



УДК 577.152.313'104.2:547.92:541.69

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО КОНФОРМАЦИОННОГО  
АНАЛИЗА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМА  
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ УГЛЕВОДНЫХ КОМПОНЕНТОВ  
СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ С РЕЦЕПТОРОМ

*Шамовский И. Л., Баренбойл Г. М., Овчинников А. А.\**

*Научно-исследовательский институт по биологическим испытаниям  
химических соединений, Кунава, Московской обл.;*

*\* Институт химической физики Академии наук СССР, Москва*

Изучены конформационные возможности сахарных остатков в молекулах сердечных моногликозидов. Сопоставление пространственных положений атомов кислорода в этих остатках в энергетически допустимых конформациях позволило однозначно определить: 1) продуктивные конформации сахарных остатков; 2) их функциональные группы, которые связываются с рецептором; 3) координаты области, в которую должны попасть атомы кислорода этих групп для образования такой связи. Показано, что конформационная лабильность и наличие нескольких кислородоудерживающих групп первого моносахаридного остатка сердечных гликозидов обуславливают возможность существования у него нескольких продуктивных конформаций. Сформулированы правила для качественного предсказания вклада углеводных компонентов в биологическую активность сердечных гликозидов. Предложен ряд моносахаридных остатков, благоприятных и неблагоприятных для биологической активности карденолидов.

Агликоны сердечных гликозидов (кардеполидов и буфадиенолидов) представляют собой стероиды с ненасыщенным лактонным кольцом в 17 $\beta$ -положении. Сахарная цепь, содержащая от одного до пяти моносахаридных остатков, присоединена к атому С3 стероида. В природных сердечных гликозидах найдено 35 различных моносахаридов.

Установлено, что фармакологическое действие сердечных гликозидов обусловлено их взаимодействием со специфическим рецептором (дигиталис-рецептором)  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азы клеток сердечной мышцы, которое приводит к ингибированию этого фермента [1]. Специфичность фармакологического действия сердечных гликозидов, как и всех других лекарственных гликозидов, определяют их агликоны [1, 2]. Однако сердечные агликоны в отличие от гликозидов не обладают достаточно высоким сродством к сердечной мышце [3], они, как правило, значительно менее активны, чем гликозиды (в среднем в 5 раз) [3, 4] и быстро дезактивируются в печени [1]. Поэтому наличие углеводного фрагмента в сердечных гликозидах в значительной мере определяет их терапевтическую ценность.

Установлено, что количество и тип моносахаридных остатков в углеводной части сердечных гликозидов могут значительно меняться без существенного влияния на биологическую активность соединений [1–5]. Для сахарных цепей, как правило, характерна высокая конформационная лабильность (гибкость) благодаря относительной свободе вращения вокруг гликозидных связей [6]. Эти факты не укладываются в традиционные представления о стереоспецифичности лиганд-рецепторного взаимодействия. Механизм взаимодействия углеводных компонентов сердечных гликозидов с рецептором остается совершенно не исследованным.

Некоторые авторы полагают, что углеводные компоненты сердечных гликозидов «косвенно» благоприятствуют прочности фермент-гликозидного комплекса благодаря своим гидрофильным свойствам [1, 7]. Другие считают, что в дигиталис-рецепторе существует сахарсвязывающий участок, характеризующийся определенным «созвездием» биологически зна-

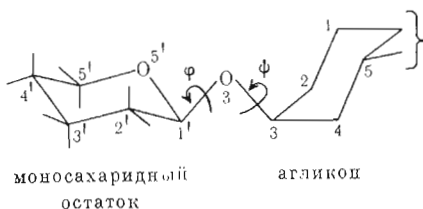
чимых функциональных групп [8—10]. Наиболее подробная модель сахар-связывающего участка дигиталис-рецептора, полученная Йода в результате анализа структурно-функциональных отношений в ряду сердечных моногликозидов (монозидов) [9, 10], представлена в работе [9]. Автор полагает, что этот участок содержит протоноакцепторный, протонодонорный и гидрофобный центры, которые строго определенным образом ориентированы друг относительно друга. Несмотря на то что эта модель позволяет объяснить некоторые закономерности связи строения моносахаридного остатка с его вкладом в биологическую активность сердечных монозидов, она не является достоверной, так как основана на ошибочной предпосылке, что пиранозное кольцо  $\alpha$ -*L*-рамнозы в составе монозидов находится в форме кресла *C1* (экспериментальные данные, опровергающие это положение, приведены в работе [4]).

Наибольшей кардиотонической активностью обладают, как правило, моногликозиды. Даже в тех случаях, когда более активными оказываются би- или триозиды, вклад первого моносахаридного остатка почти всегда остается доминирующим над вкладами остальных остатков [3—5, 8, 11]. Вследствие этого ключ к пониманию наблюдаемой связи строения углеводной цепи с величиной ее вклада в биологическую активность сердечных гликозидов лежит в особенностях строения и конформационных возможностей именно их первых моносахаридных остатков.

В настоящей работе исследуется механизм взаимодействия углеводных компонентов сердечных гликозидов с рецептором на основе анализа конформационных особенностей моносахаридных остатков, непосредственно связанных с агликоном.

Конформации почти всех моносахаридов, встречающихся в природных сердечных гликозидах, определены в работе [12] с использованием правила Ривса и некоторых экспериментальных данных. Результаты этой работы свидетельствуют о том, что все моносахариды, за исключением  $\alpha$ -*L*-талометиллозы,  $\alpha$ -*L*-аковенозы,  $\alpha$ -*L*-валлорозы и 2-*O*-ацетил- $\alpha$ -*L*-валлорозы, находятся в составе сердечных гликозидов в пиранозной форме и практически в одной конформации кресла: *C1* для  $\beta$ -*D*-ряда и *1C* для  $\alpha$ -*L*-ряда.

Относительная свобода вращения вокруг гликозидных связей *C3*—*O3* и *O3*—*C1'* в молекулах сердечных гликозидов обуславливает конформационную лабильность сахарного остатка относительно агликона\*:



Торсионные углы  $\phi$  и  $\psi$  однозначно определяют относительное пространственное расположение стероида и моносахарида.

Для изучения конформационных возможностей первого моносахаридного остатка сердечных гликозидов были построены конформационные карты для 12 монозидов (рис. 1). При этом агликоновые части молекул заменялись кольцами *A* и *B* стероида с метильной группой *C19*; валентный угол гликозидной связи принимался равным  $115^\circ$ ; вращение метильных и гидроксильных групп исключалось. Геометрия сахарных остатков и агликонов была предварительно определена посредством минимизации их потенциальных энергий в вакууме.

