vsk46@yandex.ru
Область научных интересов авторов: методы изучения строения вещества (РСА, спектроскопия ЯМР), компьютерные методы дизайна биологически активных соединений.

Дата поступления 5 июля 2010 г.

на рецептор *in vivo*. При таком анализе изучали зависимость величины биологического эффекта лиганда от его структуры, дозы или концентрации в организме, а также в условиях применения антагонистов и тем самым оценивали сродство лиганда к ОР, хотя химическая природа опиатного рецептора и механизм его функционирования оставались неизвестными. Начиная с 90-х гг. XX в. с интенсивным развитием и внедрением в практику современных инструментальных методов появилась возможность изучать механизм формирования биологического отклика *in vitro*. Экспериментальные данные, полученные за последние 20 лет, во многом изменили традиционные представления о рецепции, сложившиеся во второй половине прошлого века, многие концепции были модифицированы.

Цель настоящего обзора — проанализировать эволюцию представлений о механизмах взаимодействия лигандов с ОР и возникновения биологического отклика. При этом основной акцент сделан на следующих вопросах: положение лиганда относительно сайтов связывания опиатного рецептора, строение зоны рецепции ОР; механизм активации ОР; понятие фармакофора, модели опиатного фармакофора.

II. Положение лиганда опиатного рецептора относительно сайтов связывания рецептора. Строение зоны рецепции

Прежде чем говорить о возможных механизмах лиганд-рецепторного взаимодействия, кратко рассмотрим основные понятия и термины, трактовка которых не претерпела изменений с 70-х гг. XX в.

В соответствии с рекомендациями ИЮПАК в области фармацевтической химии, рецептор — молекула или полимерная структура в клетке, специализированно распознающая и связывающая молекулу, действующую как молекулярный посланник (нейромедиатор, гормон, лимфокинин, лектин, лекарственное средство и т.д.).¹ Рецепторы, расположенные на цитоплазматической мембране клетки или внутриклеточно, специфически распознают лиганд, обратимо или необратимо взаимодействуют с ним и передают специфический сигнал об этом взаимодействии в клетку.² Биологически активные вещества, способные взаимодействовать со специфическими рецепторами, называют лигандами данных рецепторов.² В фармакологическом аспекте все многообразие лигандов можно разделить на две группы: агонисты и антагонисты. Агонист — это эндогенное вещество или лекарство, которое может взаимодействовать с рецепторами и инициировать их физиологические или фармакологические отклики.¹ Антагонист — лекарство или соединение, также взаимодействующее с рецептором, но вызывающее противоположные физиологические эффекты (по сравнению с агонистом). В рамках количественной оценки биологического отклика агонисты принято делить на полные агонисты (вызывают максимальный отклик по шкале от 0 до 1) и частичные агонисты, которые не способны индуцировать максимальную активацию рецептора независимо от количества примененного препарата.¹

Опиатные рецепторы были обнаружены в начале 70-х гг. прошлого века в центральной нервной системе (ЦНС) животных.³ На первых этапах исследования локализации и функций ОР было установлено, что они распределяются в структурах спинного и головного мозга, имеющих отношение к проведению и восприятию болевых импульсов. Однако позже ОР были обнаружены вне ЦНС (в дыхательной системе и желудочно-кишечном тракте), что дало основание полагать, что

их функции более разнообразны. Общепринято относить к опиатным три типа рецепторов: μ -, κ - и δ -рецепторы.^{4–12} По структуре основные типы ОР на 60% гомологичны. Их активация, сопровождаемая схожими внутри- и межклеточными процессами, вызывает различный биологический отклик.^{13–15}

Принято считать, что μ -ОР ЦНС преимущественно участвуют в модуляции болевой чувствительности, их активация вызывает супраспинальную анальгезию, миоз, угнетение дыхания, брадикардию, снижение активности барорецепторов сосудов, парез кишечника, эйфорию, каталепсию, гипотермию, физическую зависимость. Активация κ -ОР вызывает развитие седативного эффекта, спинальную анальгезию, минимальное угнетение дыхания, дисфорию, психотомиметический эффект, ухудшение процессов обучения и памяти; может возникать незначительная зависимость. При активации δ -ОР анальгезия отсутствует, наблюдаются галлюцинации, мидриаз, тахикардия, тошнота. Рецепторы этого типа в основном регулируют эмоциональную сферу, их агонисты способны вызывать антидепрессивный и анксиолитический эффекты.

В 1995 г. открыты ноцицептин-орфановые рецепторы (НОР),¹⁶ которые также участвуют в регуляции болевой чувствительности. Орфановые рецепторы преимущественно локализованы в спинном и головном мозге. Эти рецепторы экспрессируются в нейронах, блокируя активность аденилатциклазы и Ca^{2+} -каналов и, подобно ОР, активируя K^{+} -каналы. Они не взаимодействуют с большинством лигандов ОР, включая налоксон (**1a**).[†] Несмотря на частичный антагонизм НОР по отношению к классическим ОР как в регуляции боли, так и в ряде других физиологических эффектов, функции их очень тесно переплетаются, поэтому, а также благодаря высокой гомологии с κ -ОР, НОР в настоящее время рассматривают как четвертый класс ОР.¹⁷

Лиганды ОР можно разделить на два типа: селективные (т.е. взаимодействующие с рецепторами только одного типа) и неселективные. Большинство каркасных морфиноподобных агонистов относятся к неселективным лигандам, хотя их сродство к μ -ОР несколько выше, чем к κ - и δ -ОР. Неселективными антагонистами являются налоксон (**1a**) и налтрексон (**1b**), в то время как *N*-фенилпропил-4 β -метил-5-(3-гидроксифенил)морфан является селективным чистым κ -антагонистом, а налтрибен (NTB) и налтриндол (NTI) (**2a**) — селективными δ -антагонистами. Следует отметить, что лиганды, проявляющие агонистические — антагонистические свойства, могут быть селективны к различным типам ОР в качестве агонистов и в качестве антагонистов. Так, большинство производных бензоморфана являются агонистами κ -ОР и антагонистами μ -ОР.

Исследование строения ОР началось с середины 70-х гг. XX в., когда было установлено их непосредственное участие в механизмах передачи болевых импульсов. На данный момент известно, что ОР структурно относятся к семейству метаботропных рецепторов, ассоциированных с G-белками (GPCR, группа родопсина).^{18–23} Передача информации на постсинаптические структуры осуществляется посредством модуляции различных систем вторичных посредников (мессенджеров): аденилатциклазы, натрий-кальциевых каналов, фосфоинозитидного каскада.^{2, 24–26} На основании экспериментальных данных (электронная криомикроскопия, секве-

[†] Структуры лигандов, которым присвоены номера, приведены в Приложении.

нирование полипептидной цепи) установлено, что ОР всех типов имеют близкое строение и отличаются лишь аминокислотной последовательностью некоторых фрагментов полипептидной цепи.^{27–30} Молекула ОР включает внеклеточный NH₂-участок, далее следуют семь трансмембранных доменов (TM-I–TM-VII), между которыми расположены три внеклеточные EL-I–EL-III) и три внутриклеточные (IL-I–IL-III) петли. Завершает полипептидную цепь внутриклеточный COO-фрагмент.^{24, 25, 31–33} На рис. 1 приведена двумерная модель к-ОР.³⁴

Семь трансмембранных доменов гидрофобны (содержат менее 30% полярных аминокислотных остатков) и имеют вторичную структуру α -спиралей. Трансмембранные домены и внутриклеточные петли δ -, μ - и κ -ОР характеризует высокая степень гомологичности (73–76% и 63–66% соответственно^{35, 36}), а наибольшее различие отмечено в последовательности аминокислотных остатков в наружных петлях EL-II и EL-III и концевых фрагментах (34–40% идентичности).^{15, 35} Структурные фрагменты ОР тесно взаимодействуют между собой.^{15, 37}

Лиганды связываются с ОР в определенной области — так называемой зоне рецепции. Высокая степень сродства ОР к лигандам обеспечивается за счет существования в зоне рецепции сайтов связывания лигандов. Наиболее часто эти сайты образованы карбоксильными группами дикарбоновых кислот, аминогруппами диаминокислот, гидроксильными группами гидроксиаминокислот, SH-группами цистеина, имидазольным циклом гистидина, индольным фрагментом триптофана, гидрофобными участками различных аминокислот.²

На раннем этапе (в 70–80-е гг. XX в.) изучения строения ОР и лиганд-рецепторных комплексов, когда отсутствовали экспериментальные данные об идентификации сайтов связывания лиганд–ОР, предполагалось, что зона рецепции расположена на внешней стороне цитоплазматической мембраны, при этом агонист и антагонист взаимодействуют с одним и тем же участком в зоне рецепции, т.е. господствовала теория конкурентного связывания лигандов с ОР.^{38–41} Этих же представлений придерживается Духович с соавт. в гораздо более поздней работе⁴². В этой работе высказано предположение, что взаимодействующий с лигандом анионный участок рецептора расположен на внешней поверхности цитоплазматической мембраны и имеет вид чаши с гидрофобными стенками, на дне которой находится анионная группа. В этой чаше расположены молекулы воды; электростатическое взаимодействие анионной группы рецептора с протонированным атомом азота лиганда может происходить без полного вытеснения молекул воды из полости анионного участка.⁴² Степень раскрытия чаши (конформационных изменений рецептора) и вытеснения молекул воды из сферы взаимодействия ионов различна для агонистов и антагонистов.

Появление экспериментальных данных об идентификации сайтов связывания ОР с агонистами и антагонистами изменило представление о расположении зоны рецепции относительно внешней границы цитоплазматической мембраны и ее строения. Углублению представлений о строении зоны рецепции лигандов ОР способствовало внедрение методов клонирования, сайт-направленного мутагенеза, создание химерных ОР.^{16, 43–48} Эксперименты по сайт-направленному мутагенезу и созданию химерных рецепторов проводятся для

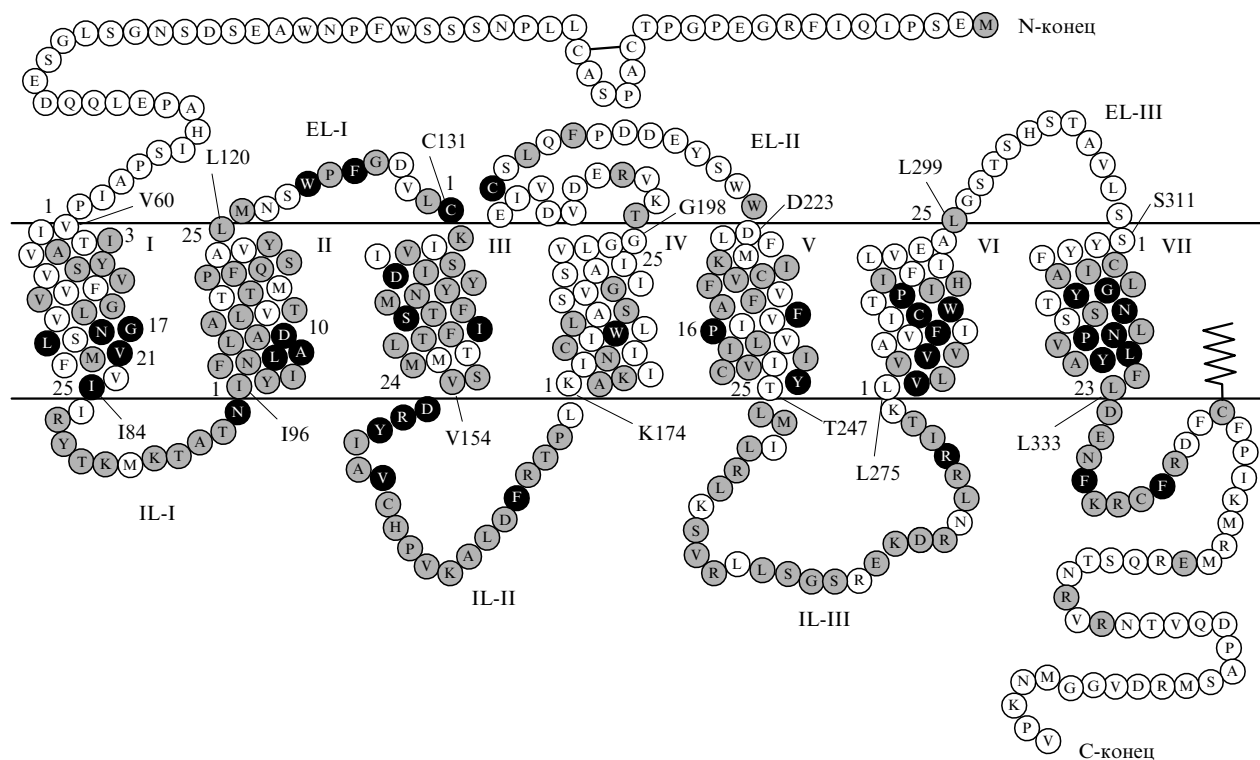


Рис. 1. Двумерная модель опиатного к-рецептора.³⁴

Римскими цифрами обозначены трансмембранные домены, арабскими цифрами — аминокислотные остатки. Серым цветом выделены аминокислотные остатки, которые присутствуют в опиатных рецепторах всех типов; черным — те остатки, которые присутствуют во всех GPCR семейства родопсина.

определения роли сегментов ОР или конкретных аминокислотных остатков в распознавании лиганда рецептором и в формировании биологического отклика. Химерный ОР представляет собой результат замены определенных сегментов ОР одного типа на сегменты ОР другого типа. Исследования с химерными рецепторами позволили говорить о конкретном участии внеклеточных петель и трансмембранных доменов в связывании агонистов и антагонистов μ -, δ - и κ -ОР и выявить участки, ответственные за формирование селективности к различным лигандам ОР.²⁵

Эксперименты с химерными ОР способствовали развитию теории поликомплементарного связывания агонистов и антагонистов с ОР. Впервые эту идею высказал Портогезе^{49, 50} в середине 70-х гг. прошлого века в ходе анализа особенностей пространственного строения лигандов с различным соотношением агонистических и антагонистических свойств.⁵⁰ Однако вплоть до 90-х гг. XX в. теория поликомплементарного связывания лигандов с ОР не получила широкого признания (в отличие от теории конкурентного связывания). Согласно этой теории, ОР содержит несколько комплементарных участков, способных взаимодействовать с лигандом. В свою очередь, лиганд содержит ряд специфических функциональных областей или групп, которые «узнаются» соответствующими комплементарными участками рецептора; агонисты и антагонисты связываются с различными комплементарными участками рецептора. Однозначное и неопровержимое доказательство поликомплементарного связывания агонистов и антагонистов с ОР было получено в ходе изучения связывания радиолигандов с химерными рецепторами.^{16, 51} Например, в работе¹⁶ описаны эксперименты с химерными рецепторами на основе δ - и κ -ОР, содержащими N-концевой фрагмент и часть ТМ-I рецептора одного типа и C-концевой фрагмент, внешние и внутренние петли и шесть трансмембранных спиралей ОР другого типа: κ_1 -78/ δ_{70-372} и δ_1 -69/ κ_{79-380} (номера в индексах означают аминокислотные последовательности в исходных δ - и κ -ОР). Методом радиолигандного связывания было установлено, что κ -селективный антагонист [³H]наллоксон (**1a**) связывается с химерным рецептором κ_1 -78/ δ_{70-372} и не связывается с химерным рецептором δ_1 -69/ κ_{79-380} . Противоположная картина наблюдается для κ -селективного агониста [³H]U-69.593 (**3**), который взаимодействует с химерным рецептором δ_1 -69/ κ_{79-380} и не взаимодействует с κ_1 -78/ δ_{70-372} . Эти результаты свидетельствуют о том, что κ -селективные агонисты и антагонисты взаимодействуют с различными сайтами связывания κ -ОР.

Исследования с химерными ОР не дают возможности определить ключевые аминокислоты, вовлеченные в лиганд-рецепторные взаимодействия. Поэтому следующим шагом стало изучение вкладов отдельных аминокислотных остатков посредством мутации клонированных рецепторов, в которых заменяется одна или несколько аминокислот. Цель работ этого направления — вызвать такие мутации рецептора, которые давали бы пониженное сродство к селективным лигандам (агонистам, антагонистам, лигандам с агонистическими–антагонистическими свойствами) по сравнению с немутированным рецептором. Как правило, оценивают функциональные характеристики рецептора (по параметрам связывания радиолигандов, по активности систем трансдукции).

Следует отметить, что сравнительный анализ результатов сайт-направленного мутагенеза, полученных различными авторами, затруднен из-за неоднородности анализируемых объектов (δ -, μ -, κ -ОР человека и животных разли-

чаются аминокислотными последовательностями) и многочисленности существующих номенклатур рецепторов, сопряженных с G-белками. Номенклатуры различаются нумерацией аминокислотных остатков, обозначаемых своим буквенным кодом: используется или сквозная нумерация по всей аминокислотной последовательности, начиная с внеклеточного NH₂-концевого фрагмента, или отдельная нумерация для каждой трансмембранной спирали. Например, аспартат, занимающий седьмую позицию в аминокислотной последовательности третьей трансмембранной спирали δ -, μ - и κ -ОР человека, обозначается по одной номенклатуре как Asp¹²⁸, Asp¹⁴⁷ и Asp¹³⁸ соответственно, а по другой номенклатуре — как Asp(III:7).⁵² При изложении материала мы сохраняем номенклатуру, используемую авторами в цитируемых работах.

Наиболее подробно проблема определения аминокислотных остатков, вовлеченных в лиганд-рецепторные взаимодействия, изучена в отношении связывания агонистов пептидной и непептидной природы.^{15, 45, 47, 51, 53–60} Установлено, что алкалоидные μ -агонисты и δ -агонисты пептидной природы связываются с аминокислотными остатками ТМ-V–ТМ-VII и EL-III, в то время как μ -агонисты пептидной природы — с аминокислотными остатками EL-I и ТМ-III.^{15, 45, 47, 51} Для δ -агонистического связывания установлена значимость остатков Asp⁹⁵ (ТМ-I),^{45, 51, 57} Asp¹²⁸ (ТМ-III),^{51, 52} Trp²⁸⁴, Val²⁹⁶, Val²⁹⁷ в EL-III,^{51, 53} Leu(VII:03),⁴⁶ Lys¹⁰⁸ в EL-I.⁵⁸ В селективном связывании κ -агонистов принимают участие аминокислотные остатки второй внеклеточной петли.^{51, 59, 60} Следует отметить, что участие второй внеклеточной петли в связывании κ -агонистов характерно только для ОР и не наблюдается для других представителей семейства GPCR.⁵¹

Таким образом, на основе экспериментов с химерными и мутированными рецепторами установлено, что внешние петли μ -, κ - и δ -ОР вовлечены в связывание с селективными агонистами. Поскольку эти структурные фрагменты ОР являются наименее гомологичными, была высказана гипотеза, согласно которой расхождение в аминокислотной последовательности внешних петель определяет функциональные различия основных типов ОР.⁵¹

Одновременно накоплен достаточный материал и для выявления сайтов связывания антагонистов ОР. Установлено, что специфическое связывание наллоксона и налтрексона (**1a, b**) уменьшается при замене аминокислот в третьем–седьмом трансмембранных доменах: Tyr¹²⁹ (ТМ-III), Trp¹⁷³ (ТМ-IV), Trp²⁷⁴ (ТМ-VI), Tyr³⁰⁸ (ТМ-VII), Trp³¹⁸ (ТМ-VII), Tyr³²⁶ (ТМ-VII).^{15, 32} Подтверждена важная роль ароматических аминокислот в связывании наллоксона. Так, замена Tyr¹²⁹ (ТМ-III) на другую ароматическую аминокислоту, фенилаланин, мало влияет на связывание антагониста, тогда как замещение на аланин сопровождается снижением сродства в десятки раз.³²

В селективном связывании κ -антагонистов существенная роль принадлежит аминокислотным остаткам третьей внеклеточной петли и Glu²⁹⁷ из ТМ-VII.^{34, 51, 61–64} Например, замена отрицательно заряженного Glu²⁹⁷ на положительно заряженный Lys понижает сродство норбинаторфина (nor-BNI, **4**) к κ -ОР в 100 раз.⁶³ Следует отметить, что сродство nor-BNI к μ -ОР, у которого аналогом Glu²⁹⁷ является Lys³⁰³, также меньше в 100 раз по сравнению со сродством к κ -ОР.⁶³ В ряде работ третья внеклеточная петля (EL-III) названа ключевым фрагментом ОР, обеспечивающим различие в аффинности NTI (**2a**), nor-BNI (**4**) и GNTI (**2b**) к μ -, κ - и δ -ОР.^{53, 63–68} Например, анализ сайтов связывания в

химерных ОР μ/κ (см.⁶³) и δ/κ (см.⁶⁴) показал, что присутствие EL-III от κ -ОР является единственным условием эффективного связывания μ -BNI с ОР. Более того, δ -селективный лиганд NTI связывается с высокой степенью родства с δ/κ -ОР (см.⁶⁴) и δ/μ -ОР,⁶⁶ содержащими EL-III от δ -ОР.