При построении конформационных карт углы вращения  $\phi$  и  $\psi$  отсчитывались по правилам IUPAC [13]; сканирование по ним проводилось с

\* Штрихами обозначаются атомы сахарного остатка в отличие от атомов агликона.

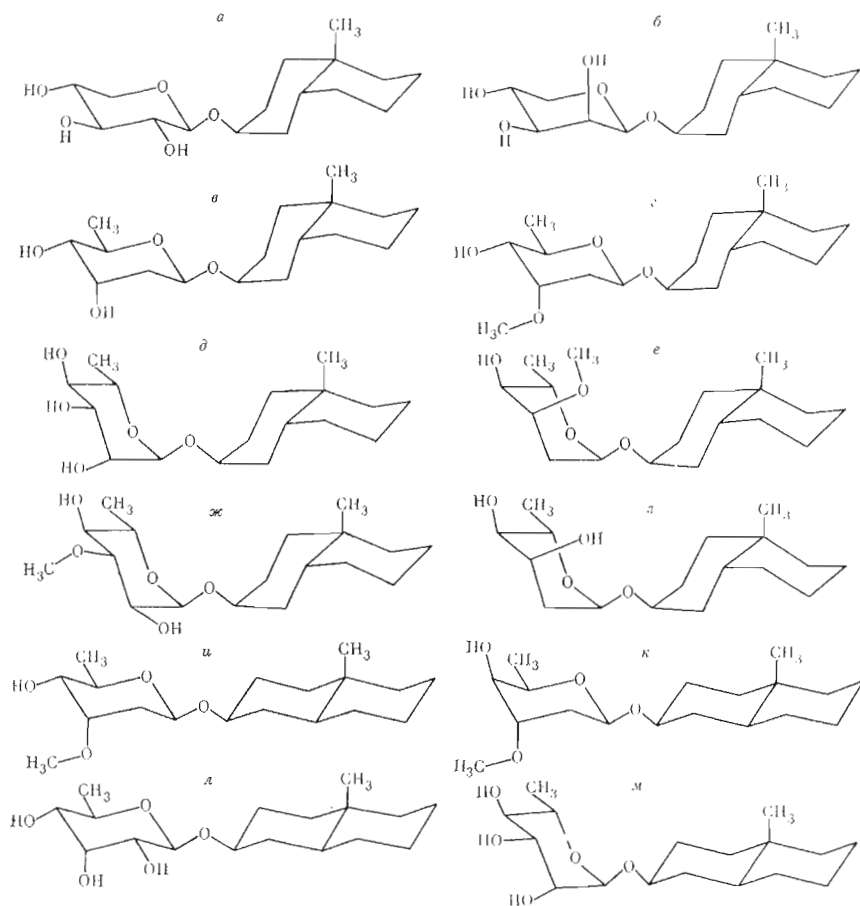


Рис. 1. Конформационные формулы фрагментов монозидов, для которых строились конформационные карты: *a* —  $\beta$ -*D*-ксилозид, *б* —  $\beta$ -*D*-ликсозид, *в* —  $\beta$ -*D*-дигитоксозид, *г* —  $\beta$ -*D*-цимарозид, *д* —  $\alpha$ -*L*-рамнозид, *е* —  $\alpha$ -*L*-цимарозид, *ж* —  $\alpha$ -*L*-теветозид, *з* —  $\alpha$ -*L*-дигитоксозид дигитоксигенина, *и* —  $\beta$ -*D*-цимарозид, *к* —  $\beta$ -*D*-сарментозид, *л* —  $\beta$ -*D*-алло-метилозид, *м* —  $\alpha$ -*L*-рамнозид, узаригенина. Агликоновые части молекул заменялись кольцами *A* и *B* стероида

шагом  $40^\circ$ . Потенциальная энергия молекул рассчитывалась в рамках модели атом-атомных потенциальных функций [14], причем учитывались торсионная и невалентная составляющие энергии.

Результаты расчетов свидетельствуют о том, что характер конформационного равновесия определяется главным образом конфигурацией гликозидной связи агликона с сахаром. Гликозидная связь может быть расположена по отношению к каждой из этих частей либо аксиально (*a*), либо экваториально (*e*). В природных сердечных гликозидах встречаются все четыре возможные конфигурации гликозидной связи: (*aa*), (*ae*), (*ea*) и (*ee*) [4] (рис. 1). На рис. 2 изображены типичные конформационные карты для всех этих случаев. На форму разрешенных конформационных областей оказывает влияние также наличие экваториальной гидроксильной группы  $O2'e$  у сахаров  $\beta$ -*D*- и  $\alpha$ -*L*-рядов, а также аксиальной гидроксильной группы  $O2'a$  у моносахаридов  $\beta$ -*D*-ряда. В первом случае значительно увеличивается энергия конформаций в зоне *K* (рис. 2*a—г*) из-за отталкивания экваториального кислорода  $O2'e$  моносахарида от атома  $H3$  стероида, что приводит к запрещению этой конформационной зоны. Во втором случае энергетически запрещенной становится зона *N* (рис. 2*б, г*) благодаря отталкиванию аксиального атома  $O2'a$  от того же самого атома агликоновой части. Наличие заместителей во всех других положениях пиранозного кольца и их конфигурация не оказывают заметного влияния на форму энергетически допустимых конформационных областей глико-

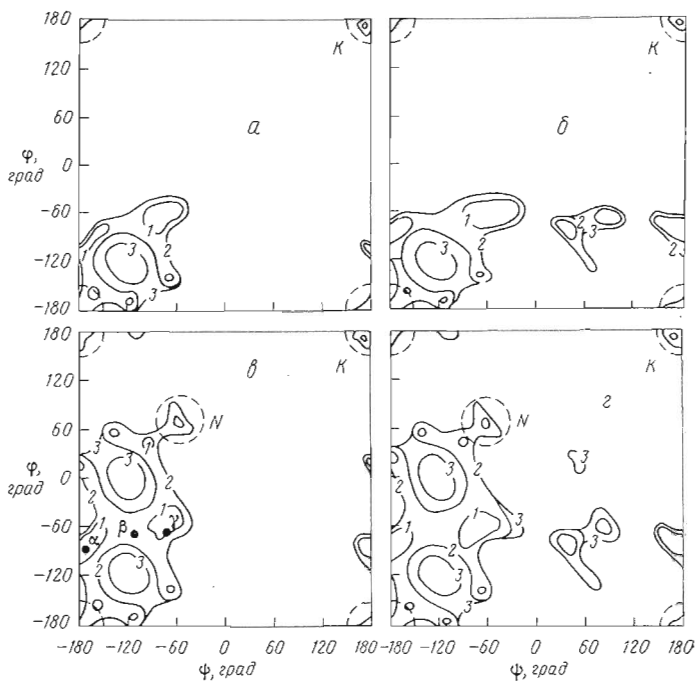


Рис. 2. Конформационные карты сердечных монозидов: *a* —  $\alpha$ -*L*-дигитоксозида дигитоксигенина, *b* —  $\alpha$ -*L*-рамнозида узаригенина, *c* —  $\beta$ -*D*-дигитоксозида дигитоксигенина, *d* —  $\beta$ -*D*-сарментозида узаригенина. Карты строились сканированием по углам  $\psi$  (C4—C3—O3—C1') и  $\phi$  (C3—O3—C1'—O5') с шагом  $10^\circ$ . На картах изображены эквиэнергетические линии, отвечающие энергиям 1, 2 и 3 ккал/моль. Пунктиром обведены зоны *K* и *N*, запрещенные для 2-оксисахаров. На карту *c* нанесены точки, характеризующие экспериментально определенные конформации первого сахара дигоксина ( $\alpha$ ), гитоксина ( $\beta$ ) и актодигина ( $\gamma$ )

зидов. Потенциальные поверхности во всех случаях содержат большое число локальных минимумов, разделенных низкими энергетическими барьерами (как правило, ниже 2 ккал/моль).

На рис. 2*в* представлены рентгеноструктурные данные для трех гликозидов с конфигурацией (*ea*) первой гликозидной связи: дигоксина [15], гитоксина [16] и актодигина [17]. Наблюдаемая конформация первого моносахаридного остатка относительно агликона в каждой из этих молекул не соответствует локальным минимумам потенциальной поверхности, а находится в пределах энергетически допустимой конформационной области, что, во-первых, подтверждает гибкость сахарных остатков и, во-вторых, свидетельствует о достоверности определенных нами границ этих областей.

Представленные на рис. 2 карты отражают конформационные возможности сердечных монозидов с любым моносахаридом, удовлетворяющим следующим требованиям: 1) сахар принадлежит к конфигурационному ряду  $\beta$ -*D* или  $\alpha$ -*L*; 2) сахар находится в составе гликозида в пиранозной форме; 3) кольцо сахара находится в растворе главным образом в одной из двух возможных конформаций кресла: *C1*, если сахар  $\beta$ -*D*-ряда, и *1C*, если  $\alpha$ -*L*-ряда; 4) сахар не имеет в положении 2' функциональной группы, отличной от гидроксильной.

Этим условиям удовлетворяют 23 из 35 различных первых моносахаридных остатков известных карденолидов [4], причем эти моносахариды осуществляют связь с агликоном в подавляющем большинстве природных карденолидов установленного строения: в 302 из 329. Поэтому определенный нами характер конформационного равновесия первого сахара относительно агликона природных карденолидов имеет практически универсальное значение.

Решающим этапом на пути к установлению конформационно-функцио-

нальных отношений физиологически активных соединений является определение их продуктивных (биологически активных) конформаций, т. е. таких, в которых эти соединения взаимодействуют с рецептором [18]. При этом для гибких физиологически активных соединений (в частности, гликозидов) необходимо принимать во внимание всю энергетически разрешенную конформационную область, а не ограничивать ее набором равновесных конформаций (рис. 2) [19]. Только такой подход в принципе может привести к достоверному определению биологически активных конформаций этих молекул.

Итак, выявление продуктивных конформаций благоприятных углеводных компонентов сердечных гликозидов должно состоять в поиске их энергетически допустимых конформаций, обеспечивающих такое относительное пространственное расположение их ключевых функциональных групп, которое не может быть реализовано в энергетически приемлемых конформациях всех неблагоприятных углеводных компонентов этих соединений\*.

При выявлении продуктивных конформаций первого моносахаридного остатка сердечных гликозидов мы полагали, что этот моносахаридный остаток закрепляется на рецепторе благодаря образованию хотя бы одной водородной связи и что существует хотя бы одна функциональная группа рецептора, связывающая любой благоприятный углеводный компонент монозидов.

Прежде всего рассмотрим экспериментальные данные. Мы исходили из токсичности сердечных гликозидов для кошек, так как по этим испытаниям имеется наиболее богатый экспериментальный материал [4]. Эти данные привлекательны еще и тем, что они коррелируют со степенью биологической активности гликозидов на человеке [3]. Естественно, что летальная доза для кошки  $LD_{100}$  определяется не только взаимодействием гликозидов с рецептором. Накладывает отпечаток и распределение соединений в организме, и их биотрансформация. Однако для сердечных гликозидов установлено, что биологическая активность соединений на животных зависит главным образом от прочности их связи с  $Na^+, K^+$ -АТФазой [1].

Биологическим индексом  $W$  данного моносахаридного остатка, связанного с определенным агликоном, мы будем называть отношение активностей соответствующего гликозида и его агликона. Для благоприятных моносахаридов  $W > 1$ .

В табл. 1 приведены биологические индексы некоторых моносахаридов, связанных с дигитоксигенином, строфантидином, сарментогенином, узаригенином и коротоксигенином, рассчитанные на основании данных работы [4]. В работе [20] показано, что сродство сердечных агликонов к рецептору определяется в основном их топографией, т. е. взаимной пространственной ориентацией их гидроксильного атома ОЗ, метильной группы С18 и карбонильного атома кислорода боковой цепи. Названные пять кардиостероидов распадаются по топографии на две группы вследствие различия в характере сочленения их колец А и В. К первой группе относятся дигитоксигенин, строфантин, сарментогенин (соединения А/В-цис-ряда), ко второй — узаригенин и коротоксигенин (соединения А/В-транс-ряда) [20]. Так как углеводные остатки сердечных гликозидов прикрепляются к рецептору после образования комплекса фермент — агликон [9—11], именно топография агликона определяет ориентацию гликозида относительно рецептора в фермент-гликозидном комплексе. Поэтому закономерности взаимосвязи структуры сахаров с их биологическим индексом следует искать отдельно в каждой топографической группе связанных с ними агликонов.

Представленные в табл. 1 данные о связи структуры с биологическим индексом углеводных компонентов карденолидов позволяют сформулиро-

---

\* Углеводные компоненты гликозидов называют благоприятными, если они повышают биологическую активность агликонов, и неблагоприятными в противном случае [3].