Авторы работы³⁵, обобщая результаты экспериментов по химерному и сайт-направленному мутагенезу,^{15, 31, 32, 57, 69–74} в качестве аминокислотных остатков, необходимых для связывания с лигандами ОР, назвали[‡] Asp(3.32), Tyr(3.33), Lys(5.39), Phe(5.47), Trp(6.48), Ile(6.51), His(6.52), Ile(6.53), Ile(7.39), Tyr(7.43).

Методом сайт-направленного мутагенеза установлено, что ключевую роль в узнавании лигандами (как агонистами, так и антагонистами) δ -ОР играют три заряженных аминокислотных остатка в трансмембранных доменах ОР: Asp¹¹⁴ (TM-II), Asp¹²⁸ (TM-III) и His²⁹⁷ (TM-VI) (см.^{15, 43, 47, 51, 52, 57, 73, 75, 76}). Эти остатки формируют центральную гидрофильную часть зоны рецепции. Предполагается, что Asp¹¹⁴ отвечает за узнавание лигандом рецептора и связывание с ионами натрия, с помощью которых регулируется агонистическое связывание с рецептором и активация G-белка.^{43, 75} Важнейшую роль в лиганд-рецепторном узнавании и связывании играет Asp¹²⁸ (в μ - и κ -ОР ему отвечают Asp¹⁴⁷ и Asp¹³⁸ соответственно⁵²). Именно этот аминокислотный остаток участвует в водородном связывании, дополняемом электростатическим взаимодействием, с протонированным атомом азота лигандов ОР всех типов (как агонистов, так и антагонистов). К этому важному выводу пришли многие исследователи, изучавшие зону рецепции ОР методом сайт-направленного мутагенеза.^{15, 47, 57, 73, 76} Следует отметить, что и для других представителей семейства GPCR аминокислотный остаток, гомологичный Asp¹²⁸ (TM-III), взаимодействует с протонированным атомом азота лигандов (данные сайт-направленного мутагенеза).^{15, 75–82}

Мутации His²⁹⁷ ведут к существенному уменьшению родства агонистов и антагонистов к ОР.⁷⁴ Принято считать, что His²⁹⁷ участвует во внутримолекулярном ион-ионном взаимодействии с карбоксильной группой Asp¹⁴⁷ в TM-III.⁵⁷ Кроме того, имидазольный цикл His²⁹⁷ включен в донорно-акцепторное взаимодействие с гидроксильной группой ароматического кольца лигандов, содержащих морфиновое ядро.⁶²

В настоящий момент на основе данных сайт-направленного мутагенеза зону рецепции лигандов ОР условно делят на область селективности и «карман связывания». Первая расположена преимущественно выше наружной поверхности мембраны и сформирована аминокислотными остатками внеклеточных петель и вершук трансмембранных доменов V – VI.^{16, 44, 45, 53, 58, 59, 63, 83, 84} «Карман связывания» находится ниже наружной поверхности мембраны и ограничен спиралями трансмембранных доменов III – VII.^{31, 32, 35} В рецепцию лигандов пептидной природы вовлечены как участки области селективности, так и «карман связывания». Алкалоиды и их производные взаимодействуют преимущественно с областью «кармана связывания».^{31, 32, 43, 53, 57, 63, 65, 73, 84} Тираминовый фрагмент опиоидных пептидов и алкалоидов взаимодействует с аминокислотными остатками «кармана связывания».

Следует отметить, что экспериментальные данные, полученные методами электронной криомикроскопии, сайт-

направленного мутагенеза и с помощью создания химерных рецепторов, не позволяют судить о трехмерном строении зоны рецепции. Наиболее полную информацию о пространственном строении макромолекул дает PCA. На сегодняшний день такие данные отсутствуют. Поэтому пространственное строение ОР изучается теоретически методами компьютерного моделирования. Теоретические методы исследования базируются на многочисленном экспериментальном материале о внутри- и межмолекулярных взаимодействиях с участием различных аминокислотных остатков ОР, полученном на основе сайт-направленного мутагенеза.

При моделировании трехмерного строения ОР используются различные подходы.^{52, 85–95} Наиболее распространенными являются методы структурного подобия и дистанционной геометрии. При использовании методов структурного подобия моделируемый рецептор «подстраивают» под шаблон. В качестве шаблона чаще всего используют данные электронной криомикроскопии или PCA по строению близких гомологов, например данные о строении родопсина и бактериородопсина,^{28, 85, 96–101} которые также относятся к семейству GPCR. При генерации известных структурных шаблонов и моделей структурных гомологов часто применяют программный комплекс MODELLER,^{102, 103} web-серверы SWISS-MODEL, EsyPred3D, Robetta, CPHmodels, SDSC1 (см.^{104–106}) и базы данных ModBase,¹⁰⁷ Swssprot,¹⁰⁸ GenBank,¹⁰⁹ PIR,¹¹⁰ GCRDb,¹¹¹ PRINTS (см.^{112, 113}). Например, Филизола и соавт.⁸⁶ сконструировали трехмерные модели «кармана связывания» μ -, κ - и δ -ОР с использованием в качестве стартовых моделей структуры α -спиралей родопсина, которые получены методом электронной криомикроскопии. Пространственное строение пучка трансмембранных спиралей модифицировалось в ходе оптимизации энергии, при этом не накладывалось никаких ограничений, связанных с реализацией внутримолекулярных межспиральных взаимодействий. Оценка стабильности полученных трехмерных структур трансмембранных доменов осуществлялась с использованием метода молекулярной динамики.

Данные PCA свидетельствуют, что во взаимной ориентации спиралей GPCR относительно друг друга нет единообразия (в родопсине трансмембранные спирали располагаются параллельно, а в бактериородопсине — пучками), поэтому результат моделирования будет существенно различаться в зависимости от выбранного шаблона.

На наш взгляд, более перспективной является методология дистанционной геометрии, разработанная Погожевой с соавт.^{52, 114} Она заключается в создании трехмерной модели ОР, в которой реализуется максимальное число межспиральных взаимодействий (водородных связей, электростатических и S...S-взаимодействий, π -комплексов и т.д.) при минимальных стерических препятствиях. При создании такой модели используются экспериментальные данные об аминокислотной последовательности ОР, особенностях пространственного строения α -спиралей GPCR. Примером применения методологии дистанционной геометрии являются трехмерные модели зон рецептирования μ -, δ -, κ -ОР, предложенные в работе⁵². Моделирование зон рецепции осуществлялось таким образом, чтобы боковые цепи трансмембранных спиралей участвовали в образовании максимального числа водородных связей. Взаимозависимость числа внутри- и межмолекулярных водородных связей как основной критерий при оптимизации строения зоны рецепции предложен в работе¹¹⁵. Характерной особенностью

‡ Сохранено обозначение аминокислотных остатков, приведенное авторами оригинальной статьи.

полученных в работе⁵² моделей зон рецепции ОР различных типов является наличие внутренней, центральной области из 18 аминокислотных остатков, одинаковой для всех трех типов ОР, и периферийной области из 19 аминокислотных остатков, различной для δ -, μ - и κ -ОР. Этот результат хорошо согласуется с основанным на данных сайт-направленного мутагенеза делением зоны рецепции на область селективности и «карман связывания».

Конструирование трехмерных моделей лиганд-рецепторных комплексов осуществляют путем докинга лигандов в зону связывания — установлением точного соответствия между лигандом и его сайтами связывания на рецепторе. Существует ряд программ, основанных на различных методах, которые позволяют осуществлять автоматический докинг малых молекул в полость белка: DOCK,¹¹⁶ AUTODOCK,^{117, 118} GOLD,¹¹⁹ FlexX,¹²⁰ FDS,¹²¹ Glide,¹²² LigandFit,¹²³ ICM (см.¹²⁴) и др. Сравнительный анализ таких программ представлен в работе¹²⁵. Подавляющее большинство современных программ докинга работают, основываясь на принципе «гибкого докинга» (flexible docking), когда учитывается конформационная подвижность лиганда, но не учитывается конформационная подвижность молекулы рецептора. Стратегия гибкого докинга подробно описана в работе¹²⁶. По своей сути гибкий докинг сводится к автоматическому перебору конформаций и ориентаций лиганда в сайте связывания и оценке энергии взаимодействия. Наиболее перспективные и наиболее вычислительно сложные методы докинга позволяют учитывать конформационную подвижность не только лиганда, но и рецептора. На сегодняшний день существуют лишь отдельные программные комплексы, специально предназначенные для докинга, в которых реализована такая возможность. Наиболее простой вариант реализации полностью гибкого докинга позволяет учитывать конформационную подвижность боковых цепей аминокислотных остатков, расположенных непосредственно в сайте связывания.

При использовании различных методологических подходов получен ряд трехмерных моделей зоны рецепции ОР, различающихся взаимной ориентацией трансмембранных спиралей, внеклеточных петель и концевых фрагментов, а также комплексов лиганд–ОР с их участием.^{36, 85, 87–89, 91, 127–152} Несмотря на различия этих моделей, у них можно выделить ряд общих черт:

1) зона рецепции представляет собой достаточно протяженную область, в которой молекулы агонистов и антагонистов могут без существенных стерических затруднений занимать различное положение;

2) структурные фрагменты молекул, общие для селективных и неселективных лигандов, взаимодействуют с сайтами трансмембранных спиралей; структурные фрагменты, обеспечивающие селективность действия лигандов (индолный цикл в NTI (**2a**), олигопептидный цикл в DPDPE (**5**) и т.д.), расположены в области между внеклеточными петлями и вершинами ТМ-VI и ТМ-VII;^{46, 145}

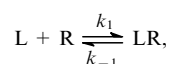
3) в большинстве случаев сайты связывания рецептора, общие для агонистов и антагонистов, — это полярные аминокислотные остатки (Asp(III:7), Tyr(III:8), His(VI:20));

4) общий для лигандов структурный фрагмент (тираминовый для алкалоидов и Туг для циклических пептидов) связывается с трансмембранным доменом всех трех типов рецепторов одинаково;^{46, 52} протонированный атом азота и ОН-группа тираминового или тирозинового фрагмента образуют водородные связи с остатками Asp(III:7) и His(VI:20) соответственно.

Таким образом, согласно современным экспериментальным данным и результатам компьютерного моделирования, зона рецепции представляет собой внутримолекулярную полость ОР, которая расположена большей частью внутри цитоплазматической мембраны. Ее образуют аминокислотные остатки трансмембранных спиралей (ТМ-III–ТМ-VII) и внеклеточных петель. Внеклеточный N-концевой остаток, внутриклеточный C-концевой остаток и внутриклеточные петли не входят в зону рецепции.^{16, 57} Агонисты и антагонисты связываются с различными сайтами зоны рецепции. Однако протонированный атом азота как агонистов, так и антагонистов взаимодействует с одной и той же анионной группой ОР — карбоксильной группой боковой цепи Asp (Asp¹²⁸, Asp¹⁴⁷ и Asp¹³⁸ для δ -, μ - и κ -ОР соответственно), которая располагается не на поверхности цитоплазматической мембраны, а в центральной части трансмембранного домена ТМ-III.

III. Механизм возникновения биологического ответа клетки на взаимодействие опиатного рецептора с лигандом

На первых этапах изучения процессов рецепции было принято считать, что величина фармакологического эффекта зависит от концентрации лиганд-рецепторных комплексов; следовательно, изучение закономерностей влияния лигандов на биологический отклик клетки сводилось к изучению механизма лиганд-рецепторного взаимодействия. Первое количественное описание величины фармакологического эффекта клетки в зависимости от концентрации лиганда было принято Кларком в 1926 г.¹⁵³ Взаимодействие лигандов с рецепторами, согласно Кларку, записывается в виде следующего равновесия:



где L — лиганд, R — рецептор, LR — комплекс лиганда с рецептором, k_1 и k_{-1} — константы скоростей образования и распада лиганд-рецепторных комплексов.

Образование лиганд-рецепторного комплекса характеризуется константой ассоциации (K_a), или константой сродства (K_c):

$$K_a = \frac{[LR]}{[L][R]} = \frac{k_1}{k_{-1}}.$$

Однако чаще используют величину, обратную K_a , т.е. константу диссоциации комплекса (K_d). С помощью этой равновесной константы можно определить изменение свободной энергии Гиббса при комплексообразовании. Для температуры 37.5°C, при которой обычно измеряется K_d в опытах на изолированных мышцах животных, справедливо уравнение $\Delta G = 1.42 \lg K_d$, ккал · моль⁻¹ (см.⁴²).

Как правило, для систем лиганд–рецептор величина ΔG (по модулю) не превышает 14–15 ккал · моль⁻¹, K_d по порядку величины не опускается ниже 10⁻¹¹ моль · л⁻¹. Например, для комплекса карфентанил (**6b**)–ОР значения K_d и ΔG составляют 3.6 · 10⁻¹¹ моль · л⁻¹ и –14.2 ккал · моль⁻¹ соответственно.⁴²

Кларк предположил,¹⁵³ что клеточный ответ прямо пропорционален концентрации лиганд-рецепторных комплексов. В условиях избытка лиганда по отношению к рецепторам зависимость биологического ответа клетки от

концентрации добавленного лиганда описывается изотермой Ленгмюра:²

$$[LR] = \frac{[L_0][R_0]}{[L_0] + K_d} (1 - \exp[-(k_1[L_0] + k_{-1})t]),$$

здесь $[LR]$, $[L_0]$ и $[R_0]$ — концентрации лиганд-рецепторного комплекса, лиганда и рецептора (начальные) соответственно.

К настоящему времени известно значительное число работ, в которых изучалась зависимость биологического эффекта лиганда ОР от его дозы.^{2,42} В большинстве из этих исследований предполагалось, что биологический эффект определяется степенью заселенности рецепторов данным физиологически активным веществом. Однако по мере накопления экспериментального материала было установлено три основных факта, необъяснимых с точки зрения теории Кларка:

1) максимальный биологический ответ клетки во многих случаях наблюдается тогда, когда лишь незначительная часть рецепторов связана с лигандами;

2) кривая зависимости биологического отклика клетки от концентрации добавленного лиганда во многих случаях имеет не вид изотермы Ленгмюра, а более сложную колоколообразную форму (рис. 2);

3) различие механизмов действия агонистов и антагонистов одного типа: агонисты вызывают биологический отклик, антагонисты — нет.

Эти факты послужили причиной для формирования более сложных, чем теория Кларка, представлений о механизмах биологического ответа клетки на взаимодействие с опиатным рецептором. В связи с этим в настоящее время для описания механизмов формирования клеточного ответа теория Кларка имеет скорее исторический интерес, однако она не потеряла значения для описания собственно процессов связывания лигандов с рецепторами.

В 1956 г. Стефферсон¹⁵⁴ предположил, что величина биологического ответа клетки на взаимодействие лигандов с рецепторами есть некая функция числа занятых рецепторов, при этом максимальный биологический отклик наблюдается при связывании лишь части рецепторов с лигандом. Однако теория Стефферсона не объясняла колоколообразной зависимости биологического ответа клеток от концентрации добавленного лиганда, а также различий в действии агонистов и антагонистов. Для объяснения разницы в механиз-

мах действия агонистов и антагонистов Пейтон¹⁵⁵ в 1961 г. предложил теорию, которую в настоящее время принято называть скоростной. Согласно теории Пейтона, величина эффекта лиганда определяется скоростью ассоциации лиганда с рецептором. Агонистом является вещество, которое с высокой скоростью взаимодействует с рецептором, образуя короткоживущие лиганд-рецепторные комплексы. Антагонистом является вещество, скорость взаимодействия которого с рецептором невелика, однако в результате этого взаимодействия образуются долгоживущие лиганд-рецепторные комплексы. Основным фактом, противоречащим скоростной теории, является экспериментально определенная скорость ассоциации агонистов и антагонистов с рецепторами одного и того же типа. Установлено, что скорости взаимодействия агонистов и антагонистов во многих случаях не различаются существенно; более того, скорость ассоциации антагониста с рецептором может оказаться больше скорости ассоциации агониста с тем же рецептором.² Например, времена жизни комплексов агонистов морфина (**7b**) и карфентанила (**6b**) с μ -ОР (62 с¹⁵⁶ и 560 с¹⁵⁷ соответственно) превосходят таковое для антагониста налоксона (**1a**) (16 с¹⁵⁸).

В одном ряду с теорией Пейтона находится теория Духовича, которая объясняет различия в действии агонистов и антагонистов любых рецепторов, в том числе и ОР, особенностями ион-ионного взаимодействия лигандов с рецепторами.⁴² Согласно этой теории, характер опиатной активности, т.е. соотношение агонистических и антагонистических свойств, определяется величиной энергии ион-ионного взаимодействия лиганда с рецептором. Протонированный атом азота лиганда взаимодействует с анионной группой рецептора, расположенной на дне анионного участка в форме чаши с гидрофобными стенками (рис. 3). Заместители при атоме азота, большие по размеру, чем метильный фрагмент, связываясь с гидрофобными участками ОР, ограничивают сближение ионных групп лиганда и рецептора и тем самым уменьшают энергию ион-ионного взаимодействия (табл. 1). У морфиноподобных анальгетиков, содержащих N-метильный фрагмент, таких ограничений нет, как и у норморфина (**7a**), который является агонистом. Общим для заместителей у атома азота частичных агонистов и антагонистов, производных морфина, является то, что «якорный» фрагмент их заместителей (винил, циклопропил, циклобутил) связан с атомом азота не непосредственно, а через метиленовое звено. «Якорные» фрагменты, связываясь жестко с площадкой, примыкающей к анионному участку рецептора, препятствуют максимальному смещению атома азота вглубь «чаши» анионного участка ОР. В налтрексоне (**1b**) это смещение больше, чем в налоксоне (**1a**) из-за возможности аксиального положения метиленовой группы по отношению к плоскому циклопропильному фрагменту. Неплоская структура циклобутильной группы позволяет увеличить «погружение» атома азота в углубление анионного участка ОР. Морфин (**7b**) не имеет такого барьера для подвижности атома азота, который имеют налоксон (**1a**), налтрексон (**1b**) и нальбуфин, в связи с чем расстояние между атомами азота и анионной группой ОР меньше. Таким образом, барьер (2–3 ккал·моль⁻¹) в ион-ионном взаимодействии протонированного атома N лиганда и анионной группы ОР, создаваемый заместителями при атоме азота, определяет характер опиатной активности лиганда (агонист, частичный агонист и антагонист).⁴² Факт, что фентанил (**6a**) и его производные являются чрезвычайно сильными агонистами по сравнению с морфином, Духович с соавт.⁴² объяс-

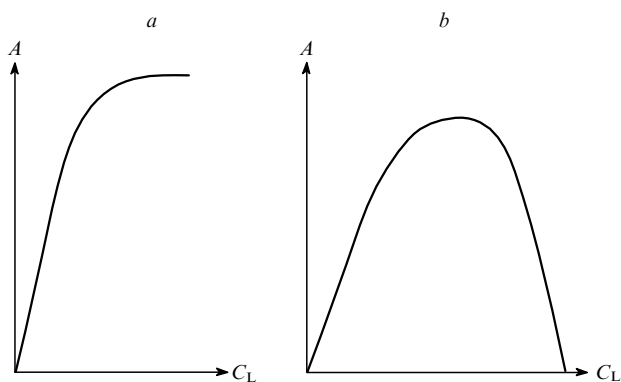


Рис. 2. Зависимости величины биологического ответа клетки (A) от концентрации добавленного лиганда (C_L): изотерма Ленгмюра (a), колоколообразная зависимость (b).²

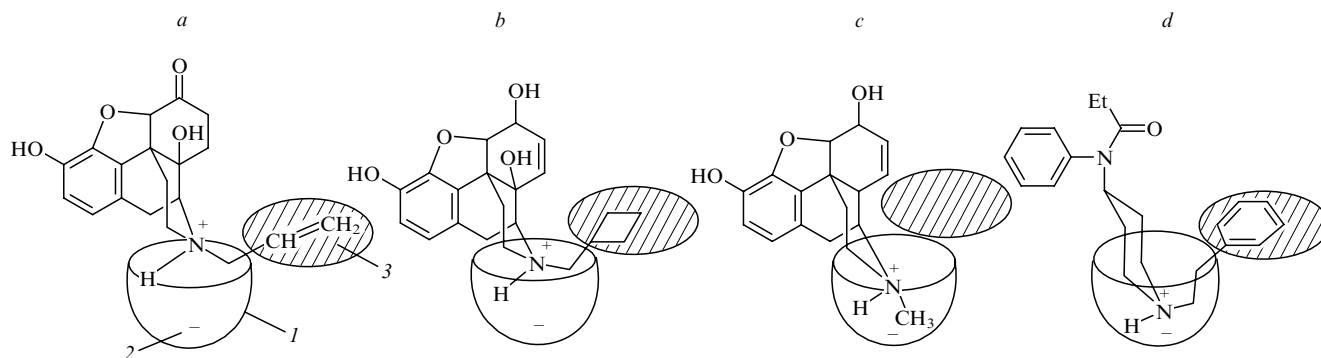


Рис. 3. Гипотетическая схема связывания налоксона (**1a**) (a), нальбуфина (b), морфина (**7a**) (c) и фентанила (**6a**) (d) с анионным участком опиатного рецептора.⁴²

1 — анионный участок рецептора; 2 — анионная группа; 3 — площадка, примыкающая к анионному участку.