## Биологический индекс сахарных остатков сердечных монозидов

Моносахарид	Заместители пиранозного кольца				Биологический индекс W* сахара для агликонов**, отн. ед.				
	2'	3'	4'	5'	I	II	III	IV	V
<i>β-D</i> -ряд моносахаридов									
Цимароза	—	<i>a</i> OCH <sub>3</sub>	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	2,21	3,96	3,10	—	0,72
Дигиноза	—	<i>e</i> OCH <sub>3</sub>	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	3,42	5,49	—	0,62	—
Теветоза	<i>e</i> OH	<i>e</i> OCH <sub>3</sub>	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	3,08	4,39	—	—	—
Дигиталоза	<i>e</i> OH	<i>e</i> OCH <sub>3</sub>	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	3,27	—	4,33	—	0,68
2-Дезоксиглюкоза	—	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	CH <sub>2</sub> OH	3,36	—	—	—	—
Бовиноза	—	<i>a</i> OH	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	5,56	—	—	3,67
Дигитоксоза	—	<i>a</i> OH	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	4,76	—	—	—
Гулометилоза	<i>e</i> OH	<i>a</i> OH	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	4,59	—	—	—
Аллометилоза	<i>e</i> OH	<i>a</i> OH	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	3,74	—	—	5,05
Глюкоза	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	CH <sub>2</sub> OH	—	4,99	—	0,85	—
Ксилоза	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	—	—	3,94	—	—	—
Сарментоза	—	<i>a</i> OCH <sub>3</sub>	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	—	3,10	4,10	1,34
Фукоза	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	—	—	0,98	—
<i>α-L</i> -ряд моносахаридов									
Рамноза	<i>a</i> OH	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	2,29	5,58	6,55	4,13	—
Теветоза	<i>e</i> OH	<i>e</i> OCH <sub>3</sub>	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	3,34	—	—	—	—
Олеандроза	—	<i>e</i> OCH <sub>3</sub>	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	3,74	—	3,80	—	—
Цимароза	—	<i>a</i> OCH <sub>3</sub>	<i>e</i> OH	CH <sub>3</sub>	3,18	—	—	—	—
Манноза	<i>a</i> OH	<i>e</i> OH	<i>e</i> OH	CH <sub>2</sub> OH	—	6,58	—	—	—
Дигиноза	—	<i>e</i> OCH <sub>3</sub>	<i>a</i> OH	CH <sub>3</sub>	—	—	4,38	—	—

\* Отношение биологических активностей гликозида и его агликона.

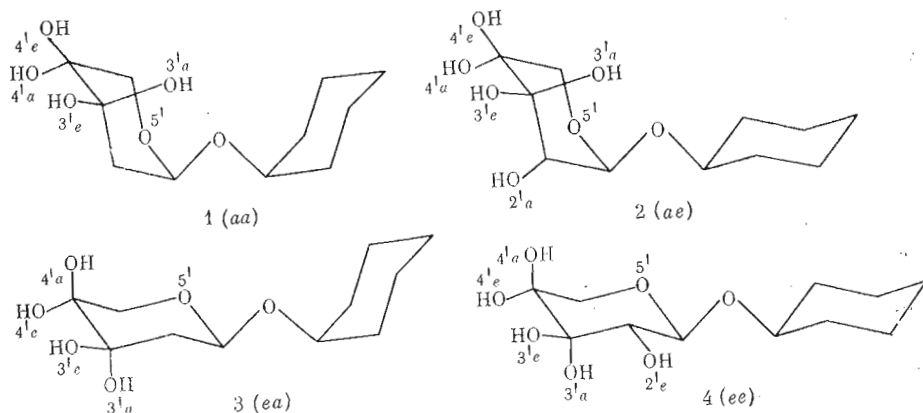
\*\* Римскими цифрами обозначены агликоны: I — дигитоксигенин, II — строфантинин, III — сарментогенин, IV — узаригенин, V — коротоксигенин.

вать ряд закономерностей. Во-первых, функциональные группы первого моносахаридного остатка карденолидов, участвующие в образовании водородных связей с рецептором (ключевые группы), выступают в этих связях в качестве акцепторов. Во-вторых, ключевые атомы кислорода первого моносахаридного остатка гликозидов группы дигитоксигенина находятся среди O3', O4', O5', а гликозидов группы узаригенина — среди O2', O3', O4', O5'. В-третьих, в моносахаридных остатках *β-D*- и *α-L*-рядов монозидов топографической группы дигитоксигенина инвариантными\* являются изменения конфигураций функциональных групп O3' (3'a или 3'e) и O4' (4'a или 4'e). (Это обстоятельство обуславливает возможность существования большого разнообразия структур благоприятных углеводных остатков карденолидов.) В-четвертых, в моносахаридах *β-D*-ряда, связанных с агликоном группы узаригенина, инвариантно изменение конфигурации функциональной группы O4' (4'a или 4'e), а не аксиальной гидроксильной группы O3'a. Последняя закономерность свидетельствует о том, что атом O3'a моносахаридных остатков *β-D*-ряда в указанных гликозидах является ключевым, а атом O3'e нет. Эти четыре положения были использованы для определения биологически активных конформаций углеводных компонентов сердечных монозидов.

Так как конформационные особенности различных сахарных остатков монозидов с идентичными конфигурациями гликозидных связей имеют общие закономерности, то для описания наборов энергетически допустимых конформаций моносахаридов в разнообразных монозидах, содержащих четыре встречающиеся в природе конфигурации гликозидной связи,

\* Изменение конфигурации какой-либо функциональной группы сахарного остатка гликозида мы называем инвариантным, если при этом биологический индекс остатка значительно не уменьшается.

Были использованы следующие четыре модельные молекулы:



Для сопоставления возможных пространственных расположений атомов кислорода в этих моделях их циклогексановые кольца, имитирующие кольца *A* соответствующих кардиостероидов, фиксировались друг относительно друга идентично тому, как располагаются эти кольца при пространственном совмещении конформаций молекул дигитоксигенина (для моделей 1 и 3) и узаригенина (для моделей 2 и 4). В работе [20] изложен использованный способ совмещения конформаций сердечных агликонов и показано, что он имитирует их связывание с рецептором. Следовательно, совмещая таким образом циклогексановые кольца моделей, мы тем самым имитируем сорбцию агликонов сердечных гликозидов, соответствующих этим моделям, на рецепторе.

Положение пиранозных колец и гидроксильных групп модельных молекул в пространстве однозначно определялось парой углов вращения:  $\varphi$  и  $\psi$ . Каждой модели ставился в соответствие набор разрешенных значений таких пар, который определялся сканированием с шагом  $10^\circ$  по допустимым конформационным областям гликозидов, отвечающих этим моделям в пределах 3 ккал/моль. Размеры этих наборов оказались равными 136, 186, 253, 315 для моделей 1–4 соответственно.

Определение продуктивных конформаций четырех модельных молекул проводилось в два этапа. На первом этапе определялись их конформации, при которых один из вероятных ключевых атомов кислорода (см. выше) каждой из моделей 1–3 занимает одно и то же пространственное положение с атомом  $O_{3'a}$  модели 4, т. е. с тем, который является ключевым. На втором этапе из полученного набора пространственных положений этого атома выявлялись такие, которые может занять хотя бы один гетероатом благоприятных сахарных остатков сердечных монозидов и не может занять никакой гетероатом неблагоприятных остатков. Считалось, что атомы находятся в одном и том же пространственном положении, если расстояние ( $d$ ) между любыми двумя из них не превышает  $0,55 \text{ \AA}$  (численное значение параметра  $d$  определено на основании литературных данных по наблюдаемому разбросу длин водородных связей  $O \cdots H$  [21]).

Число различных сочетаний конформаций четырех моделей равно  $136 \times 186 \times 253 \times 315 = 2 \cdot 10^9$ . Так как в трех моделях априорно не известны ключевые атомы, число различных комбинаций координат всех вероятных ключевых атомов составляет  $2 \cdot 10^9 \times 5 \times 6 \times 5 = 3 \cdot 10^{11}$ . Полный перебор такого количества различных вариантов пространственного расположения гетероатомов моделей чрезвычайно затруднителен даже для современных ЭВМ. Поэтому на первом этапе алгоритма последовательно перебирали все допустимые конформации модели 4, а конформации остальных трех моделей перебирали только после того, как находили подходящую конформацию каждой из предыдущих моделей. Таким образом удалось обойти бесперспективные ветви дерева решений и тем самым снизить количество анализируемых вариантов на несколько порядков. После того как требуемая конформация каждой из четырех моделей была найдена, производили

поиск других одинаково ориентированных атомов кислорода разных моделей в этих конформациях, так как априорно не исключено, что моносахариды содержат несколько ключевых атомов, одновременно прикрепляющихся к рецептору.

Первый этап алгоритма был реализован на ЭВМ. В результате было получено множество конформаций четырех модельных молекул с одинаково расположенными гетероатомами. Ни в одной из этих четверок конформаций не было найдено других одинаково ориентированных атомов кислорода моделей, т. е. благоприятные сахарные остатки сердечных монозидов не могут иметь более одной общей водородной связи с рецептором. Кроме того, оказалось, что ни в какой из моделей 1–3 атом  $O5'$  не может занять одно и то же пространственное положение с атомом  $O3'a$  модели 4 при затрате энергии не более 3 ккал/моль.

На втором этапе среди всех полученных пространственных положений ключевого атома кислорода модели 4 выбирались только такие, в которые: 1) попадают атомы  $O3'a$  и  $O3'e$  либо  $O4'a$  и  $O4'e$  моделей 1 и 3; 2) не попадают никакие атомы кислорода модели 4, кроме атома  $O3'a$ . (Эти требования основаны на отмеченных выше закономерностях связи строения моносахаридных остатков гликозидов с их биологическим индексом.)

Оказалось, что существует только одно такое пространственное положение. Ему отвечают две конформации модели 4, имеющие одинаково расположенные атомы  $O3'a$ . В это положение могут попасть атомы  $O4'a$  и  $O4'e$  модели 1;  $O2'a$ ,  $O4'a$ ,  $O4'e$  модели 2;  $O3'a$ ,  $O3'e$ ,  $O4'a$  модели 3. Таким образом, инвариантность изменения конфигурации атомов  $O3'$  и  $O4'$  в соответствующих моделям 1 и 3 типах соединения моносахарида и агликона объясняется тем, что при любом сочетании конфигураций заместителей в этих положениях существует хотя бы один такой атом кислорода моносахаридного остатка, который может образовать водородную связь с рецептором, попав в эту область пространства (область  $S$ ).

Биологически активные конформации различных моносахаридных остатков сердечных гликозидов топографической группы дигитоксигенина представлены на рис. 3.

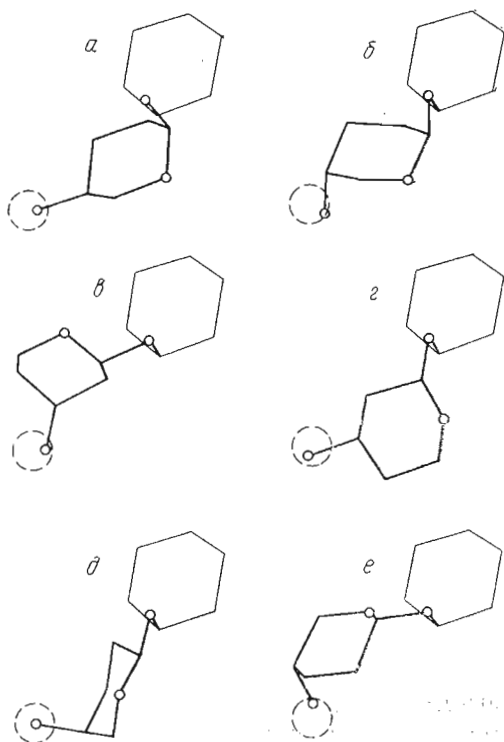
В табл. 2 приведены геометрические и энергетические параметры всех продуктивных конформаций моносахаридных остатков  $\alpha$ - $L$ - и  $\beta$ - $D$ -рядов относительно агликонов двух рассмотренных топографических групп. Согласно этим данным, глобальному минимуму энергии отвечает только такая конформация сахарного остатка  $\alpha$ - $L$ -ряда, соединенного с агликоном группы дигитоксигенина, при которой в водородную связь с рецептором вступает атом  $O4'e$  сахара. Ни одна из остальных конформаций, представленных в табл. 2, не соответствует минимуму энергии, даже локальному; для реализации этих конформаций необходимы определенные энергетические затраты.

В табл. 2 указаны также атомы кислорода первых сахарных остатков сердечных гликозидов, которые могут попасть в область  $S$  при допустимых энергетических затратах (не более 3 ккал/моль) на конформационное возбуждение моносахаридов. Если моносахаридный остаток не содержит этих атомов, он не является благоприятным компонентом сердечных монозидов. Вместе с тем наличие нескольких ключевых атомов у моносахарида обуславливает существование у него нескольких биологически активных конформаций. Максимально возможное количество продуктивных конформеров первых сахарных остатков сердечных гликозидов рассмотренных типов равно трем.