Таблица 1. Расчетные величины смещения протонированного атома азота соединений в направлении анионной группы рецептора.⁴²

Соединение	Смещение протонированного атома N, Å	Тип активности
Налоксон (1a)	0	Антагонист
Налтрексон (1b)	0.78	Антагонист
Нальбуфин	1.37	Частичный агонист
Фентанил (7a)	2.56	Агонист

Примечание. Расчет сделан согласно модели, представленной на рис. 3.

няет более тесным контактом ионных групп в случае фентанила благодаря дополнительной метиленовой группе в фенильном заместителе, снимающей ограничения на подвижность катионной группы.

Следует отметить, что теория Духовича не соответствует экспериментальным данным сайт-направленного мутагенеза, согласно которым карбоксильная группа ОР, связанная с атомом азота любого лиганда электростатическим взаимодействием и водородной связью, располагается не на поверхности, а внутри цитоплазматической мембраны, в центральной части ТМ-III. Кроме того, образование водородной связи $\text{NH}\cdots\text{O}$ с участием протонированного атома азота лиганда и карбоксильной группы рецептора невозможно, когда в сторону карбоксильной группы направлен заместитель у атома N, а не протон. Эта теория также не объясняет следующие экспериментально установленные факты:

1) наличие антагонистических свойств у каркасных морфиноподобных соединений, содержащих N-метильный заместитель (например, N-метилбензморфаны с заместителями 6-Alk и 11-Alk (Alk = Me, Et, Prⁿ)).¹⁵⁹

2) исчезновение «якорной» способности типичных N-антагонистических заместителей в молекулах других химических классов, содержащих, аналогично морфиновым структурам, пиперидиновый цикл: например, в аналогах меperидина, продина, кетобимедона, которые являются «чистыми» агонистами даже в том случае, когда содержат N-антагонистические заместители;¹⁶⁰

3) превращение морфиноподобных антагонистов, содержащих типичные N-антагонистические заместители (аллильный, циклопропилметильный, циклобутилметильный,

пропильный), в «чистые» агонисты при замене гидроксильной группы в *мета*-положении ароматического кольца на более объемные (якорные) группы;¹⁶¹

4) различное соотношение агонистических и антагонистических свойств у энантиомеров лигандов ОР с одинаковой ориентацией заместителей у атома N.^{50, 162–175}

Общей чертой теорий Пейтона и Духовича является то, что для объяснения различий в механизме действия агонистов и антагонистов они не привлекают идею о существовании двух конформаций (активной и неактивной) рецептора. Данная идея впервые была высказана Карлином¹⁷⁶ в 1967 г. Согласно его теории, которая получила название аллостерической, рецепторы находятся в двух состояниях: активном и неактивном. Переход между этими состояниями является обратимым: $\text{R} \rightleftharpoons \text{R}^*$, где R и R* — неактивный и активный рецепторы соответственно. Если лиганд взаимодействует преимущественно с неактивной формой рецептора, он является антагонистом, а если с активной формой рецептора — то агонистом.

Идея о существовании активной и неактивной конформаций рецептора и соответственно активных и неактивных лиганд-рецепторных комплексов оказалась очень плодотворной. Ее используют практически все последующие теории формирования биологического отклика.

Попытка объединить теории Стефферсона, Пейтона и Карлина в единое целое была предпринята в конце 70-х — начале 80-х гг. XX в. Ариенсом.^{177–180} Согласно его концепции, при взаимодействии лиганда с рецептором образуется неактивный лиганд-рецепторный комплекс, который затем может обратимо перейти в активное состояние. При этом скорость активации лиганд-рецепторных комплексов антагонистов с рецепторами много меньше скорости ассоциации агонистов с рецепторами. Биологический ответ пропорционален числу образовавшихся активных лиганд-рецепторных комплексов, а не суммарному числу связанных рецепторов. В обобщенном виде кинетику лиганд-рецепторного взаимодействия, согласно этой теории, можно записать следующим образом:



Следует отметить, что схема Ариенса не дает точного представления о процессах связывания лиганда с рецептором (сродстве) и процессах, приводящих к появлению биологического отклика (эффективности). На данный момент экспериментально установлено, что активация рецептора может осуществляться и самопроизвольно (конституционная актив-

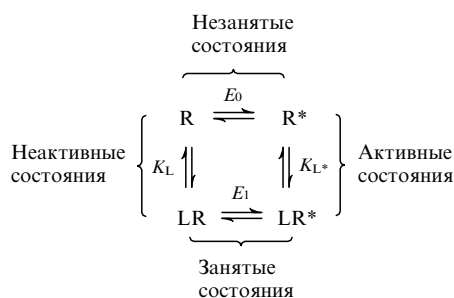


Рис. 4. Двухкомпонентная модель активации рецептора.¹⁸³

ность), и под действием лиганда.^{181–184} Впервые самопроизвольная активация рецепторов семейства GPCR была описана в 1989 г. на примере δ -ОР.¹⁸⁵ В рамках концепции существования самопроизвольной активации рецептора без участия лиганда и активации рецептора, вызванной агонистом, антагонисты подразделяются на два типа:

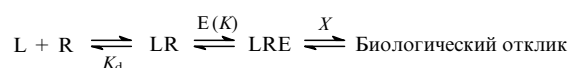
— инверсные агонисты, снимающие действие агониста и блокирующие самопроизвольную активацию рецептора,^{181, 182, 186}

— нейтральные антагонисты, снимающие действие как агониста, так и инверсного агониста.^{181, 182}

В соответствии с этими экспериментальными данными, в литературе предложена двухкомпонентная модель активации рецептора.¹⁸⁷ Схематически ее можно представить следующим образом (рис. 4). Рецептор может находиться в двух конформациях: неактивной (R) и активной (R*). В отсутствие агониста существование этих двух конформаций определяется константой равновесия (E_0), которая является мерой конституционной активности рецептора.¹⁸³ При связывании агониста с неактивной формой рецептора образуется неактивный комплекс лиганд–рецептор, соответствующая константа равновесия определяет сродство агониста к неактивной форме рецептора (K_L). Аналогично константа равновесия K_{L^*} определяет сродство агонистов к активной форме рецептора.

Константа равновесия (E_1), характеризующая переход неактивного комплекса агонист–рецептор (LR) в активный комплекс (LR*), является мерой эффективности агониста. Эффективность — это свойство, которое дает возможность агонисту производить биологический отклик.¹ Величина биологического отклика, возникающего при образовании лиганд-рецепторного комплекса, прямо пропорциональна количеству занятых рецепторов, находящихся в активной конформации (R*).

Варфоломеев и Гуревич,² описывая закономерности формирования анальгетического эффекта при введении опиатов, предположили, что анальгетическая реакция на действие опиатных агонистов (L) в микроокружении рецептора развивается в соответствии со следующей схемой:



По их мнению, биологический ответ на действие соединений прямо пропорционален (с коэффициентом пропорциональности X) концентрации комплекса лиганд–рецептор–эффектор (LRE), где E — эффектор, через который формируется анальгетический эффект. Величина константы K , как правило, значительно меньше величин констант диссоциации лиганд-рецепторных комплексов. Этим, по-видимому, объясняется тот факт, что максимальный биологический ответ проявляется в условиях, когда занята лишь небольшая доля опиатных рецепторов.²

В настоящее время многие исследователи предполагают, что взаимодействие лиганд-рецепторного комплекса с эффектором также происходит опосредованно, в качестве посредника выступает G-белок, расположенный на внутриклеточной стороне цитоплазматической мембраны^{2, 22, 38, 181, 188–194} (рис. 5). G-Белок содержит α -, β - и γ -субъединицы. α -Субъединица связывает гликозилтрансферазу (ГТФ), β - и γ -субъединицы осуществляют «крепление» G-белка к цитоплазматической мембране. α -Субъединица связывается с C-концом и третьей внутренней петлей GPCR, β - и γ -субъединицы — только с C-концом.^{2, 195} Свободный рецептор не связан с G-белком. После связывания агониста

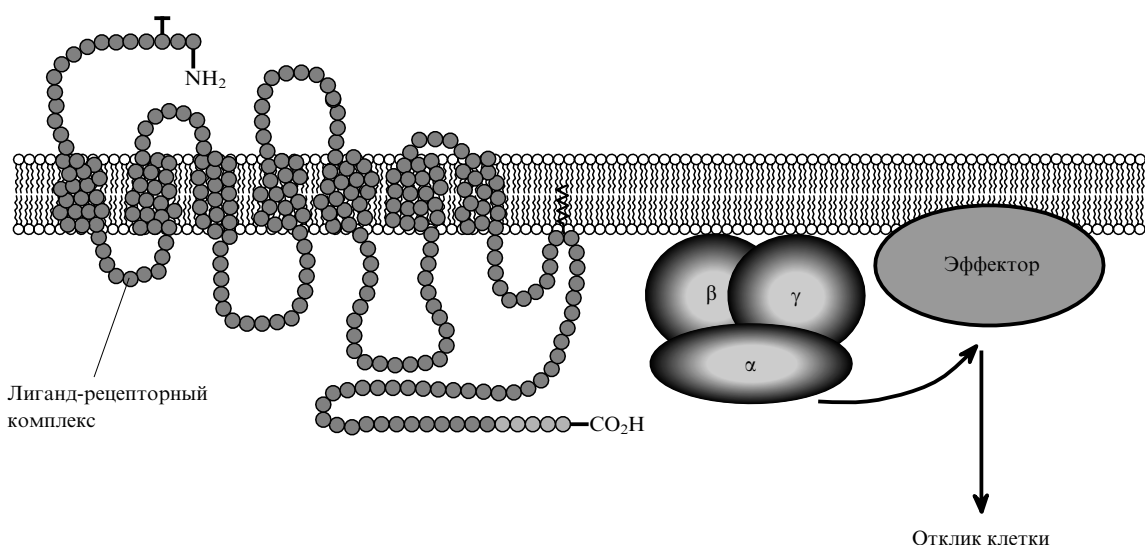


Рис. 5. Схематическое изображение процесса формирования биологического отклика.¹⁸¹
 α , β , γ — субъединицы G-белка.

происходит изменение конформации рецептора, и рецептор может взаимодействовать с G-белком, «лишенным» ГТФ. Присоединение ГТФ к связанному с рецептором G-белку приводит к диссоциации G-белка на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы. Активированная α -субъединица, связанная с ГТФ, стимулирует различные системы вторичных посредников.² В работах^{196, 197} приведены рентгеноструктурные данные о трехмерном строении комплекса G-белка с активированными GPCR, активированной α -субъединицы, связанной с ГТФ, и $\beta\gamma$ -субъединицы. Эта структурная информация имеет принципиальное значение для понимания механизма активации GPCR и возникновения внутриклеточного сигнала.

Экспериментально установлено, что все три типа ОР активируют α -субъединицы G_i - и G_o -белков.^{2, 198–203} Активация G_o -белков приводит к угнетению потенциал-зависимых кальциевых каналов^{198–203} и стимуляции калиевых каналов.^{204, 205} Активация G_i -белков оказывает ингибирующее воздействие на аденилатциклазу.^{2, 203, 206–209}

В литературе представлены трехкомпонентные модели активации рецепторов с участием G-белка.^{188–194, 210, 211} Например, на рис. 6 приведена кубическая трехкомпонентная модель Вейса и сотр.^{192–194} Следует отметить, что существуют трехкомпонентные модели активации рецептора, которые учитывают возможность активированного лиганд-рецепторного комплекса (LR^*) взаимодействовать с разными G-белками, что приводит к возникновению различных путей трансдукции (передачи) сигналов.²¹⁰

В случае взаимодействия антагониста с рецептором не происходит изменения конформации рецептора, и рецептор не может взаимодействовать с G-белком. Поэтому сигнал о лиганд-рецепторном взаимодействии антагонистов с ОР не трансформируется во внутриклеточный сигнал.

Таким образом, современные представления о механизмах внутриклеточного формирования биологического отклика при взаимодействии ОР с лигандами тесно связаны с образованием активного лиганд-рецепторного комплекса. В настоящее время основное направление исследований в этой области сконцентрировано на следующих вопросах:

- 1) как происходит переход неактивной конформации рецептора в активную?
- 2) почему агонист провоцирует изменение конформации ОР, а антагонист — нет?

Механизм активации GPCR изучался с использованием методов сайт-направленного мутагенеза и компьютерного моделирования.^{69, 152, 190, 212–216} Например, точечные мутации адренергических рецепторов наглядно продемонстрировали, что структурные модификации GPCR могут вызывать активацию рецептора независимо от агониста.^{31, 216} Для родопсина, адренергических, мускариновых, меланокортино-

вых рецепторов конституционная активность является результатом мутаций аминокислотных остатков в трансмембранных доменах II, III, VI и VII. На основе этих экспериментальных данных было высказано предположение, что трансмембранные домены участвуют в активации рецепторов семейства GPCR.^{212–215} В работах^{217, 218} методом сайт-направленного мутагенеза было установлено, что конституционная активность всех типов ОР повышается при структурных модификациях аминокислотной последовательности Asp–Arg–Tyr в ТМ-III. В работе²¹⁹ тем же методом было найдено, что за активацию δ -ОР ответственные структурные модификации ТМ-III и ТМ-VII. Бефорт с соавт.³¹ конкретизировала аминокислотные остатки ТМ-III и ТМ-VII, мутации которых вызывают самопроизвольную активацию δ -ОР мышей. Ими оказались Asp¹²⁸, Tyr¹²⁹ (ТМ-III) и Tyr³⁰⁸ (ТМ-VII). Ранее было установлено, что эти аминокислотные остатки входят в зону рецепции и участвуют в распознавании лигандов δ -ОР.^{31, 32}

В более поздних работах отмечается, что для всех GPCR действует один общий механизм активации, в котором задействованы аминокислотные остатки ТМ-III, ТМ-VI, ТМ-VII.^{22, 220, 221} Следует отметить, что эти ТМ расположены в наиболее «закрытой» области трансмембранного домена, недоступной для липидного мембранного окружения.^{27, 28} Рецептор в активном состоянии может затем связываться с G-белком посредством невалентных взаимодействий с участием аминокислотных остатков внутриклеточных петель и C-концевого фрагмента.¹⁸⁸

На основе обобщения результатов исследования рецепторов семейства GPCR (родопсина, опиатных, мускариновых, адренергических рецепторов) было выдвинуто несколько гипотез активации GPCR. Согласно одной из них, неактивная конформация рецептора сохраняется благодаря определенной системе водородных связей между трансмембранными спиралями; модифицирование этих водородных связей является частью процесса активации. Предполагается, что Asp¹²⁸, Tyr¹²⁹ (ТМ-III) и Tyr³⁰⁸ вовлечены в эти внутримолекулярные водородные связи.^{90, 222, 223} Структурные модификации — замена Asp¹²⁸ на аспарагин (D128N) и аланин (D128A), Tyr¹²⁹ и Tyr³⁰⁸ на фенилаланин (Y129F и Y308F) — изменяют или разрушают водородные связи внутри трансмембранного домена, что ведет к увеличению конформационной гибкости рецептора. Следствием конформационной гибкости рецептора является возможность подстройки рецептора под G-белок, т.е. предорганизации, необходимой для связывания G-белка и рецептора.

Данная гипотеза хорошо согласуется с результатами трехмерного моделирования зоны рецепции и лиганд-рецепторных комплексов. Например, в модели зоны рецептирования δ -ОР, разработанной авторами работы¹⁴⁸, трансмембранные спирали ориентированы в пространстве таким образом, что Asp¹²⁸ (ТМ-III) объединена водородной связью с Tyr³⁰⁸ (ТМ-VII), а Tyr¹²⁹ (ТМ-III) — с His²⁷⁸ (ТМ-VI). Такая же система водородных связей между трансмембранными доменами III, VI и VII присутствует в трехмерной модели δ -ОР, предложенной авторами работы¹⁴⁹. Внутримолекулярная водородная связь Asp¹²⁸ (ТМ-III) и Tyr³⁰⁸ (ТМ-VII) присутствует в трехмерной модели δ -ОР Погожевой и соавт.⁵² В предложенных в этой же работе трехмерных моделях μ - и κ -ОР указанной внутримолекулярной связи Asp¹²⁸...Tyr³⁰⁸ в δ -ОР соответствуют связи Asp¹⁴⁷...Tyr³²⁶ и Asp¹³⁸...Tyr³²³ в μ - и κ -ОР соответственно. В моделях комплексов лиганд–ОР Asp¹²⁸, Tyr¹²⁹, Tyr³⁰⁸ (δ -ОР) и их аминокислотные аналоги в μ - и κ -ОР участвуют в водородном

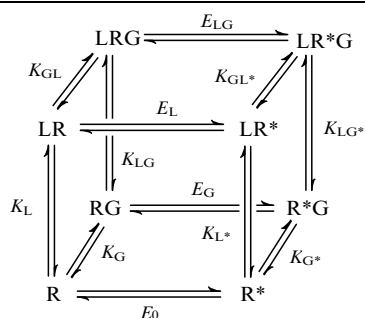


Рис. 6. Трехкомпонентная модель активации рецептора.¹⁹³

связывании различных агонистов, докированных в зону рецепции.⁵² Например, в комплексе морфин – μ -ОР протонированный атом азота морфина взаимодействует с Asp¹⁴⁷ (TM-III), 3-ОН группа тираминового фрагмента — с His²⁹⁷ (TM-VI).

Согласно другой гипотезе,^{86, 223–225} существенный вклад в стабилизацию неактивной конформации μ -, κ - и δ -ОР дает сильное электростатическое взаимодействие, дополняемое водородным связыванием, между боковыми цепями соседних аминокислотных остатков Asp...Arg в TM-III (Asp¹⁴⁵...Arg¹⁴⁶, Asp¹⁶⁴...Arg¹⁶⁵ и Asp¹⁵⁵...Arg¹⁵⁶ для δ -, μ - и κ -ОР соответственно). Разрыв этого солевого мостика повышает конституционную активность всех типов ОР.^{86, 223–225} Эта гипотеза также базируется на результатах сайт-направленного мутагенеза и компьютерного моделирования рецепторов семейства GPCR.^{217, 218, 224, 226–230} В рамках данной гипотезы взаимодействие агониста с ОР приводит к разрыву солевого мостика Asp...Arg в TM-III, а взаимодействие антагониста — нет.

Вывод о значимости солевого мостика Asp...Arg в TM-III для стабилизации неактивной конформации ОР хорошо согласуется с результатами трехмерного моделирования комплексов эторфин (**8**)– δ -ОР и налтрексон (**1b**)– δ -ОР.⁸⁶ При конструировании стартовых конформаций для каждого из комплексов использовались две структуры трансмембранного домена δ -ОР: с сохранением солевого мостика во фрагменте Asp–Arg рецептора (неактивный комплекс) и с его разрывом (активный комплекс). Энергетически стабильные конформации всех четырех комплексов определялись методом молекулярной динамики. Анализ результатов выявил значительные различия в строении активных и неактивных комплексов, соответствующих минимумам потенциальной энергии. Так, в неактивных комплексах эторфин– δ -ОР и налтрексон– δ -ОР сохранилась водородная связь между Asp¹⁴⁵ и Arg¹⁴⁶ в TM-III. Активный комплекс налтрексон– δ -ОР в процессе стабилизации перешел в неактивный (образовалась водородная связь между Asp¹⁴⁵ и Arg¹⁴⁶ в TM-III), в то время как при стабилизации активного комплекса эторфин– δ -ОР связь между этими аминокислотными остатками не возникла, он продолжал оставаться активным.