Итак, мы пришли к следующей вероятной модели взаимодействия фермент — сахар. Благоприятные моносахаридные остатки сердечных гликозидов образуют одну водородную связь с рецептором. При этом атом кислорода сахара, выступающий в качестве акцептора в этой связи, располагается в области  $S$ . Связь сахар — рецептор образуется при строго определенных конформациях первого сахарного остатка гликозидов. Конформационная лабильность углеводных компонентов сердечных монозидов и топография их агликонов во многом определяют способность этих компонентов эффективно взаимодействовать с рецептором. Эта модель дает ключ



Рис. 3. Диметрические проекции продуктивных конформаций сахарных остатков монозидов дигитоксигенина и геометрически подобных ему агликонов: *a*, *b* – моносахариды  $\alpha$ -L-ряда; *v* – *e* – моносахариды  $\beta$ -D-ряда. Область *S* обведена пунктиром. В ней расположены атомы  $O4'e$  (*a*),  $O4'a$  (*b*),  $O3'a$  (*v*),  $O3'e$  (*z*),  $O4'a$  (*d*),  $O4'a$  (*e*). У каждого моносахарида показаны только пиранозное кольцо и ключевой атом кислорода. Кольцо А стероида изображено тонкими линиями



к пониманию ряда фактов, которые не были использованы при ее построении.

1. Разность свободных энергий образования лиганд-рецепторного комплекса дигитоксигенина и его  $\beta$ -D-дигитоксозида, согласно данным работы [5], составляет 0,9 ккал/моль, что согласуется с энергией именно одной водородной связи в воде [22]. Тот факт, что углеводные компоненты в среднем в 5 раз повышают биологическую активность кардиостероидов рассмотренных топографических групп [3–5], является следствием того, что бoльцмановский фактор от одной водородной связи в воде при комнатной температуре равен примерно пяти.

2.  $\beta$ -D-Сарментоза, хотя и незначительно, повышает биологическую активность агликонов группы узаригенина, в то время как  $\beta$ -D-цимароза ее понижает (табл. 1). Первый моносахарид имеет ключевую функциональную группу  $O4'a$ , которая может близко подойти к области *S* при небольших энергетических затратах на его конформационное возбуждение (табл. 2), тогда как второй ее не имеет.

3. Неблагоприятность моносахаридов  $\beta$ -D-фукозы и  $\beta$ -D-дигиталозы (2*e*-оксисахара) для агликонов группы узаригенина (табл. 1) объясняется тем, что, хотя они и содержат атом  $O4'a$ , по конформации, необходимые для попадания этого атома в область *S*, не могут быть реализованы, поскольку конформационная зона *K* для этих сахаров запрещена (см. рис. 2, табл. 2).

4. Моносахариды  $\beta$ -D-ряда, которые имеют гидроксильную группу  $O4'a$ , как правило, более благоприятны для агликонов группы дигитоксигенина, чем те, которые этой группы не имеют (ср.  $\beta$ -D-бoивиноза и  $\beta$ -D-дигитоксоза,  $\beta$ -D-дигиталоза и  $\beta$ -D-теветоза,  $\beta$ -D-гулометилоза и  $\beta$ -D-аллометилоза,  $\beta$ -D-цимароза и  $\beta$ -D-сарментоза). Как следует из полученных результатов, наличие этой группы обуславливает существование двух биологически активных конформаций у 2*e*-дезоксисахаридов и одной у 2*e*-оксисахаров.

5. Для природных сердечных гликозидов характерны 6-дезоксиде- и 2,6-дидезоксисахара [2, 4]. Функциональные группы  $O3'$  и  $O4'$  присутствуют во всех моносахаридах, обнаруженных в природных сердечных глиц-

Характеристики теоретически предсказанных биологически активных конформаций моносахаридных остатков сердечных гликозидов

Агликон	$\alpha$ -L-Ряд (конформация 1C)				$\beta$ -D-Ряд (конформация C1)			
	Ключевой атом	$\varphi$ , град	$\varphi$ , град	$E$ , ккал/моль	Ключевой атом	$\varphi$ , град	$\varphi$ , град	$E$ , ккал/моль
Дигитоксигенин и его топографические аналоги	O4'e	-70	-50	0,0	O3'e	-110	30	1,8
	O4'a	-100	-50	1,0		-110	20	2,6
		-100	-40	1,8	O3'a	-170	-80	0,6
						-170	-90	0,7
					O4'a	170	170	0,9 *
						-110	-50	1,9
					-110	-40	2,5	
Узаригенин и его топографические аналоги	O4'e	-80	-60	0,2	O3'a	180	-70	1,0
	O4'a	-110	-60	1,4		-130	60	1,2
		180	-100	1,1		-140	40	2,1
		180	-110	1,6				
		180	-120	2,2	O4'a	170	170	0,7 **

\* Для 2e-оксисахаров энергия более 3 ккал/моль (конформационная зона K).

\*\* Для 2e-оксисахаров энергия более 3 ккал/моль (конформационная зона K). В этой конформации атом O4'a подходит к области S на минимальное возможное расстояние, не входя в нее.

козидах. Гидроксильная группа O2' не является функционально важной для подавляющего большинства моносахаридных остатков гликозидов. В отмеченном выше случае она даже мешает реализации одной из продуктивных конформаций сахара. Гидроксильная группа O6' также не является функционально необходимым элементом структуры углеводных компонентов гликозидов. Напротив, группы O3' и O4', согласно полученным результатам, могут прикреплять первые моносахаридные остатки гликозидов к рецептору. Таким образом, становится понятным, почему наличие групп O3' и O4' у моносахаридов природных сердечных гликозидов — консервативный элемент их структуры, а их конфигурация, так же как и конфигурация самих моносахаридных остатков, — переменный.

6. В первом положении сахарной цепи природных сердечных гликозидов моносахариды  $\beta$ -D-дигитоксоза и  $\alpha$ -L-рамноза встречаются наиболее часто [4]. Потенциальная энергия таких конформаций этих моносахаридов, которые необходимы для попадания их атомов кислорода O3'a и O4'e соответственно в область S, минимальна (табл. 2). Поэтому водородные связи с рецептором, образованные этими атомами, должны быть наиболее прочными (при прочих равных условиях). Следовательно, моносахариды  $\beta$ -D- и  $\alpha$ -L-рядов, содержащие эти группы, должны быть наиболее благоприятными для кардиостероидов, что и обуславливает их наиболее частую встречаемость в природных гликозидах.

Полученные данные не объясняют неблагоприятность  $\beta$ -D-дигитозы, имеющей гидроксильную группу O4'a, и моносахаридов, содержащих метоксильную группу O3'a, для агликонов топографической группы узаригенина (табл. 1). Эти факты являются, по-видимому, следствием стерического отталкивания метоксильных групп этих гликозидов от рецептора.