Следует отметить, что внутримолекулярные электростатические взаимодействия и водородные связи, аналогичные взаимодействиям Asp¹⁴⁵...Arg¹⁴⁶ в TM-III и Asp¹²⁸ (TM-III)...Tyr³⁰⁸ (TM-VII), наблюдаются и в других GPCR. Так, разрыв солевого мостика в структурном фрагменте Asp–Arg TM-III ведет к активации GnRH-рецепторов (GnRH — гонадотропин-выделяющий гормон)⁸⁶ и $\alpha_1\beta$ -адренергических рецепторов.²¹⁸ Для родопсина выявлено водородное связывание между Glu¹¹³ (TM-III) (гомологом Asp¹²⁸ (TM-III)) и Lys²⁹⁶ (TM VII) (гомологом Tyr³⁰⁸ (TM-VII)), которое участвует в фиксации неактивной конформации свободного рецептора.^{231–233} В $\alpha_1\beta$ -адренергических рецепторах аминокислотный гомолог Asp¹²⁸ (TM-III) взаимодействует с гомологом Tyr³⁰⁸ (TM-VII), и разрыв этой связи инициирует активацию $\alpha_1\beta$ -адренергического рецептора.⁸⁰ При этом водородное связывание между аминокислотными остатками, гомологичными Tyr¹²⁹ (TM-III) и His²⁷⁸ (TM-VI), не выявлено для других представителей GPCR, т.е. это взаимодействие, по-видимому, является специфичным для ОР.

Таким образом, в настоящее время в литературе принята точка зрения, согласно которой неактивная конформация рецептора стабилизируется системой сильных внутримолекулярных взаимодействий (электростатических и водородных связей) между трансмембранными спиралями. В случае

δ -ОР ключевая роль в стабилизации неактивной конформации принадлежит водородным связям между карбоксильным анионом Asp¹²⁸ (TM-III) и фенольной гидроксильной группой Tyr³⁰⁸ (TM-VII), между фенольной гидроксильной группой Tyr¹²⁹ (TM-III) и атомом азота имидазольного цикла His²⁷⁸ (TM-VI), а также электростатическому взаимодействию, дополняемому водородным связыванием, между карбоксильным анионом Asp¹⁴⁵ и протонированной аминогруппой гуанидинового фрагмента Arg¹⁴⁶ (TM-III). Аминокислотным остаткам Asp¹²⁸, Tyr¹²⁹, His²⁷⁸ и Tyr³⁰⁸ в δ -ОР соответствуют аминокислотные остатки Asp¹⁴⁷, Tyr¹⁴⁸, His²⁹⁷ и Tyr³²⁶ в μ -ОР и Asp¹³⁸, Tyr¹³⁹, His²⁹¹ и Tyr³²⁰ в κ -ОР.⁵² Мутации этих аминокислотных остатков имитируют действие агонистов ОР. И в том, и в другом случае происходит изменение системы внутримолекулярных взаимодействий между трансмембранными спиралями и, следовательно, конформация ОР превращается из неактивной в активную. Эта точка зрения согласуется с экспериментальными данными, согласно которым аминокислотные остатки рецептора, отвечающие за его активацию, участвуют во взаимодействиях с лигандами.^{15, 32, 57, 73, 74, 76} Так, Asp(III:08) взаимодействует с протонированным атомом азота лиганда, His(VI:17) — с его фенольной группой.

Факт близкого строения агонистов и антагонистов ОР и наличие общих для агонистов и антагонистов взаимодействий с одинаковыми аминокислотными остатками ОР позволяют предположить, что различие в опийной активности агонистов и антагонистов ОР связано не только с химическим сродством компонентов лиганд-рецепторного комплекса, но и с различиями в геометрической комплементарности этих компонентов. В рамках такого предположения Погожева с соавт.^{35, 52, 114} предложила теорию, согласно которой способность лиганда изменять или разрушать систему внутримолекулярных взаимодействий в трансмембранном домене (соответственно, соотношение агонистических и антагонистических свойств) связано с положением лиганда в зоне рецептирования. На основе результатов сайт-направленного мутагенеза и компьютерного трехмерного моделирования зоны рецепции и лиганд-рецепторных комплексов авторы предположили, что молекула лиганда может занимать две различные по отношению к Asp(III:7) позиции в зоне рецептирования. Одна позиция («верхняя») расположена ближе к верхней границе цитоплазматической мембраны и внеклеточным петлям и более удалена от Asp(III:7); вторая («нижняя») смещена вглубь мембраны по сравнению с «верхней» и находится вблизи от Asp(III:7). «Верхняя» и «нижняя» позиции разнесены относительно друг друга приблизительно на 2 Å. Молекулы лигандов встраиваются в эти позиции подобно тому, как детали пазлов встраиваются друг в друга, поэтому возможность молекулы занять ту или иную позицию определяется ее формой. «Нижняя» позиция сложнее для встраивания из-за наличия довольно узкого гидрофобного участка, так называемой гидрофобной «щели». Экваториально ориентированные относительно пиперидинового цикла морфинового ядра N-заместители определенной длины (аллилный, пропильный, циклометилпропильный и циклобутилметильный) могут расположиться без стерических затруднений в этой «щели» между боковыми цепями Met(III:11), Trp(VI:16), Ile(VII:7), Gly(VII:10), Tyr(VII:1). Более объемные заместители при атоме N (например, фенетильный) или находящиеся в других положениях пиперидинового цикла не позволяют молекуле лиганда встроиться в «нижнюю» позицию.

Если молекула занимает «верхнюю» позицию (более удалена от Asp(III:7)), для реализации электростатического взаимодействия и водородного связывания между группами NH^+ лиганда и COO^- Asp(III:7) необходим разворот боковой цепи Asp(III:7). Изменение конформации Asp(III:7) инициирует разрыв водородной связи Asp(III:7)–Tyr(VII:11), следствием которого является смещение ТМ-III от своего исходного положения. Смещение трансмембранной спирали влечет за собой разрыв водородной связи Tyr(III:8)–His(VI:20) и солевого мостика Asp–Arg (ТМ-III). Таким образом, разворот боковой цепи Asp(III:7), произошедший из-за невозможности молекулы лиганда приблизиться к этому аминокислотному остатку, запускает процесс перехода ОР из неактивной конформации в активную, а лиганд, занявший «верхнюю» позицию в зоне рецепции, проявляет свойства агониста.

Если лиганд занимает «нижнюю» позицию в зоне рецепции, более приближенную к центральной области трансмембранного домена и к Asp(III:7), эффективное взаимодействие протонированного атома азота лиганда и карбоксильной группы Asp(III:7) ОР происходит без разворота боковой цепи аспартатного фрагмента. Неактивная конформация ОР при этом сохраняется, лиганд проявляет свойства антагониста. Следует отметить, что, занимая «нижнюю» позицию зоны рецепции, лиганд создает стерические трудности для разворота боковой цепи аспартатного фрагмента, т.е. он не только не изменяет неактивную конформацию рецептора, но и фиксирует ее.

Теория Погожевой хорошо согласуется с результатами проведенных нами структурных исследований.²³⁴ На примере соединений бензоморфанового ряда с типичными N-антагонистическими заместителями было установлено, что выход атомов заместителя из плоскости ароматического цикла больше чем на 2 Å ведет к исчезновению антагонистических свойств лигандов ОР.

Теория зависимости опийной активности лиганда от его позиции в зоне рецепции представляется очень перспективной, так как она позволяет объяснить следующие экспериментальные факты:

- 1) существенное превышение числа агонистов над числом антагонистов (труднодоступность «нижней» позиции зоны рецепции);
- 2) превращение «чистых» антагонистов с типичными N-антагонистическими заместителями в «чистые» агонисты при введении объемных заместителей в молекулу;
- 3) различный эффект от введения типичных N-антагонистических заместителей в пиперидиновый цикл молекул разных химических классов;
- 4) различие в опийной активности у энантиомеров и диастереомеров лигандов ОР.

Предположение, что позиция лиганда в зоне рецепции определяется только формой его молекулы, не может объяснить агонистических свойств морфина и других каркасных соединений с N-метильным заместителем. Развивая теорию Погожевой, мы предположили, что форма молекулы не является единственным фактором, фиксирующим ее в «верхней» позиции. Существуют некие межмолекулярные взаимодействия, не позволяющие молекуле проникнуть вглубь мембраны и превращающие ее в «чистый» агонист.^{235–237} С этой точки зрения все взаимодействия лиганд–рецептор можно разделить на три типа:

- 1) агонистические взаимодействия, которые реализуются в «верхней» (агонистической) позиции зоны рецепции ОР,

фиксируют молекулу лиганда в этом положении и превращают ее в «чистый» агонист;

- 2) антагонистические взаимодействия, которые реализуются только в «нижней» (антагонистической) позиции зоны рецепции ОР, фиксируют молекулу лиганда в этом положении и превращают ее в «чистый» антагонист;

- 3) аффинные взаимодействия, которые реализуются независимо от того, какую позицию занимает молекула лиганда в зоне рецепции ОР; примером может служить взаимодействие протонированного атома азота с карбоксильной группой Asp(III:7).

Предложенная классификация хорошо согласуется с результатами компьютерного трехмерного моделирования лиганд-рецепторных комплексов: среди лиганд-рецепторных взаимодействий есть общие для агонистов и антагонистов, есть присущие только агонистам или только антагонистам.^{52, 86}

Таким образом, на основании современных литературных данных можно сделать основной вывод: возникновение биологического отклика клетки на взаимодействие лиганда с рецептором связано с образованием активного лиганд-рецепторного комплекса не непосредственно, а опосредованно, через образование системы агонист–рецептор–G-белок. Переход из неактивной конформации рецептора в активную (активация), обеспечивающий подстройку рецептора под G-белок, связан с разрушением системы сильных внутримолекулярных взаимодействий (электростатических, водородных связей), фиксировавших неактивную конформацию. Активацию рецептора инициирует разворот боковой цепи Asp(III:7). Конформационные изменения Asp(III:7), вызываемые лигандом, определяются позицией лиганда в зоне рецепции, которая зависит как от химического сродства лиганда, так и от особенностей его пространственного строения. Этот вывод демонстрирует важность изучения трехмерного строения лиганда и установления структурных элементов лиганда, определяющих его положение в зоне рецепции.

IV. Понятие фармакофора. Модели опийного фармакофора

Многочисленные исследователи лиганд-рецепторного взаимодействия делят процесс рецепции на ряд стадий: узнавание, предорганизацию, связывание лиганда и трансформацию сигнала о взаимодействии рецептора с лигандом в биологический отклик клетки. Трактовка термина «фармакофор», предлагаемая в разное время, различалась как по функциональному признаку (функциям фармакофора на различных стадиях процесса рецепции), так и по уровню конкретизации признаков или характеристик фармакофора (электронных, пространственных и т.д.), необходимых для участия в процессе рецепции.

Впервые термин «фармакофор» был введен Эрлихом²³⁸ в 1909 г.: фармакофор — это молекулярный остов, который несет («фор») существенные признаки, ответственные за биологическую активность лекарства («фармако»). В 60–70 гг. XX в. по мере изучения процессов рецепции и зависимости величины биологического эффекта лиганда от его структуры пришло понимание того факта, что лиганд-рецепторное взаимодействие — процесс многостадийный, и во взаимодействии с рецептором принимает участие не весь молекулярный остов, а только отдельные структурные фрагменты молекулы (функциональные группы и атомы). Остов лишь обеспечивает необходимое пространственное располо-

жение этих структурных компонентов. В связи с этим Гунд²³⁹ в 1977 г. модифицировал определение Эрлиха: фармакофор — это набор структурных признаков в молекуле, которые распознаются биологическими рецепторами и являются ответственными за биологическую активность молекулы. В данном определении речь идет уже о двух функциях структурных признаков: функции распознавания и функции возникновения биологического отклика (изменения биологической активности клетки).

К настоящему времени известно значительное число работ, посвященных изучению структурных фрагментов (атомов или функциональных групп) лигандов ОР, которые могут участвовать в лиганд-рецепторном взаимодействии. Эти структурные фрагменты получили название фармакофорных компонентов или фармакофорных элементов.^{35, 150, 240} Установлено, что молекулы лигандов ОР различных химических классов содержат разнообразные фармакофорные элементы. Среди них выделяют ключевые, присутствующие практически во всех лигандах ОР независимо от химического класса и селективности действия, — это протонированный атом азота и ароматический цикл.^{15, 31, 49–52, 163, 241–244}

Исследованию природы взаимодействия ключевых фармакофорных элементов лигандов ОР посвящен целый ряд работ,^{15, 31, 73, 243, 244} согласно которым протонированный атом азота обуславливает электростатическое взаимодействие с карбоксильной группой участка ОР, дополняемое водородным связыванием. Ароматический цикл участвует в π - π -взаимодействии с определенным комплементарным участком ОР.^{32, 245}

Дополнительным сайтом связывания лигандов ОР принято считать гидроксильную группу в *мета*-положении ароматического цикла. Экспериментально установлено, что для каркасных лигандов, производных меперидина, 4-алкил-4-арилпиперидинов, 5-арилморфанов, введение гидроксильной группы в *мета*-положение ароматического цикла приводит к увеличению опиатной активности.^{159, 160} Принято считать, что такой заместитель образует водородную связь с ОР в качестве донора протонов.^{159, 160, 246}

Типичные модели опиатного фармакофора (ОФ), соответствующие трактовке фармакофора Гунда, представляют собой совокупность определенных фармакофорных элементов. Например, Беккет и Кейси³ предложили использовать для приблизительной оценки лиганд-рецепторного взаимодействия трехточечную модель ОР (анионный, фенольный сайты связывания и гидрофобная область), полагая, что анионный и фенольный сайты ОР взаимодействуют с тираминовым фрагментом морфиноподобных опиатных лигандов, а гидрофобная область — с кольцами С и Е углеродного остова (см. структуру в Приложении) (рис. 7). Позднее эти же авторы предположили, что опиатный фармакофор может быть описан с помощью 4-фенилпиперидина в конформации «кресло» с аксиальной ориентацией фенильного кольца.¹⁶³ В дальнейшем Крылов²⁴⁷ предложил в качестве анальгетического фармакофора тираминовый фрагмент, который присутствует в структурах многих наркотических анальгетиков. Во многих работах, посвященных опиоидным пептидам, которые проявляют δ -антагонизм, в качестве фармакофора называют фрагмент Dmt-Tic (2',6'-диметил-L-тирозил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-3-карбоновая кислота, **9**).^{248–257} Авторы работы²⁵⁸ предложили в качестве антагонистического фармакофора 2-амино-7-гидрокси-1,1-диметилтетралиновый фрагмент.

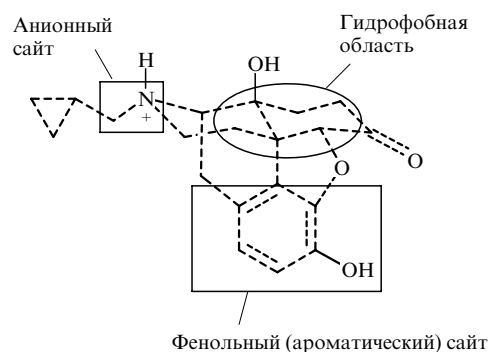


Рис. 7. Трехточечная модель опиатного рецептора.³

Многочисленными исследователями лиганд-рецепторного взаимодействия отмечается функциональная неравноценность различных фармакофорных элементов, их участие в различных стадиях процесса рецепции (распознавании, предорганизации, связывании и возникновении биологического отклика). В связи с этим Швайзером²⁵⁹ была разработана концепция адресного сообщения, согласно которой все фармакофорные элементы принято делить на «адрес» (address) и «послание» (message). Послание — это фармакофорный элемент, который служит для связывания лиганда с биомшенью, а адрес — фармакофорный элемент, который отвечает за селективность или возникновение биологического действия. Портогезе²⁶⁰ отмечал, что компонент-послание является молекулярным структурным признаком, общим для серии лигандов, которые распознаются всеми типами рецепторов, в то время как адресный компонент распознается сайтом связывания, присущим только одному из типов рецепторов. Так, в молекуле 7-(спироиндано)оксиморфона (**10**) — δ -селективного антагониста — Портогезе²⁶⁰ выделяет в качестве послания оксиморфоновый фрагмент, а в качестве адреса — бензольное кольцо спироинданового фрагмента, которое и обеспечивает селективное антагонистическое действие. В индолморфинановых κ -селективных антагонистах адресным фрагментом, ответственным за κ -селективный антагонизм, является второй положительно заряженный атом азота.^{62, 261} В опиоидных пептидах посланием и адресом являются аминокислотные остатки Tyr¹ и Phe⁴ соответственно.^{262–264}

Во многих работах в качестве фрагмента-послания δ -лигандов с морфиноподобной структурой выделяют тираминовый фрагмент, а роль адресного фрагмента выполняет ароматический цикл, который соответствует остатку Phe⁴ энкефалинов.^{241, 265, 266} Ряд авторов выделяют конкретные функциональные группы тираминового фрагмента, отвечающие за аффинность антагонистов ОР: заместитель при атоме N и фенольную гидроксильную группу.^{266–269} Эти же структурные фрагменты Филизола с соавт.⁸⁷ называют в качестве фармакофорных элементов-посланий, присущих всем лигандам ОР.

В δ -селективных пептидах, которые содержат фрагмент Dmt-Tic, фармакофорным элементом-посланием, обеспечивающим сродство, является Dmt, а адресным фармакофорным элементом, обеспечивающим селективный антагонизм, — фрагмент Tic.²⁵⁴

В соответствии с адресной концепцией Швайзера, Мецгер с соавт.⁴⁶ выдвинул гипотезу, согласно которой в зоне рецепции ОР также можно выделить область-послание, взаимодействующую с фармакофорными элементами-посланиями,

и «адресную» область, связывающуюся с адресными фармакофорными элементами лиганда. В рамках данной гипотезы, адресная область зоны рецепции ОР содержит сайты, различные для κ -, μ - и δ -ОР. Селективность лигандов по отношению к определенному типу ОР является следствием взаимодействия между адресными фармакофорными элементами лиганда и адресными областями зоны рецепции всех трех типов и обуславливается комбинацией двух факторов:

1) адресные по отношению к определенному типу ОР (например, κ) фармакофорные элементы лиганда взаимодействуют с комплементарными κ -сайтами связывания адресной области зоны рецепции; в результате повышается сродство лиганда именно к этому типу ОР;

2) в то же время адресные κ -фармакофорные элементы из-за стерических препятствий мешают взаимодействию других фармакофорных элементов лиганда с μ - и δ -адресными областями зоны рецепции, понижая тем самым сродство лиганда к μ - и δ -ОР.

В рамках данной гипотезы δ -селективность NTI (**2a**) является результатом повышения сродства к δ -ОР и понижения сродства к μ - и κ -ОР.

Несколько иное объяснение селективного действия лигандов предложил Блейк с соавт. в работе⁵¹. Анализируя сайты связывания клонированных κ -, μ - и δ -ОР с селективными агонистами и антагонистами, он пришел к выводу, что адресные области зоны рецепции расположены очень близко друг к другу и частично перекрываются в пространстве. Связывание с одним адресным сайтом ОР инициирует конформационные изменения ОР, которые препятствуют связыванию лиганда с другим адресным сайтом ОР.

Известны работы, посвященные определению адресных областей зоны рецепции. Например, авторы исследований^{34, 46, 62, 63} в качестве адресного сайта κ -ОР указывают аминокислотный остаток Glu²⁹⁷ (TM-VI).

По мере накопления экспериментальных данных о фармакофорных элементах ОФ стало очевидно, что для эффективного взаимодействия с ОР фармакофорные элементы должны быть определенным образом расположены в пространстве. Доказательством предположения о важной роли геометрической комплементарности фармакофорных элементов является экспериментально установленное различие в селективности, а также агонистических и антагонистических свойствах энантиомеров и диастереомеров лигандов ОР.^{50, 162–175}

Понимание важности пространственного строения лиганда и структурного соответствия взаимодействующих молекул ОР и лиганда привело к уточнению определения фармакофора. В 1986 г. Диксон²⁷⁰ предложил следующее определение фармакофора: специфическое трехмерное расположение конкретных химических групп, общих для биоактивных молекул, которые распознаются определенной биомшенью, являются фармакофором данной биомшени. Следует отметить, что речь в данном определении идет исключительно о функции узнавания, а не о функции формирования биологического отклика, так как в тот период в литературе все еще господствовало представление о том, что биологический ответ пропорционален числу образовавшихся лиганд-рецепторных комплексов. Поскольку функция узнавания рецептора одинакова для агонистов и антагонистов, фармакофор в трактовке Диксона также одинаков для агонистов и антагонистов.

Неким гибридом определений Гунда и Диксона представляется определение фармакофора, предложенное в 2004 г. Духовичем:⁴² набор общих структурных признаков,

позволяющих узнавать данный рецептор, составляет фармакофор. В данной трактовке фармакофор не является трехмерной сущностью (сходство с трактовкой Гунда), выполняет функцию узнавания рецептора, поэтому одинаков для агонистов и антагонистов (сходство с трактовкой Диксона).

Для характеристики трехмерного опийного фармакофора используют трехмерные модели. Традиционный метод построения трехмерной модели фармакофора основан на определении структурного подобия лигандов²⁷¹ и включает в себя несколько этапов.

1. Выбор молекул для анализа (реперных молекул). Главное условие, предъявляемое к реперным молекулам: они должны взаимодействовать с ОР аналогичным образом. Чем больше молекул пространственных изомеров включено в реперный ряд, тем более точной будет трехмерная модель.

2. Выбор атомов или функциональных групп, которые могут участвовать в лиганд-рецепторном взаимодействии — потенциальных фармакофорных элементов.

3. Выбор биологически активных конформаций реперных молекул, т.е. конформаций, в которых фармакофорные элементы максимальным образом взаимодействуют с биомшенью.

4. Суперпозиция индивидуальных молекул в активных конформациях с участием фармакофорных элементов.

5. Определение общих закономерностей в пространственном расположении потенциальных фармакофорных элементов в биологически активных конформациях и геометрической общности между фармакофорными элементами различных лигандов.

Выбор активных конформаций, как правило, осуществляется по принципу структурного подобия. В качестве шаблона используют реальные конформации конформационно жестких лигандов, для которых взаимное расположение протонированного атома азота и ароматического цикла жестко зафиксировано (чаще всего используют морфин (**6b**) и его аналоги). Для конформационно гибких молекул стартовые модели, построенные с использованием структурных шаблонов, оптимизируются при помощи итерационной процедуры поиска локальных минимумов на поверхности потенциальной энергии. При этом используется приближение конформационно-дискретного фармакофора (CSP),²⁷² которое заключается в рассмотрении всех возможных конформаций молекул, а не только конформации, соответствующей глобальному энергетическому минимуму. В качестве критерия дискретности конформационного поля используют, как правило, величину двугранного угла в 30°. В молекулах с большим числом степеней свободы количество возможных конформеров резко возрастает, поэтому при генерировании всех возможных конформаций накладываются ограничения — энергетические фильтры (выбранные значения разности энергий рассматриваемых конформаций и глобального минимума энергии). Например, в работе²⁴⁰ использовали энергетический фильтр в 3 ккал·моль⁻¹, т.е. рассматривали не все энергетически стабильные конформации, а только те, которые отличаются по энергии от наиболее стабильной на 3 ккал·моль⁻¹.

Традиционно определение геометрической общности сводится к установлению общего набора расстояний, углов и двугранных углов, которые однозначно характеризовали бы общее трехмерное пространственное расположение фармакофорных элементов в молекулах различных лигандов.

Таким образом, традиционная трехмерная модель фармакофора представляет собой набор геометрических параметров, отражающих общность в пространственном

расположении одинаковых фармакофорных элементов. Как правило, это геометрическая общность для трех (реже — четырех) одинаковых фармакофорных элементов; следовательно, модель фармакофора, общего для биологически активных молекул, которые распознаются определенной биомишенью, является трехточечной^{273, 274} или четырехточечной.²⁷¹

В настоящее время процедура моделирования трехмерного фармакофора биомишени, как правило, автоматизирована. При конструировании 3D-фармакофорных моделей используют различные компьютерные программы (например, Chem-X,²⁷⁵ Tripos Sybyl,²⁷⁶ CATALYST,^{277, 278} PHASE,²⁷⁹ MOE,²⁸⁰ GALAHAD,^{281, 282} LIGANDSCOUT²⁸³) и базы данных трехмерных структур лигандов различных биомишеней (CONCORD,²⁸⁴ CAMBRIDGE,²⁸⁵ PDB²⁸⁶ и т.д.). Стратегия конструирования 3D-фармакофорной модели, основанная на методе полного перебора баз данных трехмерных структур лигандов (3D database search), считается наиболее перспективной.^{287–290} Теоретические основы моделирования 3D-фармакофора описаны в работах^{278, 291–294}.

Согласно экспериментальным данным (спектроскопия ЯМР, РСА), закономерности в пространственном расположении одинаковых фармакофорных элементов лигандов ОР присутствуют только в рамках отдельных химических классов, поскольку взаимная ориентация протонированного атома азота и ароматического цикла неодинакова в конформационно жестких лигандах различных классов. Например, в производных 4,5-эпоксиморфинанов, морфинанов, морфинан-6-онов, бензоморфанов, дигидроморфона, орипавина, бупренорфина, пирроломорфинанов ароматический цикл находится в аксиальном положении относительно пиперидинового цикла, а в молекулах 5-арилморфанов — в экваториальном.^{49, 50, 241, 295} В связи с этим вопрос о взаимной ориентации ароматического цикла и протонированного атома азота в фармакофоре долгое время оставался дискуссионным. Так, Беккет и Кейси¹⁶³ придерживались мнения, что в анальгетическом фармакофоре, содержащем 4-фенилпиперидиновый фрагмент, фенильный цикл должен быть аксиально ориентирован относительно пиперидинового цикла. Фрис с соавт.²⁹⁶ предположил, что ОР дает возможность наркотическому анальгетику взаимодействовать посредством ароматического цикла, находящегося в любой (аксиальной или экваториальной) ориентации. Эндриус и Ллойд²⁹⁷ отмечали, что предположение об экваториальной ориентации фенильного цикла в 4-фенилпиперидиновом фармакофоре нелогично с позиции общего пространственного строения. Эти авторы предложили использовать морфин в качестве конформационного стандарта при изучении общего анальгетического фармакофора. По их мнению, конформация лиганда, подобная морфину, будет вызывать максимальную анальгетическую активность. Лоусон с соавт.²⁹⁸ высказал мнение, что ориентация фенильного цикла определяет соотношение агонистических и антагонистических свойств лиганда и предложил в качестве антагонистической трехмерной модели ОФ 4-фенилпиперидиновый фрагмент с экваториально ориентированным фенильным циклом. С этим предположением созвучна гипотеза Кейси с соавт.,^{299, 300} согласно которой антагонистические свойства соединений класса *транс*-3,4-диметил-4-(3-гидроксифенил)-пиперидина обусловлены наличием пиперидинового цикла с экваториально ориентированным фенильным циклом.

Принципиально новую концепцию сформулировал Портогезе:^{49, 50, 241} фенильные циклы в экваториальной и аксиальной ориентации относительно пиперидинового

цикла взаимодействуют с различными сайтами связывания рецептора, т.е. по сути являются различными фармакофорными элементами. Изучая одинаковые модификации N-заместителей в сериях лигандов с аксиальной и экваториальной ориентацией фенильного цикла относительно пиперидинового цикла, Портогезе^{49, 50, 241, 296} пришел к выводу, что идентичные структурные фрагменты в молекулах лигандов различных химических классов вносят разный вклад в опийную активность. Более поздние исследования подтвердили справедливость такого вывода. Очень информативен в этом плане обзор³⁰¹, в котором обобщены результаты экспериментальных и теоретических исследований сайтов связывания ОР со структурными фрагментами селективных и неселективных лигандов различных химических классов (морфиноподобных каркасных соединений, диарилпиперазинов, арилацетамидов, 4-анилидопиперидинов).

Кэрролл,³⁰² развивая идеи Портогезе, предположил, что лиганды ОР класса 4-фенилпиперидина взаимодействуют с репептором двумя различными способами, которые он условно обозначил как «фенил-аксиальный» и «фенил-экваториальный». Фенил-аксиальный способ (агонистический) реализуется в каркасных морфиноподобных структурах и ассоциируется с агонистической активностью и антагонистической активностью, обусловленной N-заместителем. Фенил-экваториальный способ (антагонистический) реализуется в *транс*-3,4-диметил-4-(3-гидроксифенил)пиперидинах и ассоциируется с антагонистической активностью, не связанной с N-заместителем. На рис. 8 представлено схематическое изображение областей ОР, взаимодействующих с различными структурными фрагментами лигандов класса 4-фенилпиперидина при их агонистическом и антагонистическом способах взаимодействия с ОР. Фенильный цикл в обоих случаях взаимодействует с одной и той же областью рецептора (областью Т). Аммониевый протон занимает различное положение в пространстве относительно фенильного цикла при фенил-аксиальном и фенил-экваториальном способах взаимодействия, однако при этом взаимодействует с одной и той же анионной областью ОР (область А). Заместители при атоме азота пиперидинового цикла взаимодействуют с различными областями ОР: с N1 при фенил-

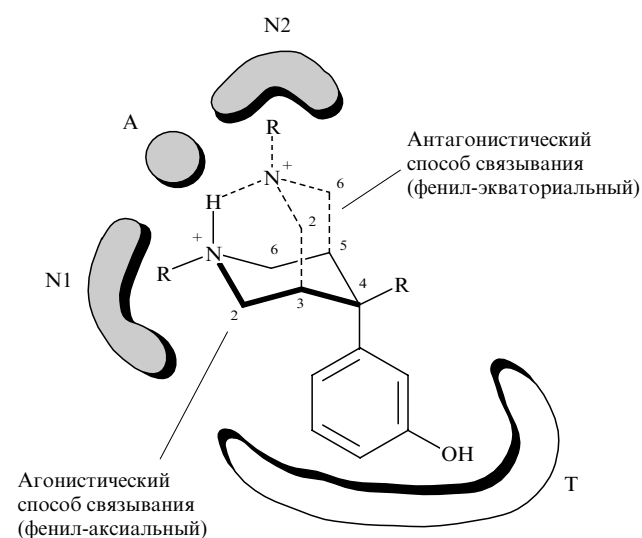


Рис. 8. Схема агонистического и антагонистического способов взаимодействия лигандов класса 4-фенилпиперидина с ОР (пояснения см. в тексте).³⁰²

аксиальном способе и с N2 — при фенил-экваториальном способе взаимодействия с ОР. Следует отметить, что данная гипотеза хорошо согласуется с теорией Погожевой об агонистической и антагонистической позициях лигандов в зоне рецепции. Согласно Кэрроллу, аммониевый протон занимает различные позиции при агонистическом и антагонистическом способах связывания лиганда с одним и тем же анионным участком рецептора, и различие в этих позициях невелико.

В связи с различной пространственной ориентацией ключевых фармакофорных элементов в лигандах различных химических классов трехмерные фармакофорные модели разрабатывались для структур, в которых фенильный цикл и протонированный атом азота одинаковым образом ориентированы относительно друг друга (как правило, с аксиальной ориентацией ароматического кольца относительно пиперидинового цикла). Примерами таких моделей являются модели, разработанные Лоев,³⁰³ Купом,³⁰⁴ Филизолой с соотр.²⁴⁰

Лоев с соавт.³⁰³ разработала трехмерную модель ОФ, общую для пептидных и непептидных лигандов (рис. 9,а). Обучающая выборка включала в себя конформационно жесткие морфиноподобные опиоиды, конформационно гибкие аналоги фентанила, циклические энкефалиноподобные пептиды и линейные пептидные антагонисты. Конформация морфина была принята в качестве шаблона активной конформации. Модель Лоев содержит три фармакофорных элемента, необходимых для узнавания рецептора: протонированный атом азота, фенильный цикл (А) и абстрактную гидрофобную область (В). В качестве геометрических характеристик трехмерной модели Лоев использовала расстояния между фармакофорными элементами (см. рис. 9,а).

Куп с соотр.³⁰⁴ предложил трехмерную модель фармакофора узнавания δ -ОР (рис. 9,б). В качестве обучающей выборки были использованы производные налтрексона (1б), содержащие заместитель $\text{Ag}-\text{CH}=\text{}$ в положении 7 (Ag — 1-нафтил, 2-нафтил, 9-антринил, фенил, бифенил-4-ил). Аналогично модели Лоев, модель Купа содержит три фармакофорных элемента: протонированный атом азота (N), фенильный цикл (А), область с избытком электронной плотности (В). По мнению авторов, угловой дескриптор коррелирует с δ -селективностью (для высокой избирательности к δ -ОР необходим угол $\text{NAB} > 90^\circ$), а дистанционные дескрипторы — со сродством к ОР. Используя в качестве соединений контрольной выборки оксиморфиндол (11) и SNC80 (12), авторы отметили основное ограничение предложенной модели: она справедлива только для близких структурных классов лигандов, содержащих каркасное ядро. В молекуле SNC80 расстояния $\text{N}-\text{A}$ и угол NAB существенно отличаются от фармакофорных.

Модель Филизолы²⁴⁰ (рис. 9,с) была разработана для неселективного распознавания μ -, κ - и δ -ОР. В качестве обучающей выборки были использованы 23 неселективных лиганда с высоким сродством ко всем типам ОР (4,5-эпоксиморфинаны, бензоморфины, дигидроморфины, аминотетралины, морфинаны, этеноморфинаны, орипавины, дигидроморфиндолы и производные фентанила) и 6 неактивных соединений. В активных конформациях всех соединений обучающей выборки ароматический цикл имел аксиальную ориентацию. Данная трехмерная модель содержит четыре фармакофорных элемента: протонированный атом азота (А), две гидрофобные области (В, С) и ароматический цикл (D).

Следует отметить, что в трехмерных моделях Лоев, Купа и Филизолы наряду с фармакофорными элементами — конкретными атомами и функциональными группами — ис-

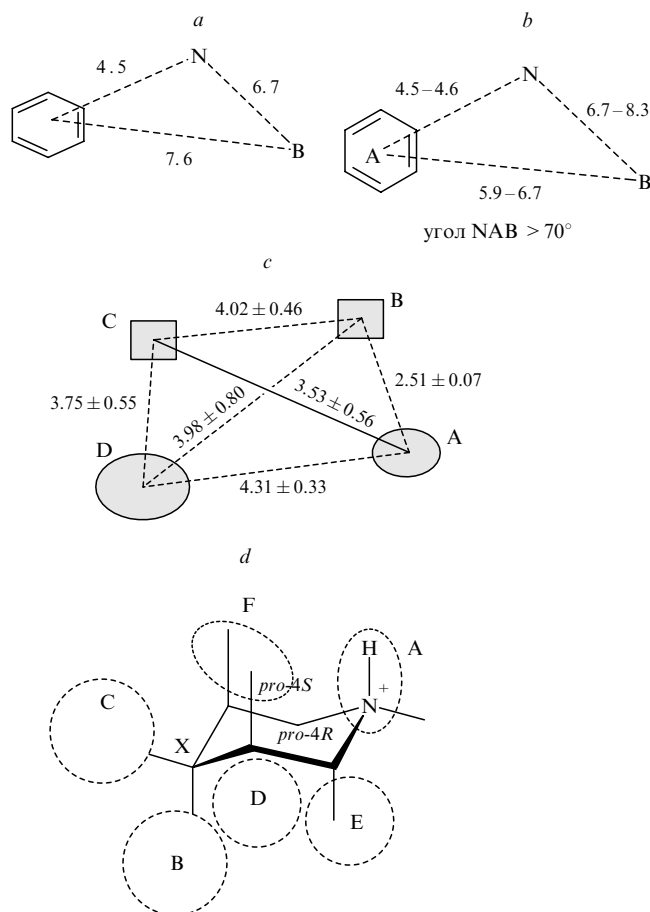


Рис. 9. Трехмерные модели опиатного фармакофора: модели Лоев (а),³⁰³ Купа (б),³⁰⁴ Филизолы (с),²⁴⁰ авторов обзора (д)^{235–237} (описание см. в тексте). Указаны расстояния в Å.

пользуются абстрактные области с определенными электронными свойствами (гидрофобные области, область с избытком электронной плотности). Необходимость введения абстрактных фармакофорных элементов с общими электронными свойствами обусловлена широким разнообразием лигандов ОР, которые содержат различные, подчас очень несхожие структурные фрагменты. К концу 90-х гг. XX в. были открыты новые классы лигандов ОР, сильно отличающиеся по своему строению от традиционных опиатов и опиоидов. Были обнаружены лиганды ОР, молекулы которых не содержат ни одного из ключевых фармакофорных элементов (например, природный дитерпеноид сальвинорин А (13) — мощный селективный агонист κ -ОР).³⁰⁵

Расширение круга известных лигандов рецепторов, а также понимание того, что возникновение биологического отклика клетки связано с образованием лиганд-рецепторного комплекса лишь опосредованно, привели к очередному уточнению определения термина «фармакофор». В рекомендованном ИЮПАК глоссарии терминов, используемых в фармацевтической химии (1997 г.), дано следующее определение фармакофора: фармакофор — совокупность пространственных и электронных особенностей, которые необходимы для обеспечения оптимальных взаимодействий со структурой специфической биологической мишени и приводящих в действие ее биологический отклик.¹ В глоссарии отмечено, что фармакофор не представляет собой реальную молекулу

или реальную совокупность функциональных групп, но является абстрактной концепцией, рассматривающей общие молекулярные способности групп соединений по отношению к структуре мишени. В определении ИЮПАК, аналогично определению Гунда, фармакофор выполняет две функции: связывания с рецептором и возникновения биологического отклика. Агонисты и антагонисты различаются своей способностью вызывать биологический отклик, поэтому из трактовки ИЮПАК термина «фармакофор» следует, что он не может быть одинаковым для агонистов и антагонистов. В наборе фармакофорных элементов можно выделить две группы: общих для агонистов и антагонистов (выполняют только функцию связывания с рецептором) и различных для агонистов и антагонистов (выполняют две функции: связывания и формирования биологического отклика). Например, Погожева,³⁵ анализируя результаты гибкого докинга пептидных и непептидных агонистов и антагонистов в трехмерные модели ОР различных типов, выделила общие и различные фармакофорные элементы для агонистов и антагонистов. Общими фармакофорными элементами, входящими как в агонистический, так и в антагонистический ОФ, являются протонированный атом азота, ароматический цикл тираминового фрагмента (A) и гидрофобная область (C) (рис. 10).

Агонистический фармакофор содержит дополнительный фармакофорный элемент (F), электронные свойства которого коррелируют с селективностью. У агонистов μ -ОР F — второй ароматический цикл, у агонистов κ -ОР F — полярная область. Антагонистический фармакофор наряду с общими фармакофорными элементами содержит дополнительную гидрофобную область (D) вблизи протонированного атома азота.