Полученные результаты, а также данные работы [20] позволяют предсказать элементы топографии дигиталис-рецептора Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФ-азы. В работе [20] показано, что во взаимодействии агликонов сердечных гликозидов с рецептором участвует гидрофобный участок рецептора, связывающий метильную группу C18 кардиостероида и ее ближайшее окружение, а также две его протондонорные группы, образующие водородные связи с атомами O3 и O23 стероида. Из результатов настоящей работы следует, что в прикреплении первого моносахаридного остатка сердечных гликозидов рассмотренных типов к рецептору участвует еще одна протондонорная группа дигиталис-рецептора, образующая водородную связь с любым из указанных выше ключевых атомов кислорода этого остатка.

Координаты функционально важных центров  $\beta$ -D-цимарозида дигитоксигенина в биологически активной конформации \*

Атом	x, Å	y, Å	z, Å	Атом	x, Å	y, Å	z, Å
O3	0,0	0,0	0,0	H18	8,8	-1,2	1,7
O23	13,4	0,0	0,0	H18	9,0	0,6	1,6
C18	8,3	-0,2	1,5	O3'a	-3,2	-1,9	-2,0
H18	7,5	-0,2	2,3				

\* Использована левосторонняя система координат; плоскость XOZ ориентирована параллельно связи C13—C18 стероида, причем  $z$  (C18) >  $z$  C(13).

В табл. 3 приведены декартовы координаты функционально важных центров монозида, находящегося в биологически активной конформации. По пространственному расположению этих центров можно воссоздать пространственное очертание дигиталис-рецептора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-азы.

Обращает на себя внимание строгая пространственная локализация трех протондонорных групп и гидрофобного участка рецептора, что жестко детерминирует пространственное и электронное строение молекул, способных эффективно взаимодействовать с ним. Конформационная лабильность углеводных остатков сердечных гликозидов, по-видимому, играет важную роль в углевод-рецепторном взаимодействии, так как именно она позволяет ряду атомов кислорода их первого моносахаридного остатка образовывать водородную связь с рецептором, а остальным остаткам не создавать для такой связи стерических препятствий. Гибкость углеводных компонентов дает возможность природе добиться желаемого эффекта без тщательного контроля точности геометрического соответствия гликозидов рецепторам. Более того, это свойство позволяет в значительной мере ослабить контроль за биосинтезом сахарных цепей гликозидов, поскольку именно благодаря гибкости углеводных компонентов и тип моносахаридных остатков, и характер их сочленения друг с другом и с агликоном могут меняться в довольно широких пределах без потери эффективности углевод-рецепторного взаимодействия.

Результаты данной работы позволяют конструировать благоприятные и неблагоприятные моносахаридные остатки для сердечных гликозидов. Поскольку присоединение большинства сахарных остатков к карденолидам значительно увеличивает сродство соединений к рецептору, гораздо труднее найти неблагоприятный сахарный компонент, который понижал бы стабильность комплекса, чем благоприятный. Хотя конструирование неблагоприятного моносахаридного остатка не имеет непосредственного практического значения, оно может существенно помочь выяснению механизма взаимодействия сердечных гликозидов с рецептором.

Конструирование моносахаридных остатков для сердечных гликозидов основано на следующем правиле: 1) среди допустимых конформаций благоприятного сахарного компонента должна быть хотя бы одна такая, в которой один из его гетероатомов попадает в область S; 2) неблагоприятный сахар не содержит таких конформаций. Это правило позволяет качественно предсказывать биологическую активность любых моносахаридных остатков  $\beta$ -D- и  $\alpha$ -L-рядов, которые в составе сердечных гликозидов рассмотренных типов находятся преимущественно в форме кресла C1 и C1' соответственно. Существенно, что такое предсказание проводится только на основании конформационной формулы моносахарида, без затраты машинного времени. Для этого достаточно узнать, имеет ли данный моносахаридный остаток хотя бы один ключевой атом (см. табл. 2). Примеры конструирования моносахаридных остатков для сердечных гликозидов приведены на рис. 4.

Интересно, что атом кислорода O5' пиранозного кольца, присутствующий во всех моносахаридах, не является функционально важным. Следовательно, пиранозное кольцо может быть заменено на циклогексановое

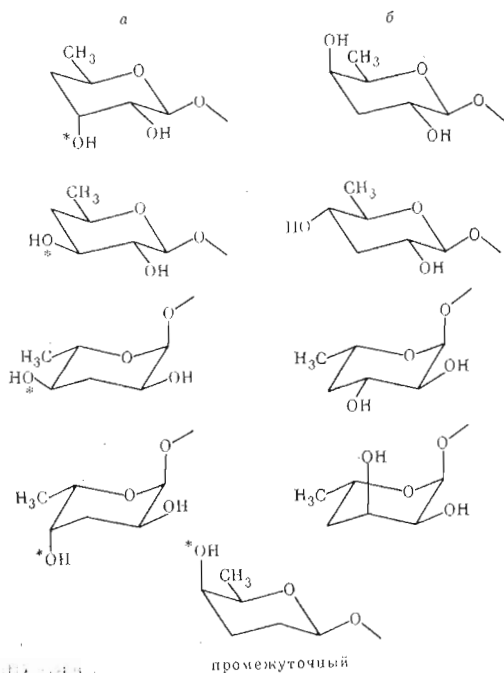


Рис. 4

Рис. 4. Конформационные формулы гипотетических сахарных остатков, благоприятных и неблагоприятных для биологической активности кардиостероидов, геометрически подобных дигитоксигенину или узаригенину: *а* — увеличивает, *б* — уменьшает прочность связывания кардиостероида с рецептором. Во всех моносахаридах группа  $\text{CH}_3$  может быть заменена на  $\text{CH}_2\text{OH}$ , пиранозное кольцо — на циклогексановое. Звездочкой обозначены атомы кислорода, образующие водородную связь с рецептором

Рис. 5. Структурные формулы и конформации (толстые линии) сконструированных жестких соединений, геометрически подобных продуктивным конформациям  $\alpha$ -*L*-рамнозида дигитоксигенина (*а*) и  $\beta$ -*D*-аллометилозида узаригенина (*б*) (тонкие линии). Стрелками показаны атомы кислорода соединений, образующие водородные связи с сахарсвязывающим участком рецептора