Практически все трехмерные модели ОФ, предложенные в последнее десятилетие, содержат в качестве фармакофорных элементов абстрактные области с определенными электронными свойствами. При этом авторы моделей подразумевают, что эти области расположены в трехмерном пространстве определенным образом, т.е. их пространственное расположение является такой же неотъемлемой характеристикой фармакофорного элемента, как и его электронные свойства. В литературе даже был предложен термин «3D-фармакофорный элемент».²⁴⁰ Для характеристики пространственных особенностей, которые необходимы для обеспечения оптимальных взаимодействий с рецептором, мы предложили использовать такое понятие, как фармакофорная область. Фармакофорная область — это область пространства, в которой максимальным образом реализуются

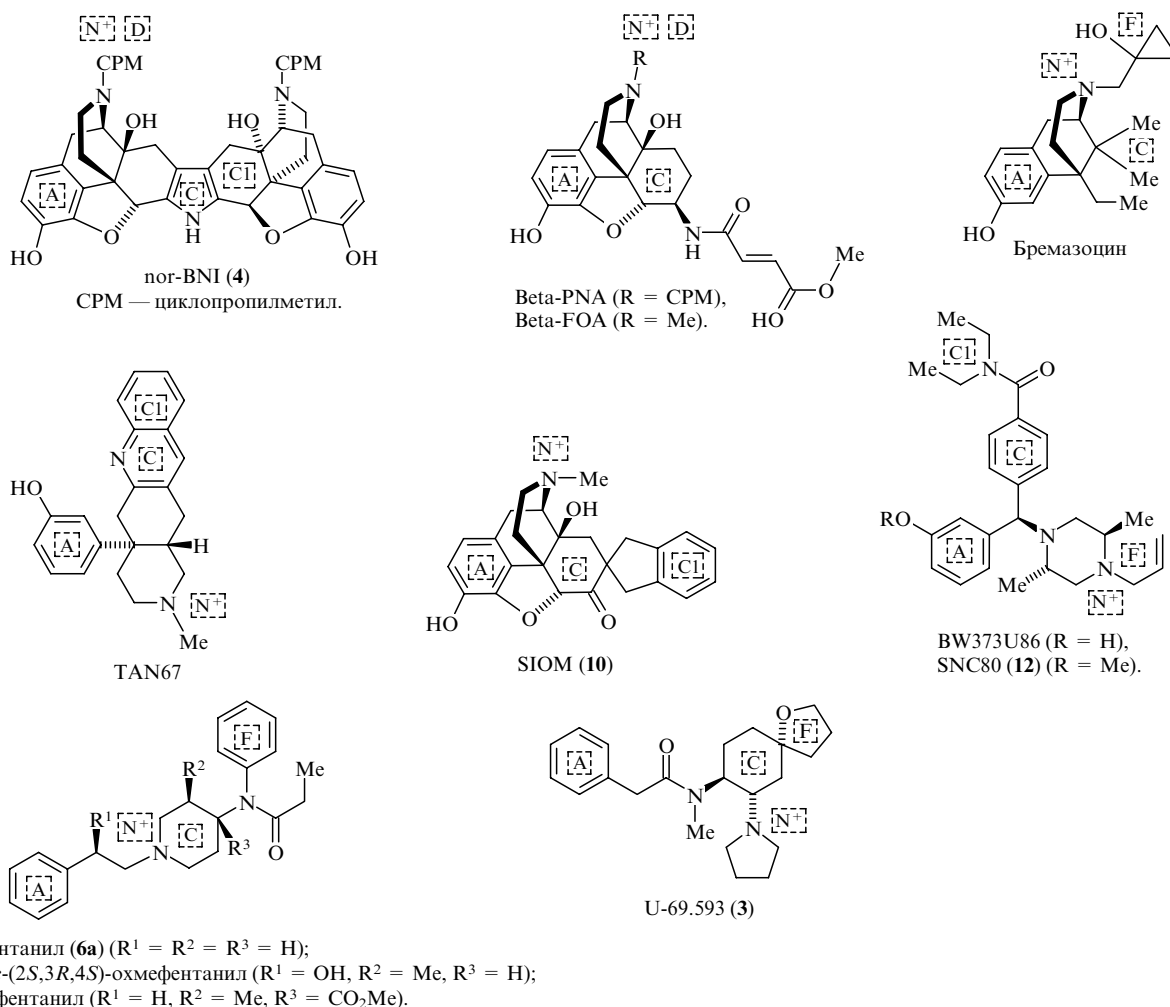


Рис. 10. Элементы агонистического и антагонистического опиатных фармакофоров в лигандах различных химических классов (описание см. в тексте).³⁵

Фармакофорные элементы указаны в штриховых квадратах.

лиганд-рецепторные взаимодействия. В зависимости от определенных функций лиганд-рецепторных взаимодействий фармакофорные области подразделяются на аффинные, агонистические и антагонистические. В аффинных фармакофорных областях реализуются взаимодействия, отвечающие только за связывание с рецептором, т.е. общие для агонистов и антагонистов (например, взаимодействие протонированного атома азота с Asp(III:7), ароматического цикла — с His(VI:20)). В агонистических фармакофорных областях реализуются взаимодействия, присущие только агонистам. Они фиксируют молекулу лиганда в «верхней» позиции зоны рецепции, индуцируя тем самым конформационные изменения рецептора и возникновение биологического отклика. В антагонистических фармакофорных областях реализуются взаимодействия, присущие только антагонистам. Они связывают молекулу с рецептором в «нижней» позиции зоны рецепции и фиксируют неактивную конформацию рецептора. Размер, форма и центр фармакофорной области определяются размером, формой и центром тяжести структурного фрагмента молекулы лиганда, занимающего эти области.

Пространственные характеристики фармакофорной области однозначно задаются набором расстояний, углов и двугранных углов. Электронные характеристики фармакофорной области определяют путем поиска общих закономерностей в свойствах различных структурных фрагментов, взаимодействующих с рецептором, которые занимают одинаковое положение в пространстве, одинаковую фармакофорную область. Электронные характеристики определяются типом лиганд-рецепторных взаимодействий.

Авторами настоящего обзора разработана трехмерная модель неселективного ОФ, содержащая шесть фармакофорных областей A–F (см. рис. 9, д).^{235–237} В аффинной области A, которую, как правило, занимает протонированный атом азота, реализуется электростатическое взаимодействие, дополняемое водородным связыванием, в аффинных областях B и C — перенос электронной плотности, дополняемый водородным связыванием, в агонистических областях D и E — гидрофобное взаимодействие, в антагонистической области F — либо гидрофобное взаимодействие, либо водородная связь, причем тип антагонистического взаимодействия определяет его селективность. Расположение фармакофорных областей B–F относительно фармакофорной области A характеризуется следующими геометрическими параметрами (аналогом Z-матрицы): расстояниями «центр фармакофорной области–атом азота» (R_{CentN}) и «центр фармакофорной области–аммониевый атом водорода» (R_{CentH}), углом «атом азота–центр фармакофорной области–аммониевый атом водорода» (NCentH) и двугранным углом «центр фармакофорной области–ближайший к фармакофорной области атом X мостика–атом азота–аммониевый атом водорода» ($\angle \text{CentXNH}$). Фиктивный атом (X) введен для упрощения расчета двугранного угла в системе внутренних координат. В том случае, когда структурные фрагменты в аффинных фармакофорных областях соединены с протонированным атомом азота одной общей алифатической цепочкой, за атом X принимается атом алифатической цепочки, ближайший к этим фрагментам. Например, в 4-фенилпиперидинах и в каркасных морфиноподобных молекулах X — это атом C(4) в пиперидиновом цикле. В метадоне и его аналогах X — это атом C(3) пропиламинного фрагмента. В случае, когда структурные фрагменты в аффинных фармакофорных областях молекулы лиганда соединены с протонированным атомом азота в области A различными алифатическими цепочками, за атом

X принимается тот атом молекулы, который при суперпозиции молекулы с 3D-моделью ОФ максимальным образом совпадает с атомом X модели.

В качестве обучающей выборки при определении пространственных и электронных особенностей фармакофорных областей использовали конформационно жесткие лиганды (4,5-эпоксиморфинаны, дигидроморфоны, морфинаны, бензоморфинаны, орипавины, спиро(бензофуран-3(2H),4'-пиперидины), 5-арилморфинаны, производные тропана, изохинолина и молекулы 4-фенилпиперидинов с фиксированными конформацией цикла и конфигурацией хиральных центров). В контрольную выборку вошли конформационно гибкие лиганды (4-анилинопиперидины, дифенилпропиламины, арилацетамиды, пептиды и т.д.) Разработанная нами трехмерная модель неселективного ОФ легла в основу расчетного метода оценки агонистических и антагонистических свойств лигандов ОР.³⁰⁶ В табл. 2 приведены геометрические параметры фармакофорных областей.

В последнее десятилетие наряду с традиционными моделями ОФ широкое распространение получили модели, построенные методом сравнительного анализа молекулярных полей (CoMFA). Классический метод CoMFA связывает биологическую активность лекарств с индикаторными переменными «да/нет, 1/0, истина/ложь», которые определяют конкретные структурные особенности.³⁰⁷ Индикаторные переменные используются для отображения электронных свойств, липофильности, поляризуемости и т.д. Метод CoMFA предусматривает сравнение молекул путем сопоставления их в пространстве и картографирования их молекулярных полей на трехмерной сетке. Сопоставление молекул производится в соответствии с функционально эквивалентными группами, которые идентифицируются как фармакофорные, либо вручную, либо с помощью соответствующего метода сопоставления, с учетом амплитуды поля в ряду однородных веществ. После взаимного позиционирования молекул вокруг них задается куб таким образом, чтобы расстояние от любого из атомов до его граней было не меньше нескольких ангстрем. Далее выбирается шаг решетки для задания точек в пересечениях. В соответствии с размерами куба и выбранным шагом решетки обычно задается несколько тысяч точек. Либо перед генерированием различных конформаций молекул, либо после этого определяются частичные заряды на атомах (в основном полумпирическими методами). Полученные заряды используются для расчета (отдельно для каждой молекулы) значения электростатического поля во всех точках решетки при помощи заряженного пробного атома. Кроме того, рассчитываются стерические поля с использованием нейтрального атома. Дополнительно к этим полям рассчитывают гидрофобные поля. Результатом картографирования молекулярных полей

Таблица 2. Геометрические параметры, характеризующие взаимное расположение фармакофорных областей A–F в трехмерной модели опиатного фармакофора.^{235–237}

Фармакофорная область	R_{CentN} , Å	R_{CentH} , Å	NCentH, град	$\angle \text{CentXNH}$, град
B	4.4–5.0	5.1–5.7	7–9	178–195
C	5.2–5.7	5.4–5.7	7–10	–7–12
D	4.2–4.7	4.9–5.3	8–10	от –117 до –137
E	2.4–2.6	3.3–3.5	10–11	от –139 до –158
F	2.6–3.0	2.3–2.7	18–21	–40–40

по трехмерной сетке являются таблицы, зачастую включающие несколько тысяч колонок. На следующем этапе проводится регрессионный анализ картографированных по трехмерной сетке молекулярных полей и данных по биологической активности (например, экспериментальных значений констант связывания).

В методе CoMFA трехмерная модель фармакофора представляет собой набор цветных контурных карт. Эти карты показывают области вокруг лигандов, в которых варьирование амплитуды молекулярных полей ассоциируется с максимальными различиями в лиганд-рецепторном взаимодействии: неблагоприятные и благоприятные стерические области вокруг молекулы, благоприятные и неблагоприятные зоны для электроположительных и электроотрицательных заместителей, для гидрофильных и липофильных заместителей и т. д. Примером трехмерной модели ОФ, разработанной методом CoMFA, являются селективные CoMFA-модели для антагонистов δ -, μ - и κ -ОР.²⁶⁶ В качестве обучающей выборки авторы этой работы использовали 100 антагонистов с морфиновым, морфинановым, 5-арилморфановым ядром. На CoMFA-моделях цветные полиэдры представляют специальные области вокруг молекулы лиганда, где изменение стерических или электростатических полей вызывает максимальное изменение свойств опиатного рецептора: выделяются области, где предпочтительно (нежелательно) усиление стерического напряжения, и области, где усиление электроположительного (электроотрицательного) характера ассоциируется с усилением аффинности лиганда.

Таким образом, в настоящее время в литературе представлены различные традиционные и CoMFA-модели ОФ,

которые отражают электронные и пространственные особенности молекул лигандов, необходимые для неселективного и селективного узнавания ОР и формирования биологического отклика. Выбор исследователем той или иной модели определяется его целями и задачами, а также используемой стратегией поиска лекарственных веществ.

* * *

Представления о механизмах опиатной рецепции определяются уровнем наших знаний и претерпевают значительные изменения по мере совершенствования инструментальных методов исследования, развития новых методологических подходов к обработке информации, совершенствования компьютерных технологий, которые обеспечивают возможность фундаментального изучения процесса опиатной рецепции с учетом всей совокупности эффектов. Существенный прогресс в области опиатной рецепции в последние два десятилетия в значительной степени связан с идентификацией сайтов связывания в комплексе лиганд–ОР, ответственных за селективность и опиатную активность лиганда. Естественно предположить, что очередной прорыв в этом направлении будет осуществлен по мере установления пространственного строения ОР и лиганд-рецепторных комплексов. Можно надеяться, что интенсивные исследования в области опиатной рецепции помогут интерпретации процессов восприятия боли, формирования эмоционального статуса, реакции на стресс и т.д. на молекулярном уровне.

V. Приложение

Таблица. Лиганды опиатных рецепторов.

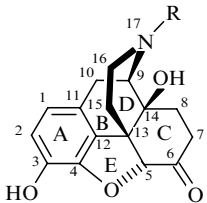
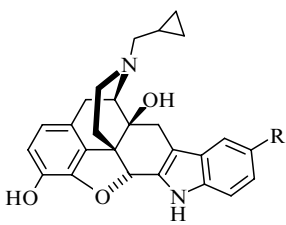
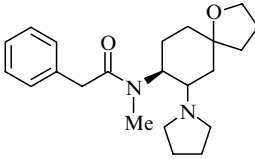
Соединение	Структура	Тип активности	Ссылки
Налоксон (1a) Налтрексон (1b)	 R = CH₂CH=CH₂ (1a), cyclo-C₃H₅CH₂ (1b).	Неселективные антагонисты	46
Налтриндол (NTI) (2a) 5'-Гуанидиноналтриндол (GNTI) (2b)	 R = H (2a), NHC(=NH)NH₂ (2b).	δ -Селективные антагонисты	46, 240
U-69.593 (3)		κ -Селективный агонист	14

Таблица (продолжение).

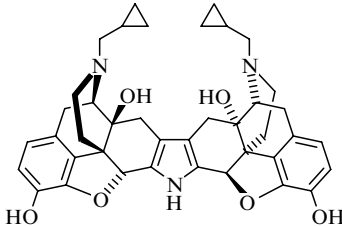
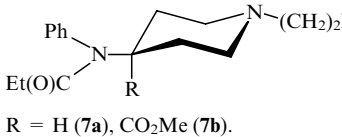
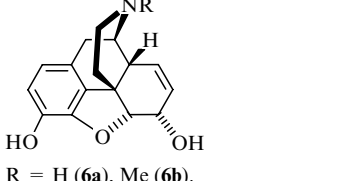
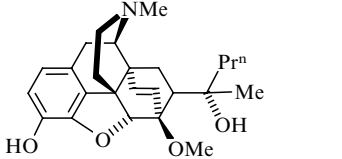
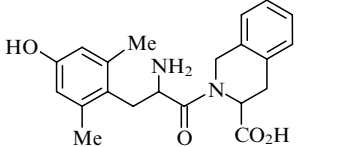
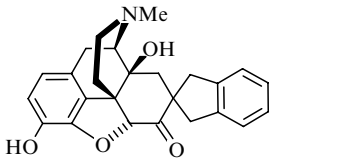
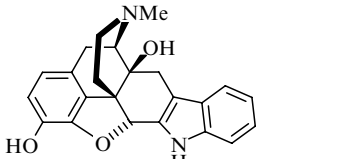
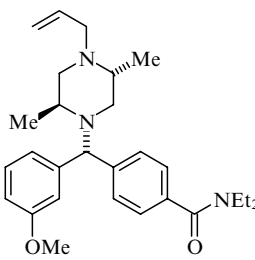
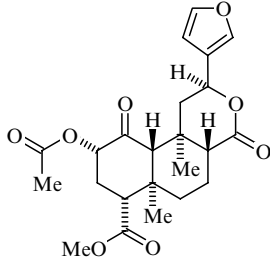
Соединение	Структура	Тип активности	Ссылки
Норбиналторфимин (nor-BNI) (4)		κ-Селективный антагонист	35, 46, 240
Пептид DPDPE (5)	$\text{H}_2\text{NTyr} - \text{D-Pen} - \text{Gly} - \text{Phe} - \text{D-PenCO}_2\text{H}$	δ-Селективный агонист	51
Фентанил (6a) Карфентанил (6b)	 R = H (7a), CO ₂ Me (7b).	То же	240
Норморфин (7a) Морфин (7b)	 R = H (6a), Me (6b).	μ-Селективные агонисты	52, 240
Эторфин (8)		Неселективный агонист	240
2',6'-Диметил-L-тирозил-1,2,3,4-тетра- гидроизохинолин-3-карбоновая кислота (H-Dmt-Tic-OH) (9)		δ-Селективный антагонист	254
7-(Спиринондано)оксиморфон (SIOM) (10)		δ-Селективный агонист	46
Оксиморфиндол (11)		То же	240, 304

Таблица (окончание).

Соединение	Структура	Тип активности	Ссылки
SNC80 (12)		δ-Селективный агонист	304
Сальвинорин А (13)		κ-Селективный агонист	305

Литература

1. C.-G.Wermuth, C.R.Ganellin, P.Lindberg, L.A.Mitscher. *Annu. Rep. Med. Chem.*, **33**, 385 (1998)
2. С.Д.Варфоломеев, К.Г.Гуревич. В кн. *Биокинетика: практический курс*. ФАИР-ПРЕСС, Москва, 1999
3. A.H.Beckett, A.F.Casy. *J. Pharm. Pharmacol.*, **6**, 986 (1955)
4. C.K.Evans, D.E.Keith, H.Morrison, K.Magendzo, R.H.Edwards. *Science*, **258**, 1952 (1992)
5. B.L.Kieffer, K.Befort, C.Gaveriaux-Guff, C.G.Hirth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 12048 (1992)
6. K.Yasuda, K.Rainor, H.Kong, J.Breeder, J.Takeda, T.Reisine, G.I.Bell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 6736 (1993)
7. Y.Chen, A.Mestek, J.Liu, J.A.Hurley, L.Yu. *Mol. Pharmacol.*, **44**, 8(1993)
8. K.Fukuda, S.Kato, K.Mori, M.Nishi, H.Takeshima. *FEBS Lett.*, **327**, 311 (1993)
9. R.C.Thompson, A.Mansour, H.Akil, S.J.Watson. *Neuron*, **11**, 903 (1993)
10. R.J.Knapp, E.Malatynska, L.Fang, X.Li, E.Babin, M.Nguyen, G.Santoro, E.V.Varga, V.J.Hruby, W.R.Roeske, H.I.Yamamura. *Life Sci.*, **54**, PL463 (1994)
11. J.B.Wang, P.S.Johnson, A.M.Persico, A.L.Hawkins, C.A.Griffin, G.R.Uhl. *FEBS Lett.*, **328**, 217 (1994)
12. E.Mansson, L.Bare, D.Yang. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **202**, 1431 (1994)
13. A.Mansour, L.Taylor, J.Fine, R.Thompson, M.Hoversten, H.Mosberg, S.Watson, H.Akil. *J. Neurochem.*, **68**, 344 (1997)
14. H.Kong, K.Raynor, H.Yano, J.Takeda, G.I.Bell, T.Reisine. *J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 8042 (1994)
15. T.Reisine, G.I.Bell. *Trends Neurosci.*, **16**, 506 (1993)
16. J.C.Meunier, C.Mollereau, L.Toll, C.Suaudeau, C.Moisand, P.Alvinerie, J.L.Butour, J.C.Guillemont, P.Ferrara. *Nature (London)*, **377**, 532 (1995)
17. R.J.Bodnar, M.M.Hadjimarkou. *Peptides*, **24**, 1241 (2003)
18. A.Ulloa-Aguirre, D.Stanislaus, J.Janovick, P.M.Conn. *Arch. Med. Res.*, **30**, 420 (1999)
19. P.A.Zaki, E.J.Bilsky, T.W.Vanderah, J.Lai, C.J.Evans, F.Porecca. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **36**, 379 (1996)
20. T.Reisine. *Neuropharmacology*, **34**, 463 (1995)
21. B.L.Kieffer. *Cell. Mol. Neurobiol.*, **15**, 615 (1995)
22. U.Gether. *Endocr. Rev.*, **21**, 90 (2000)
23. A.Smith, N.Lee. *Life Sci.*, **73**, 1873 (2003)
24. B.N.Dhawan, F.Cesselin, R.Raghubir, T.Reisine, P.B.Bradley, P.S.Portoghese, M.Hamo. *Pharmacol. Rev.*, **48**, 567 (1996)
25. B.Jordan, L.A.Devi. *Br. J. Anaesth.*, **81**, 12(1998)
26. R.A.North. *Opioid Actions on Membrane Ion Channels*. In *Opioid I*. (Ed. A.Herz). Springer-Verlag, New York, 1993. P. 773
27. G.F.X.Schertler, C.Villa, R.Henderson. *Nature (London)*, **362**, 770 (1993)
28. V.M.Unger, P.A.Hargrave, J.M.Baldwin, G.F.X.Schertler. *Nature (London)*, **389**, 203 (1997)
29. V.M.Unger, G.F.X.Schertler. *Biophys. J.*, **68**, 1766 (1995)
30. A.Davies, G.F.X.Schertler, B.E.Gowen, H.R.Saibil. *J. Struct. Biol.*, **117**, 36 (1996)
31. K.Befort, L.Tabbara, S.Bausch, C.Chavkin, C.Evans, B.L.Kieffer. *Mol. Pharmacol.*, **49**, 216 (1996)
32. K.Befort, L.Tabbara, D.Kling, B.Maigret, B.L.Kieffer. *J. Biol. Chem.*, **271**, 10161 (1996)
33. C.B.Pert, S.H.Snyder. *Mol. Pharmacol.*, **10**, 868 (1974)
34. P.S.Portoghese. *Pure Appl. Chem.*, **73**, 1387 (2001)
35. I.D.Pogozheva, M.J.Przydzial, H.I.Mosberg. *AAPS J.*, **7**, 434 (2005)
36. R.J.Knapp, E.Malatynska, N.Collins, L.Fang, J.Y.Wang, V.J.Hruby, W.R.Roeske, H.I.Yamamura. *FASEB J.*, **9**, 516 (1995)
37. P.Zhang, P.S.Johnson, C.Zöllner. *Mol. Brain Res.*, **72**, 195 (1999)
38. A.De Lean, J.M.Stadel, R.J.Lefkowitz. *J. Biol. Chem.*, **225**, 7108 (1980)
39. A.Gero. *J. Theor. Biol.*, **103**, 137 (1983)
40. A.Brugen. *Fed. Proc.*, **40**, 2723 (1981)
41. A.Rescigno, J.S.Beck. *Bull. Math. Biol.*, **44**, 477 (1982)
42. Ф.С.Духович, М.Б.Дарховский, Е.Н.Горбатова, В.К.Курочкин. В кн. *Молекулярное узнавание: фармакологические аспекты*. Медицина, Москва, 2004
43. H.Kong, T.Reisine, K.Raynor, S.T.Moe. *J. Biol. Chem.*, **268**, 23055 (1993)
44. T.Onogi, M.Minami, Y.Katao, T.Nakagawa, Y.Aoki, T.Toya, S.Katsumata, M.Satoh. *FEBS Lett.*, **357**, 93 (1995)
45. K.Fukuda, S.Kato, K.Mori. *J. Biol. Chem.*, **270**, 6702 (1995)
46. T.G.Metzger, M.G.Paterlini, D.M.Ferguson, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **44**, 857 (2001)