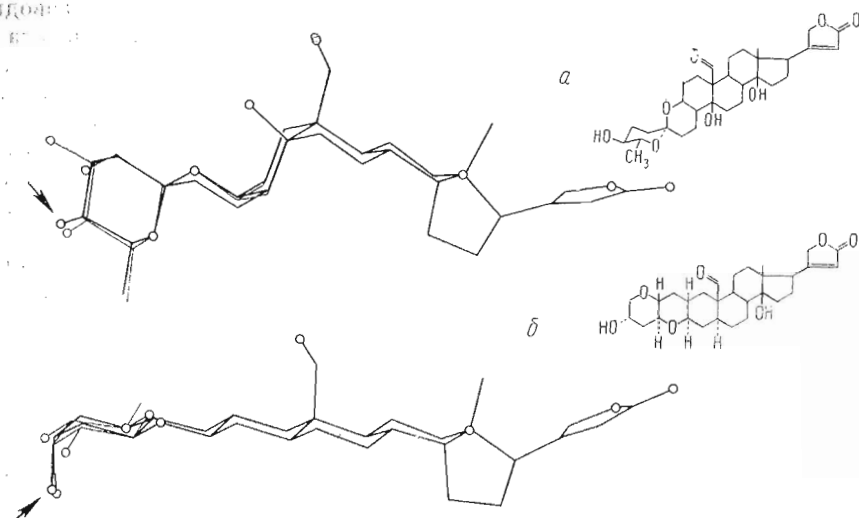


Рис. 5

без существенного падения кардиотонической активности соединений; это позволило бы значительно повысить химическую стабильность кардиотонических соединений. Неизбежные в этом случае изменения биологически активных конформаций не будут значительными, поскольку эти кольца имеют близкую геометрию.

Возможным способом значительного увеличения биологического индекса сахарного остатка является уменьшение свободной энергии продуктивных конформаций, т. е. повышение их заселенности. Заселенность этих конформаций была бы равна 100%, а прочность связи фермент — сахар — предельному значению, если бы удалось исключить конформационную лабильность моносахаридного остатка, «зафиксировать» его в одной из продуктивных конформаций. Такую фиксацию продуктивной конформации можно провести, например, введением дополнительных колец в гликозиды. Полученные соединения уже не будут гликозидами, но их средство к ре-

центру окажется, вероятно, выше, чем у известных природных карденолидов. На рис. 5 изображены структурные формулы, конформации двух таких соединений, а также биологически активные конформации аналогичных гликозидов. Хорошо видно, что геометрия жестких соединений совпадает с продуктивными конформациями соответствующих гибких гликозидов.

Можно надеяться, что синтез предложенных соединений (рис. 4, 5) и их последующие биологические испытания станут экспериментальной проверкой справедливости предложенных элементов механизма гликозид-рецепторного взаимодействия.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Repke K. R. H., Portius H. J. In: *Scientiae pharmaceuticae*. Prague: Czech. med. press, 1966, v. 1, p. 39-57.
2. Муравьева Д. А. Фармакогнозия. М.: Медицина, 1981. 657 с.
3. Физер Л., Физер М. Стероиды. М.: Мир, 1964. 982 с.
4. Макаревич И. Ф., Кемергелидзе Э. П., Кисличенко С. Г., Затула В. В., Резниченко А. А., Колесников Д. Г., Ковалев И. П. Карденолиды и буфадисенолиды. Тбилиси: Мецниереба, 1975. 227 с.
5. Erdmann E., Schoner W. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1974, v. 283, № 1, p. 335-356.
6. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. *Биоорган. химия*, 1981, т. 7, № 5, с. 721-728.
7. Takiura K., Yuki H., Okamoto Y., Takai H., Honda S. *Chem. Pharm. Bull.*, 1974, v. 22, № 11, p. 2263-2269.
8. Wilson W. E., Sivitz W. I., Hanna L. T. *Mol. Pharmacol.*, 1970, v. 6, № 5, p. 449-459.
9. Yoda A. *Mol. Pharmacol.*, 1973, v. 9, № 1, p. 51-60.
10. Yoda A. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1974, v. 242, p. 598-616.
11. Yoda S., Sarrif A. M., Yoda A. *Mol. Pharmacol.*, 1975, v. 11, № 5, с. 647-652.
12. Макаревич И. Ф. *Химия природн. соедин.*, 1969, № 4, с. 260-267.
13. Номенклатура IUPAC/IUB. *Молекулярн. биология*, 1973, т. 7, № 2, с. 289-303.
14. Шамовский И. Л., Баренбойм Г. М., Овчинников А. А. *Биоорган. химия*, 1982, т. 8, № 12, с. 1677-1690.
15. Go K., Kartha G., Chen J. P. *Acta crystallogr.*, 1980, v. B36, № 8, p. 1811-1819.
16. Go K., Kartha G. *Acta crystallogr.*, 1980, v. B36, № 12, p. 3034-3040.
17. Fullerton D. S., Yoshioka K., Rohrer D. C., From A. H. L., Ahmed K. *Mol. Pharmacol.*, 1981, v. 17, № 1, p. 43-51.
18. Валодис Ю. Ю., Никуфорович Г. В. *Биоорган. химия*, 1980, т. 6, № 6, с. 865-875.
19. Tollenare J. P., Moereels H., Raumaekers L. A. In: *Drug Design* / Ed. Ariens E. J. N. Y.: Acad. Press, 1980, № 10, p. 71-118.
20. Шамовский И. Л., Баренбойм Г. М., Овчинников А. А. *Биоорган. химия*, 1983, т. 9, № 8, с. 1112-1127.
21. Kier L. B. *Molecular orbital theory in drug research*. N. Y.-L.: Acad. Press, 1971. 258 p.
22. Klotz I. M., Franzen J. S. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1962, v. 84, № 18, p. 3461-3466.

Поступила в редакцию  
3.IV.1984  
После доработки  
22.V.1984

#### APPLICATION OF THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS TO STUDYING THE MECHANISM OF INTERACTION BETWEEN CARDIAC GLYCOSIDE SUGAR COMPONENTS AND RECEPTOR

SHAMOVSKY I. L., BARENBOIM G. M., OVCHINNIKOV A. A.\*

*Research Institute for Biological Testing of Chemical Compounds, Kupavna, Moscow region; \*Institute of Chemical Physics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The conformational possibilities for sugar components of cardiac monoglycosides have been analyzed. A comparison of spatial disposition of oxygen atoms in the energetically allowed conformations of these residues permitted unambiguous determination of 1) monosaccharide bioactive conformations; 2) their functional groups involved in the receptor binding; 3) coordinates of the region wherein the oxygen atom should be accommodated in order to be bound to the receptor. It was shown that the conformational lability and the presence of several oxygen-containing groups in the first monosaccharide residue underlie the possibility for coexistence of several productive conformations. The rules for qualitative predictions of the carbohydrate contribution into biological activity of cardiac glycosides were formulated. A number of monosaccharide residues were distinguished that should have either favorable or unfavorable effects on the biological activity of cardenolides.