47. W.W.Wang, M.Shahrestanifar, J.Jin, R.D.Howells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 12436 (1995)
48. K.Chaturvedi, M.Shahrestanifar, R.D.Howells. *Mol. Brain Res.*, **76**, 64 (2000)
49. P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **8**, 609 (1965)
50. P.S.Portoghese. *J. Pharm. Sci.*, **55**, 865 (1966)
51. A.Blake, G.Bot, T.Reisine. *Chem. Biol.*, **3**, 967 (1996)
52. I.D.Pogozheva, A.I.Lomize, H.I.Mosberg. *Biophys. J.*, **75**, 612 (1998)
53. M.Valiquette, K.H.Vu, S.Y.Yue, C.Wahlestedt, P.Walker. *J. Biol. Chem.*, **271**, 18978 (1996)
54. G.Bonner, F.Meng, H.Akil. *Eur. J. Pharmacol.*, **403**, 37 (2000)
55. A.K.Rattan, G.A.Tejuwani. *Pharmacology*, **48**, 30 (1994)
56. H.Xu, Y.F.Lu, J.S.Partilla, Q.X.Zheng, J.B.Wang, G.A.Brine, F.I.Carroll, K.C.Rice, K.X.Chen. *Synapse*, **32**, 23 (1999)
57. C.K.Surratt, P.S.Johnson, A.Moriwaki, B.K.Seidleck, C.J.Blaschak, J.B.Wang, G.R.Uhl. *J. Biol. Chem.*, **269**, 20548 (1994)
58. M.Minami, T.Nakagawa, T.Seki, T.Onogi, Y.Aoki, Y.Katao, S.Katsumata, M.Satoh. *Mol. Pharmacol.*, **50**, 1413 (1996)
59. J.C.Xue, C.Chen, J.Zhu, S.Kunapuli, J.K.DeRiel, L.Yu, L.Y.Liu-Chen. *J. Biol. Chem.*, **269**, 30195 (1994)
60. J.B.Wang, P.S.Johnson, J.M.Wu, W.F.Wang, G.R.Uhl. *J. Biol. Chem.*, **269**, 25966 (1994)
61. M.-L.Bolognesi, W.H.Ojala, W.B.Gleason, J.F.Griffin, F.F.Grant, D.L.Larson, A.F.Takemori, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **39**, 1816 (1996)
62. W.C.Stevens Jr., R.M.Jones, G.Subramanian, T.G.Metzer, D.M.Ferguson, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **43**, 2759 (2000)
63. S.A.Hjorth, K.Thiistrup, D.K.Grandy, T.W.Schwartz. *Mol. Pharmacol.*, **47**, 1089 (1995)
64. D.L.Larson, R.M.Jones, S.A.Hjorth, T.W.Schwartz, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **43**, 1573 (2000)
65. F.Meng, M.T.Hoversten, R.C.Thompson, L.Taylor, S.J.Watson, H.Akil. *J. Biol. Chem.*, **270**, 12730 (1995)
66. X.Li, E.V.Varga, D.Stropova, T.Zalewska, E.Malatynska, R.J.Knapp, W.R.Roeske, H.I.Yamamura. *Eur. J. Pharmacol.*, **300**, 1 (1996)
67. R.J.Jones, S.A.Hjorth, T.W.Schwartz, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **41**, 4911 (1998)
68. T.G.Metzger, D.M.Ferguson. *FEBS Lett.*, **375**, 1 (1996)
69. K.Befort, Ch.Zilliox, D.Filliol, Sh.Y.Yue, B.L.Kieffer. *J. Biol. Chem.*, **274**, 18574 (1999)
70. G.Bot, A.D.Blake, S.Li, T.Reisine. *J. Pharmacol. Exp. Theor.*, **284**, 283 (1998)
71. G.Bot, A.D.Blake, S.Li, T.Reisine. *J. Neurochem.*, **70**, 358 (1998)
72. F.Meng, Y.Ueda, M.T.Hoversten, L.P.Taylor, R.K.Reinscheid, F.J.Monsma, S.J.Watson, O.Civelli, H.Akil. *Mol. Pharmacol.*, **53**, 772 (1998)
73. J.-G.Li, C.Chen, J.Yin, K.Rice, Y.Zhang, D.Matecka, J.K.de Riel, R.L.DesJarlais, L.-Y.Liu-Chen. *Life Sci.*, **65**, 175 (1999)
74. C.E.Spivak, C.L.Beglan, B.K.Seidleck, L.D.Hirshbein, G.R.Uhl, C.K.Surratt. *Mol. Pharmacol.*, **52**, 983 (1997)
75. C.D.Wang, M.A.Buck, C.M.Fraser. *Mol. Pharmacol.*, **40**, 168 (1991)
76. T.M.Savarese, C.M.Fraser. *Biochem. J.*, **283**, 1 (1992)
77. C.-D.Wang, T.K.Gallaher, J.C.Shih. *Mol. Pharmacol.*, **43**, 931 (1993)
78. A.Mansour, F.Meng, J.H.Meador-Woodruff, L.P.Taylor, O.Givelli, H.Akil. *Eur. J. Pharmacol.*, **227**, 205 (1992)
79. B.Y.Ho, A.Karschin, T.Branchek, N.Davidson, H.A.Lester. *FEBS Lett.*, **312**, 259 (1992)
80. J.E.Porter, J.Hwa, D.M.Perez. *J. Biol. Chem.*, **271**, 28318 (1996)
81. H.G.Dolhman, M.G.Caron, C.D.Strader, N.Amlaiky, R.J.Lefkowitz. *Biochemistry*, **27**, 1813 (1988)
82. D.Horstman, S.Brandon, A.Wilson, C.Guyer, E.Gragoe, L.Limbrid. *J. Biol. Chem.*, **265**, 21590 (1990)
83. P.Coward, H.G.Wada, M.S.Falk, S.D.Chan, F.Meng, H.Akil, B.R.Conkin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 352 (1998)
84. P.A.Claude, D.R.Wotta, X.H.Zhang, P.L.Prather, T.M.McGinn, J.L.Erickson, H.H.Loh, P.Y.Law. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 5715 (1996)
85. D.R.Flower. *Biochim. Biophys. Acta*, **1422**, 207 (1999)
86. M.Filizola, L.Laakonen, G.H.Loew. *Protein Eng.*, **12**, 927 (1999)
87. M.Filizola, M.Carteni-Farina, J.Perez. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **13**, 397 (1999)
88. I.Alkorta, G.H.Loew. *Protein Eng.*, **9**, 573 (1996)
89. D.Strahs, H.Weinstein. *Protein Eng.*, **10**, 1019 (1997)
90. I.McFadyen, T.Metzer, G.Subramanian, G.Poda, E.Jorvig, D.M.Ferguson. *Prog. Med. Chem.*, **40**, 107 (2002)
91. B.S.Zhorov, V.S.Ananthanarayanan. *Arch. Biochem. Biophys.*, **375**, 31 (2000)
92. N.Vaidehi, W.B.Floriano, R.Trabanino, S.E.Hall, P.Freddolino, E.J.Choi, G.Zamanakos, W.A.Goddard. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 12622 (2002)
93. S.Shacham, M.Topf, N.Avisar, F.Glaser, Y.Marantz, S.Bar-Haim, S.Noiman, Z.Naor, O.M.Becker. *Med. Res. Rev.*, **21**, 472 (2001)
94. T.Klabunde, G.Hessler. *ChemBioChem*, **3**, 928 (2002)
95. F.Horn, E.Bettler, L.Oliveira, F.Campagne, F.E.Cohen, G.Vriend. *Nucleic Acids Res.*, **31**, 294 (2003)
96. J.M.Baldwin, G.F.X.Schertler, V.M.Unger. *J. Mol. Biol.*, **272**, 144 (1997)
97. T.Okada, O.Ernst, K.Palczewski, K.Hofmann. *Trends Biochem. Sci.*, **26**, 318 (2001)
98. J.Li, P.C.Edwards, M.Burghammer, C.Villa, G.F.X.Schertler. *J. Mol. Biol.*, **343**, 1409 (2004)
99. G.F.X.Schertler, P.A.Hargrave. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 11578 (1995)
100. K.Palczewski, T.Kumasaka, T.Hori, C.A.Behnke, H.Motoshima, B.A.Fox, I.Le Trong, D.C.Teller, T.Okada, R.E.Stenkamp, M.Yamamoto, M.Miyano. *Science*, **289**, 739 (2000)
101. E.Pebay-Peyroula, G.Rummel, J.P.Rosenbusch, E.M.Landau. *Science*, **277**, 1676 (1997)
102. A.Fiser, A.Sali. *Methods Enzymol.*, **374**, 461 (2003)
103. A.Sali, T.L.Blundell. *J. Mol. Biol.*, **234**, 779 (1993)
104. M.C.Peitsch. *Biochem. Soc. Trans.*, **24**, 274 (1996)
105. C.Lambert, N.Leonard, X.De Bolle, E.Depiereux. *Bioinformatics*, **18**, 1250 (2002)
106. D.E.Kim, D.Chivian, D.Baker. *Nucleic Acids Res.*, **32** (Web Server Issue), W526 (2004)
107. U.Pieper, N.Eswar, H.Braberg, M.S.Madhusudhan, F.P.Davis, A.C.Stuart, N.Mirkovic, A.Rossi, M.A.Renom. *Nucleic Acids Res.*, **32** (Database Issue), 217 (2004)
108. A.Bairoch, B.Bieckmann. *Nucleic Acids Res.*, **22**, 3578 (1994)
109. D.A.Benson, M.S.Boguski, D.J.Lipman, J.Ostell, B.F.F.Ouellette. *Nucleic Acids Res.*, **26**, 1 (1998)
110. W.C.Barker, J.S.Garavelli, D.H.Haft, L.T.Hunt, C.R.Mazzec, B.C.Orcutt, G.Y.Srimivasarao, L.-S.L.Yeh, R.S.Ledley, H.-W.Mewes, F.Pfeiffer, A.Tsugita. *Nucleic Acids Res.*, **26**, 27 (1998)
111. L.F.Kolakowski Jr. *Recept. Channels*, **2**, 1 (1995)
112. T.K.Attwood, M.E.Beck, D.R.Flower, P.Scordis, J.N.Selley. *Nucleic Acids Res.*, **26**, 304 (1998)
113. T.K.Attwood, H.Avison, M.E.Beck, M.Bewley, A.J.Bleasby, F.Brewster, P.Cooper, K.Degtyarenko, A.J.Geddes, D.R.Flower, M.P.Kelly, S.Lott, K.M.Measures, D.J.Parry-Smith, D.N.Perkins, P.Scordis, D.Scott, C.Worledge. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **37**, 417 (1997)
114. I.D.Pogozheva, A.L.Lomize, H.I.Mosberg. *Biophys. J.*, **70**, 1963 (1997)
115. I.K.McDonald, J.M.Thornton. *J. Mol. Biol.*, **238**, 777 (1994)
116. T.J.Ewing, S.Makino, A.G.Skillman, I.D.Kuntz. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **15**, 411 (2001)
117. D.S.Goodsell, A.J.Olson. *Proteins*, **8**, 195 (1990)

118. G.M.Morris, D.S.Goodsell, R.S.Halliday, R.Huey, W.E.Hart, R.K.Below, A.J.Olson. *J. Comput. Chem.*, **19**, 1639 (1998)
119. G.Jones, P.Willett, R.C.Glen, A.R.Leach, R.Taylor. *J. Mol. Biol.*, **267**, 727 (1997)
120. M.Rarey, S.Wefing, T.Lengauer. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **10**, 41 (1996)
121. R.D.Taylor, P.J.Jewsbury, J.W.Essex. *J. Comput. Chem.*, **24**, 1637 (2003)
122. T.A.Halgren, R.B.Murphy, R.A.Friesner, H.S.Beard, L.L.Frye, W.T.Pollard, J.L.Banks. *J. Med. Chem.*, **47**, 1750 (2004)
123. C.M.Venkatachalam, X.Jiang, T.Oldfield, M.Waldman. *J. Mol. Graph. Model.*, **21**, 289 (2003)
124. C.N.Cavasotto, R.A.Abagyan. *J. Mol. Biol.*, **337**, 209 (2004)
125. G.L.Warren, C.W.Andrews, A.-M.Capelli, B.Clarke, J.La Londe, M.H.Lambert, M.Lindvall, N.Nevins, S.F.Semus, S.Senger, G.Tedesco, I.D.Wall, J.M.Woolven, C.E.Peishoff, M.S.Head. *J. Med. Chem.*, **49**, 5912 (2006)
126. N.Moitessier, C.Henry, B.Maigret, Y.Chapleur. *J. Med. Chem.*, **47**, 4178 (2004)
127. E.Costa, B.Hoffman, G.H.Loew. *Life Sci.*, **50**, 73 (1991)
128. J.J.Perez, H.O.Villar, G.H.Loew. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **6**, 175 (1992)
129. C.Cometta-Morini, P.Maguire, G.H.Loew. *Mol. Pharmacol.*, **41**, 185 (1992)
130. P.Maguire, N.F.Tsai, J.Kamal, C.Cometta-Morini, C.Upton, G.H.Loew. *Eur. J. Pharmacol.*, **213**, 219 (1992)
131. E.Costa, B.Hoffman, G.H.Loew. *Int. J. Pept. Prot. Res.*, **39**, 245 (1992)
132. C.Cometta-Morini, G.H.Loew. *Int. J. Quantum Chem. Symp.*, **44**, 235 (1992)
133. J.J.Perez, G.H.Loew, H.O.Villar. *Int. J. Quantum Chem. Symp.*, **44**, 263 (1992)
134. J.J.Perez, H.O.Villar, E.Uyeno, L.Toll, C.Olsen, W.Polgar, G.H.Loew. *Int. J. Quantum Chem. QBS*, **20**, 147 (1993)
135. C.Chew, H.O.Wilar, G.H.Loew. *Biopolymers*, **33**, 647 (1993)
136. P.A.Maguire, J.J.Perez, N.F.Tsai, L.Rodrigues, M.F.Beatty, H.O.Villar, J.J.Kamal, C.Upton, A.F.Casey, G.H.Loew. *Mol. Pharmacol.*, **44**, 1246 (1993)
137. A.Agarwal, M.F.Beatty, P.A.Maguire, G.H.Loew. *Analgesia*, **1**, 247 (1995)
138. T.M.Chao, J.J.Perez, G.H.Loew. *Biopolymers*, **38**, 759 (1996)
139. G.H.Loew, A.Agarwal, P.Huang, M.Beatty, P.Maguire, I.Alkorta. *Chem. Des. Automat. News*, **11**, 28 (1996)
140. P.Huang, S.Kim, G.H.Loew. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **11**, 21 (1997)
141. P.A.Maguire, G.H.Loew. *Eur. J. Pharmacol.*, **318**, 505 (1996)
142. S.W.Chen, P.A.Maguire, M.F.Davies, G.H.Loew. *Eur. J. Pharmacol.*, **312**, 241 (1996)
143. J.J.Perez, M.Filizola, M.Carteni-Farina. *J. Math. Chem.*, **23**, 229 (1998)
144. M.Filizola, J.J.Perez, M.Carteni-Farina. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **12**, 111 (1998)
145. T.G.Metzger, M.G.Paterlini, P.S.Portoghese, D.M.Ferguson. *Neurochem. Res.*, **21**, 1287 (1996)
146. B.Habibi-Nezhad, M.Hanifan, M.Mahmoudian. *J. Mol. Med.*, **2**, 362 (1996)
147. G.Dondio, S.Ronzoni, P.Petrillo, R.L.DesJarlais, L.F.Raveglia. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 2967 (1997)
148. S.-Y.Yue, M.-C.Pepin, M.Valiquette, H.-K.Vu, P.Walker, E.Roberts. *J. Mol. Graph. Model.*, **15**, 403 (1997)
149. G.Poda, B.Maigret. *Lett. Pept. Sci.*, **5**, 1 (1998)
150. A.Lavecchia, G.Greco, E.Novellino, G.Ronsisvalle. *J. Med. Chem.*, **43**, 2124 (2000)
151. G.Subramanian, M.G.Patrelini, P.S.Portoghese, D.M.Ferguson. *J. Med. Chem.*, **43**, 381 (2000)
152. M.Aburi, P.E.Smith. *Protein Sci.*, **13**, 1997 (2004)
153. A.J.Clark. *J. Physiol.*, **61**, 530 (1926)
154. R.P.Stepherson. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, **11**, 379 (1956)
155. W.D.W.Paton. *Proc. R. Soc. London. Ser. B*, **154**, 21 (1961)
156. С.В.Зайцев, К.Н.Ярыгин, С.Д.Варфоломеев. *Наркомания. Нейропептид-морфиновые рецепторы*. Изд-во МГУ, Москва, 1993
157. M.Titeler, R.A.Lyon, M.J.Kuhar, J.F.Frost, R.F.Dannals, S.Leonard, A.Bullock. *Eur. J. Pharmacol.*, **167**, 221 (1989)
158. J.E.Leysen, W.Gommeren, C.J.E.Niemegers. *Eur. J. Pharmacol.*, **87**, 209 (1983)
159. A.F.Cazy. *Opioid Analgetics*. Plenum, New York, 1986
160. G.R.Lenz, S.M.Evans, D.E.Walters. *Opiates*. Academic Press, New York, 1986
161. M.P.Wentland, N.F.Albertson, A.K.Pierson. *J. Med. Chem.*, **23**, 71 (1980)
162. A.Cheng, E.Uyeno, W.Polgar, L.Toll, J.A.Lawson, J.I.DeGraw, G.Loew, A.Camerman, N.Camerman. *J. Med. Chem.*, **29**, 531 (1986)
163. A.H.Beckett, A.F.Casy. *J. Chem. Soc.*, 900 (1955)
164. P.S.Portoghese, Z.S.D.Gomaa, D.L.Larson, E.Shefter. *J. Med. Chem.*, **16**, 199 (1973)
165. P.S.Portoghese, B.D.Alreja, D.L.Larson. *J. Med. Chem.*, **24**, 782 (1981)
166. B.R.de Costa, W.D.Bower, S.B.Hellewel, C.George, R.B.Rothman, A.A.Reid, J.M.Walker, A.E.Jacobson, K.C.Rice. *J. Med. Chem.*, **32**, 1996 (1989)
167. H.Awaya, E.L.May, M.D.Aceyo, H.Merz, M.E.Rogers, L.S.Harris. *J. Med. Chem.*, **27**, 536 (1984)
168. A.Hashimoto, A.E.Jacobson, R.B.Rothman, C.M.Dersch, C.George, J.L.Flippen-Anderson, K.C.Rice. *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 3319 (2002)
169. M.Froimowitz, C.G.Pick, G.W.Pasternak. *J. Med. Chem.*, **35**, 1521 (1992)
170. G.H.Loew, J.R.Jester. *J. Med. Chem.*, **18**, 1051 (1975)
171. M.A.Iorio, G.Damia, A.F.Casy. *J. Med. Chem.*, **16**, 592 (1973)
172. J.B.Thomas, R.N.Atkinson, N.Namdev, R.B.Rothman, K.M.Gigstad, S.E.Fix, S.W.Mascarella, J.P.Burgess, N.A.Vinson, H.Xu, C.M.Dersch, B.E.Cantrell, D.M.Zimmerman, F.I.Carroll. *J. Med. Chem.*, **45**, 3524 (2002)
173. J.B.Thomas, M.J.Fall, J.B.Cooper, R.B.Rothman, S.W.Mascarella, H.Xu, J.S.Partilla, C.M.Dersch, K.B.McCullough, B.E.Cantrell, D.M.Zimmerman, F.I.Carroll. *J. Med. Chem.*, **41**, 5188 (1998)
174. P.S.Portoghese, M.Sultana, S.T.Moe, A.E.Takemori. *J. Med. Chem.*, **37**, 579 (1994)
175. C.M.Bertha, M.V.Mattson, J.L.Flippen-Anderson, R.B.Rothman, H.Xu, X.-Y.Cha, K.Beckets, K.C.Rice. *J. Med. Chem.*, **37**, 3163 (1994)
176. П.В.Сергеев, Н.Л.Шимановский. В кн. *Рецепторы физиологически активных веществ*. Медицина, Москва, 1987. С. 18
177. E.J.Ariens, A.J.Beld, J.F.Rodrigues de Mirande, A.M.Simons. In *The Receptors: a Comprehensive Treatise. Vol. 1*. Plenum, New York, 1979
178. E.J.Ariens. *Bull. Memoires*, **136**, 94 (1983)
179. E.J.Ariens. *Pharm. Weekblad*, **5**, 121 (1983)
180. E.J.Ariens. *J. Cardiol. Pharmacol.*, **5**, 8 (1983)
181. R.Leurs, M.J.Smit, A.S.Alewijnse, H.Timmerman. *Trends Biochem. Sci.*, **23**, 418 (1998)
182. T.Kenakin. *Trends Biochem. Sci.*, **20**, 400 (1999)
183. D.Colquhoun. *Br. J. Pharmacol.*, **125**, 924 (1998)
184. S.Tucek. *Trends Pharmacol. Sci.*, **18**, 414 (1997)
185. T.Costa, A.Herz. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 7321 (1989)
186. P.Leff. *Trends Biochem. Sci.*, **16**, 256 (1995)
187. P.Leff. *Trends Pharmacol. Sci.*, **16**, 89 (1995)
188. F.Horn, E.M.van der Wenden, L.Oliveira, A.P.Izerman, G.Vriend. *Proteins*, **41**, 448 (2000)
189. C.D.Strader, T.M.Fong, M.R.Tota, D.Underwood, D.A.F.Dixon. *Annu. Rev. Biochem.*, **63**, 101 (1994)
190. P.Samama, S.Cotecchia, T.Costa, R.J.Lefkowitz. *J. Biol. Chem.*, **268**, 4625 (1993)
191. R.J.Lefkowitz, S.Cotecchia, P.Samama, T.Costa. *Trends Pharmacol. Sci.*, **14**, 303 (1993)

192. J.M.Weiss, P.H.Morgan, M.W.Lutz, T.P.Kenakin. *J. Theor. Biol.*, **178**, 151 (1996)
193. J.M.Weiss, P.H.Morgan, M.W.Lutz, T.P.Kenakin. *J. Theor. Biol.*, **178**, 169 (1996)
194. J.M.Weiss, P.H.Morgan, M.W.Lutz, T.P.Kenakin. *J. Theor. Biol.*, **181**, 381 (1996)
195. A.S.L.Chan, P.Y.Law, H.H.Loh, P.N.N.Ho, W.Wu, J.S.C.Chan, Y.H.Wong. *J. Neurochem.*, **87**, 697 (2003)
196. D.G.Lambright, J.Sondek, A.Bohm, N.P.Skiba, H.E.Hamm, P.B.Sigler. *Nature (London)*, **379**, 311 (1996)
197. T.Iiri, Z.Farfel, H.R.Bourne. *Nature (London)*, **394**, 35 (1998)
198. P.L.Prather, H.H.Loh, P.Y.Law. *Mol. Pharmacol.*, **45**, 997 (1994)
199. E.T.Piros, P.L.Prather, H.H.Loh, P.Y.Law, C.J.Evans, T.G.Hales. *Mol. Pharmacol.*, **47**, 1041 (1995)
200. F.R.McKenzie, G.Milligan. *Biochem. J.*, **267**, 391 (1990)
201. T.Tang, J.G.Kiang, T.E.Cote, B.M.Cox. *Mol. Pharmacol.*, **48**, 189 (1995)
202. K.S.Murthy, G.M.Makhlouf. *Mol. Pharmacol.*, **50**, 870 (1996)
203. E.T.Piros, P.L.Prather, P.Y.Law, C.J.Evans, T.G.Hales. *Mol. Pharmacol.*, **50**, 947 (1996)
204. D.J.Henry, D.K.Grandy, H.A.Lester, N.Davidson, C.Chavkin. *Mol. Pharmacol.*, **47**, 551 (1995)
205. G.H.Ma, R.J.Miller, A.Kuznetsov, L.H.Philipson. *Mol. Pharmacol.*, **47**, 1035 (1995)
206. J.R.Arden, V.Segredo, Z.Wang, J.Lameh, W.Sadee. *J. Neurochem.*, **65**, 1636 (1995)
207. D.E.Keith, S.R.Murray, P.A.Zaki, P.C.Chu, D.V.Lissin, L.Kang, C.J.Evans, M.V.Zastrov. *J. Biol. Chem.*, **271**, 19021 (1996)
208. E.Malatynska, Y.Wang, R.J.Knapp, S.Waite, S.Calderon, K.Rise, V.J.Hruby, H.I.Yamamura, W.R.Roeske. *J. Pharmacol. Exp. Theor.*, **278**, 1083 (1996)
209. V.Segredo, N.T.Burford, J.Lameh, W.Sadee. *J. Neurochem.*, **68**, 2395 (1997)
210. P.Leff, C.Scaramellini, C.Law. *Trends Pharmacol. Sci.*, **18**, 355 (1997)
211. P.Leff, C.Scaramellini. *Trends Pharmacol. Sci.*, **19**, 13 (1998)
212. T.M.Fong. *Cell. Signal.*, **8**, 217 (1996)
213. A.Scheer, S.Cotecchia. *J. Recept. Signal Transduct.*, **17**, 57 (1997)
214. J.Wess. *FASEB J.*, **11**, 346 (1997)
215. U.Gether, B.K.Kobilka. *J. Biol. Chem.*, **273**, 17979 (1998)
216. M.A.Kjelsberg, S.Cotecchia, J.Ostrovski, M.G.Caron, R.G.Lefkowitz. *J. Biol. Chem.*, **267**, 1430 (1992)
217. K.C.Min, T.A.Zvyaga, A.M.Cyppe, T.P.Sakmar. *J. Biol. Chem.*, **268**, 9400 (1993)
218. A.Scheer, F.Fanelli, T.Costa, P.G.De Benedetti, S.Cotecchia. *EMBO J.*, **15**, 3566 (1996)
219. K.Befort, L.Tabbara, B.L.Kieffer. *Neurochem. Res.*, **21**, 1301 (1996)
220. C.Bissantz. *J. Recept. Signal Transduct.*, **23**, 123 (2003)
221. S.S.Karnik, C.Gogonea, S.Patil, Y.Saad, T.Takezako. *Trends Endocrinol. Metab.*, **19**, 431 (2003)
222. K.Chaturvedi, K.H.Chrisofers, K.Singh, R.D.Howells. *Biopolymers*, **55**, 334 (2000)
223. F.M.Decailot, K.Befort, D.Filliol, S.Yue, P.Walker, B.L.Kieffer. *Nat. Struct. Biol.*, **10**, 629 (2003)
224. A.Scheer, F.Fanelli, T.Costa, P.G.De Benedetti. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 808 (1997)
225. W.Brandt, A.Golbraikh, M.Tager, U.Lendeckel. *Eur. J. Biochem.*, **261**, 89 (1999)
226. A.Scheer, T.Costa, F.Fanelli, P.G.De Benedetti, S.Mhaouty-Kodja, L.Abuin, M.Nenniger-Tosato, S.Cotecchia. *Mol. Pharmacol.*, **57**, 219 (2000)
227. L.Oliveira, A.C.M.Paiva, C.Sander, G.Vriend. *Trends Biochem. Sci.*, **15**, 170 (1994)
228. Z.Lu, C.A.Curtis, P.G.Jones, J.Pavia, E.Hulme. *Mol. Pharmacol.*, **51**, 234 (1997)
229. S.G.F.Rasmussen, A.D.Jensen, G.Liapakis, P.Ghanouni, J.A.Javitch, U.Gether. *Mol. Pharmacol.*, **56**, 175 (1999)
230. H.Alewijnse, H.Timmerman, E.H.Jacobs, M.J.Smit, E.Roovers, S.Cotecchia, R.Leurs. *Mol. Pharmacol.*, **57**, 890 (2000)
231. P.R.Robinson, G.B.Cohen, E.A.Zhukovsky, D.D.Oprian. *Neuron*, **9**, 719 (1992)
232. G.B.Cohen, D.D.Oprian, P.R.Robinson. *Biochemistry*, **31**, 12592 (1992)
233. K.Fahmy, F.Siebert, T.P.Sakmar. *Biophys. Chem.*, **56**, 171 (1995)
234. Н.Е.Кузьмина, Е.С.Осипова, В.С.Кузьмин, В.Б.Ситников. *Хим.-фарм. журн.*, **40** (5), 20 (2006)
235. Н.Е.Кузьмина, Е.С.Осипова, В.С.Кузьмин, В.Б.Ситников. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1469 (2006)
236. Н.Е.Кузьмина, Е.С.Осипова, В.С.Кузьмин, В.Б.Ситников. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1253 (2008)
237. Н.Е.Кузьмина, Е.С.Осипова, В.С.Кузьмин, В.Б.Ситников. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1261 (2008)
238. P.Ehrlich. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **42**, 17 (1909)
239. P.Gund. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, **5**, 117 (1977)
240. M.Filizola, H.O.Villar, G.H.Loew. *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 69 (2001)
241. P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **35**, 1927 (1992)
242. V.M.Kolb. *J. Pharm. Sci.*, **73**, 715 (1984)
243. V.M.Kolb, S.Scheiner. *J. Pharm. Sci.*, **73**, 719 (1984)
244. B.Belleau, T.Conway, F.R.Ahmed, A.D.Hardy. *J. Med. Chem.*, **17**, 907 (1974)
245. Н.Е.Кузьмина, Е.С.Осипова, В.С.Кузьмин, В.Б.Ситников. *Хим.-фарм. журн.*, **39** (12), 24 (2005)
246. M.P.Wentland, W.Duan, D.J.Cohen, J.M.Bidlack. *J. Med. Chem.*, **43**, 3558 (2000)
247. С.С.Крылов. *Хим.-фарм. журн.*, **26** (7–8), 122 (1992)
248. T.Li, Y.Fujita, K.Shiotani, A.Miyazaki, Y.Tsuda, A.Ambo, Y.Sasaki, Y.Jinsmaa, E.Marczak, S.D.Bryant, S.Salvadori, L.H.Lazarus, Y.Okada. *J. Med. Chem.*, **48**, 8035 (2005)
249. S.Salvadori, G.Balboni, R.Guerrini, R.Tomatis, C.Bianchi, S.D.Bryant, P.S.Cooper, L.H.Lazarus. *J. Med. Chem.*, **40**, 3100 (1997)
250. P.W.Shiller, T.M.Nguyen, G.Weltrowska, B.Wilkers, J.Marsden, C.Lemieux, N.Chung. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 11871 (1992)
251. P.A.Temussi, S.Salvadori, P.Amodeo, C.Bianchi, R.Guerrini, R.Tomatis, L.H.Lazarus, T.Tancredi. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **198**, 933 (1994)
252. P.W.Schiller, T.M.-D.Nguyen, G.Weltrowska, B.Wilkes, B.J.Marsden, R.Schmidt, N.N.Chung. In *Peptides: Chemistry and Biology*. (Eds R.S.Hodges, J.A.Smith). ESCOM, Amsterdam, 1994. P. 483
253. P.W.Schiller, G.Weltrowska, R.Schmidt, I.Berezowska, T.M.-D.Nguyen, C.Lemieux, N.N.Chung, K.A.Carpenter, B.C.Wilkes. *J. Recept. Signal Transduct.*, **19**, 573 (1999)
254. G.Balboni, R.Guerrini, S.Salvadori, C.Bianchi, D.Rizzi, S.D.Bryant, L.H.Lazarus. *J. Med. Chem.*, **45**, 713 (2002)
255. G.Balboni, S.Salvadori, R.Guerrini, L.Negri, E.Giannini, S.D.Bryant, Y.Jinsmaa, L.H.Lazarus. *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 5435 (2003)
256. G.Balboni, R.Guerrini, S.Salvadori, R.Tomatis, S.D.Bryant, C.Bianchi, M.Atila, L.H.Lazarus. *Biol. Chem.*, **378**, 19 (1997)
257. G.Balboni, S.Salvadori, R.Guerrini, L.Negri, Y.Jinsmaa, S.D.Bryant, L.H.Lazarus. *J. Med. Chem.*, **45**, 5556 (2002)
258. P.Grundt, I.A.Williams, J.W.Lewis, S.M.Husbands. *J. Med. Chem.*, **47**, 5069 (2004)
259. R.Schwyzler. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **297**, 3 (1977)
260. P.S.Portoghese, S.T.Moe, A.E.Takemori. *J. Med. Chem.*, **36**, 2572 (1993)
261. C.E.Lin, A.E.Takemori, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **36**, 2412 (1993)
262. P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **34**, 1757 (1991)

263. C.Wang, I.J.McFadyen, J.R.Traynor, H.I.Mosberg. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 2685 (1998)
264. A.W.Lipkowski, S.W.Tam, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **29**, 1222 (1986)
265. A.E.Takemori, P.S.Portoghese. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **32**, 239 (1992)
266. Y.Peng, S.M.Keenan, Q.Zhang, V.Kholodovych, W.J.Welsh. *J. Med. Chem.*, **48**, 1620 (2005)
267. A.Coop, R.B.Rothman, C.Dersch, J.Partilla, F.Porreca, P.Davis, A.E.Jacobson, K.C.Rice. *J. Med. Chem.*, **42**, 1673 (1992)
268. P.S.Portoghese, M.Sultana, A.E.Takemori. *J. Med. Chem.*, **33**, 1714 (1990)
269. S.Ananthan, N.K.Khare, S.K.Saini, L.E.Seitz, J.L.Bartlett, P.Davis, C.M.Dersch, F.Porreca, R.B.Rothman, E.J.Bilsky. *J. Med. Chem.*, **47**, 1400 (2004)
270. J.S.Dixon, R.P.Sheridan, R.Nilakantan, R.Venkataraghavan. *J. Med. Chem.*, **29**, 899 (1986)
271. J.S.Mason, I.Morize, P.R.Menard, D.L.Cheney, C.Hulme, R.F.Labaudiniere. *J. Med. Chem.*, **42**, 3251 (1999)
272. D.Bernard, A.Coop, A.D.MacKerell Jr. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 3101 (2003)
273. J.S.Mason. In *Molecular Similarity in Drug Design*. (Ed. P.M.Dean). Blackie Academic and Professional, Glasgow, 1995. P. 138
274. A.C.Good, J.S.Mason. In *Reviews in Computational Chemistry. Vol. 7*. (Eds K.B.Lipkowitz, D.B.Boyd). VCH, New York, 1996. P. 67
275. *Chem-X Software*. Oxford Molecular, Medawar Centre, Oxford Science Park, Oxford OX4 4GA, England
276. *QUANTA*. Molecular Simulations Inc., University of York; York, UK; Sybyl, Tripos Inc., St. Louis, MO
277. *CATALYST*. Accelrys, Inc. 10188 Telesis Court, Suite 100 San Diego, CA 92121, USA (<http://www.accelrys.com>)
278. In *The Practice of Medicinal Chemistry*. (3rd Ed.). (Ed. C.G.Wermuth). Prestwick Chemical Inc., Illkirch, France, 2008. P. 215
279. S.L.Dixon, A.M.Smondryev, S.R.Rao. *Chem. Biol. Drug Des.*, **67**, 370 (2006)
280. *MOE*. The Chemical Computing Group, Suite 910 – 1010 Sherbrooke St. W, Montreal, Canada H3A 2R7 (<http://www.chemcomp.com>)
281. N.J.Richmond, P.Willett, R.D.Clark. *J. Mol. Graph. Model.*, **23**, 199 (2004)
282. S.J.Cottrell, V.J.Gillet, R.Taylor, D.J.Wilton. *J. Comput.-Aid. Mol. Des.*, **18**, 665 (2004)
283. G.Wolber, T.Langer. *J. Chem. Inf. Model.*, **45**, 160 (2005)
284. N.Bauman, R.Venkataraghavan. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **29**, 251 (1989)
285. M.A.Hendrickson, M.C.Nicklaus, G.W.A.Milne, D.Zaharevitz. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **33**, 155 (1993)
286. H.M.Berman, J.Westbrook, Z.Feng, G.Gilliland, T.N.Bhat, H.Weissig, I.N.Shindyalov, P.E.Bourne. *Nucleic Acids Res.*, **28**, 235 (2000)
287. P.Willett. *J. Chemometr.*, **6**, 289 (1992)
288. Y.C.Martin. *J. Med. Chem.*, **35**, 2145 (1992)
289. D.T.Manallack. *Drug Discov. Today*, **1**, 231 (1996)
290. D.P.Marriott, I.G.Dougall, P.Meghani, Y.-J.Liu, D.R.Flower. *J. Med. Chem.*, **42**, 3210 (1999)
291. Y.Kurogi, O.F.Guner. *Curr. Med. Chem.*, **8**, 1035 (2001)
292. T.Langer, E.-M.Krovat. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.*, **6**, 370 (2003)
293. T.Langer, R.D.Hoffmann. *Exp. Opin. Drug Discov.*, **1**, 261 (2006)
294. F.Manetti, M.Botta, A.Tafi. In *Pharmacophores and Pharmacophore Searches*. (Eds T.Langer, R.D.Hoffman). Wiley-VCH, Weinheim, 2006. P. 253
295. Н.Е.Кузьмина, Е.С.Осипова, В.С.Кузьмин, В.Б.Ситников. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1462 (2006)
296. D.S.Fries, P.S.Portoghese. *J. Med. Chem.*, **19**, 1155 (1976)
297. P.R.Andrews, E.J.Lloyd. *Med. Res. Rev.*, **2**, 355 (1982)
298. J.A.Lawson, A.Cheng, J.DeGraw, G.Frenking, E.Uyeno, L.Toll, G.H.Loew. *J. Med. Chem.*, **31**, 2015 (1988)
299. A.F.Casy, G.H.Dewar, O.A.Al-Deeb. *Chirality*, **1**, 202 (1989)
300. A.F.Casy, G.H.Dewar, O.A.Al-Deeb. *Magn. Reson. Chem.*, **27**, 964 (1989)
301. B.E.Kane, B.Svensson, D.M.Ferguson. *AAPS J.*, **8**, E126 (2006)
302. F.I.Carroll. *J. Med. Chem.*, **46**, 1775 (2003)
303. G.H.Loew. *Modern Drug Discov.*, **2**, 24 (1999)
304. A.Coop, A.Jacobson. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 357 (1999)
305. T.A.Munro, M.A.Rizzacasa, B.L.Roth, B.A.Toth, F.Yan. *J. Med. Chem.*, **48**, 345 (2005)
306. Е.С.Осипова. Дис. канд. хим. наук. МГУ, Москва, 2007
307. H.Kubinyi. In *The Encyclopedia of Computational Chemistry. Vol. 1*. (Eds P.R.Schleyder, N.L.Alliger, T.Clark). Wiley, Chichester, 1998. P. 448

DEVELOPMENT OF THE VIEWS ON THE INTERACTION OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES WITH OPIATE RECEPTORS

N.E.Kuzmina, V.S.Kuzmin

State Research Institute of Organic Chemistry and Technology

23, Shosse Entuziastov, 111024 Moscow, Russian Federation, Fax +7(495)673–2405

I.M.Sechenov First Moscow State Medical University

8/2, Ul. Trubetskaya, 119991 Moscow, Russian Federation

The development of the views on the molecular mechanisms of action of pharmaceutical substances on the opiate receptors is briefly outlined. The state-of-the-art viewpoint on the mechanism of activation of opiate receptors based on the chimeric and site-directed mutagenesis of cloned opiate receptors and computer simulation of the reception area and ligand-receptor complexes are considered. The three-dimensional models of the opiate pharmacophore obtained using traditional strategy and by comparative analysis of molecular fields are considered in detail.

Bibliography — 307 references.

Received 5th July 2010