



УДК 547.233.4.057:577.354.4

ТОПОГРАФИЯ ИОННОГО КАНАЛА НЕЙРОНАЛЬНОГО НИКОТИНОВОГО ХОЛИНОРЕЦЕПТОРА: ФАРМАКОХИМИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

© 2002 г. В. Е. Гмиро^{##}, Н. Б. Бровцына^{**}, С. Е. Сердюк^{***}, Н. Я. Лукомская^{**}

* Институт экспериментальной медицины РАМН,
197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., 69/71;

** Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
194223, Санкт-Петербург, просп., М. Тореза, 44;

*** Донецкий медицинский университет,
Украина, 340003, Донецк, просп. Ильича, 16

Поступила в редакцию 05.02.2001 г. Принята к печати 16.03.2001 г.

С целью изучения строения ионного канала нейронального никотинового холинорецептора синтезированы 43 бисаммониевых ганглиоблокатора. Изучены конформационные параметры молекул блокаторов, определена их активность на верхнем шейном симпатическом ганглии кошки и на парасимпатических ганглиях тонкой кишки морской свинки. Предложена модель участка связывания бисаммониевых ганглиоблокаторов в нейрональном ионном канале.

Ключевые слова: ионный канал; нейрональный никотиновый холинорецептор; ганглиоблокатор; конформационный анализ; связь структура–активность; ганглий симпатический, парасимпатический.

ВВЕДЕНИЕ

Успешный поиск новых лекарственных средств во многом зависит от знания той биологической мишени, на которую воздействует препарат. В частности, при действии веществ, блокирующих передачу нервных импульсов через вегетативные ганглии, такой мишенью может оказаться узнающий участок рецептора, ионный канал, холинорецептивная мембрана или внутриклеточные структуры.

В отношении ганглиоблокаторов общей формулы $[\text{Me}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3] \cdot 2\text{Br}^-$ (1) была установлена тесная корреляция между ганглиоблокирующим действием и каналоблокирующей активностью [1]. Следовательно, ганглиоблокирующая активность веществ может быть использована для оценки их каналоблокирующей активности. Такой подход был успешно использован для исследования некоторых особенностей строения канала нейронального никотинового холинорецептора (НХР) с помощью соединений общей формулы $[\text{Et}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3] \cdot 2\text{Br}^-$ (2), причем выводы, полученные из анализа данных по ганглиоблокирующей активности [2], оказались в хорошем соответствии с данными о каналоблокирующей активности этого же ряда веществ [3].

[#] Автор для переписки (эл. почта: g2119@online.ru).

Однако, если в ряду соединений (1) ганглиоблокирующая активность меняется монотонно при переходе от одного гомолога к другому [1], то в ряду соединений (2) минимальное изменение структуры $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{N}^+$ -группы в ряде случаев, например при переходе от Et_2MeN^+ к Et_3N^+ -группе, ведет к скачкообразному изменению активности [3]. Авторы предположили, что в данном случае более объемная Et_3N^+ -группа, в отличие от Et_2MeN^+ -группы, не способна проходить внутрь канала, и следовательно, блокирующая активность веществ формулы (2) определяется стерическими параметрами варьируемой $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{N}^+$ -группы [4]. В случае, если она способна проходить в канал, создается возможность более прочной двухточечной фиксации бискатионной молекулы, и блокирующая активность вещества резко увеличивается.

Таким образом, имеется реальная возможность использовать изучение связи структуры и активности в ряду ганглиоблокаторов для выявления особенностей строения биологической мишени, на которую они воздействуют – нейронального ионного канала НХР, в чем и заключается цель данной работы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез соединений (1), (2) проводили по следующей общей схеме:

Таблица 1. Свойства и активность соединений общей формулы $[\text{Et}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3] \cdot 2\text{Br}^-$ (2)

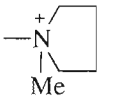
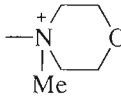
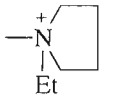
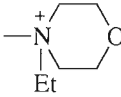
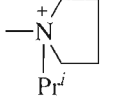
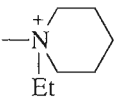
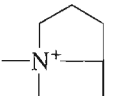
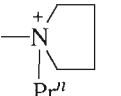
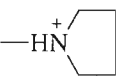
Номер	$-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3$	Брутто-формула	Выход, %*	Т.пл., °С	Заселенность, ΣP_1 , %**	Активность***	
						на симпатическом ганглии	на парасимпатическом ганглии
(I)	$-\text{NMe}_2\text{Et}$	$\text{C}_{15}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2$	51	257–259	100	7.70	25.80
(II)	$-\text{NMe}_3$	$\text{C}_{14}\text{H}_{34}\text{Br}_2\text{N}_2$	46	263–264	100	5.60	16.60
(III)		$\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2$	40	256–257	95.5	3.70	11.0
(IV)		$\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$	49	246–247	92.4	3.20	16.20
(V)	$-\text{NMeEt}_2$	$\text{C}_{16}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_2$	50	256–257	54	3.10	16.90
(VI)		$\text{C}_{17}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_2$	79	257–258	49.4	1.50	23.20
(VII)		$\text{C}_{17}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$	38	242–243	47.3	1.30	6.90
(VIII)		$\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{N}_2$	48	256–257	8.1	0.16	0.42
(IX)	$-\text{NMe}_2\text{Pr}^n$	$\text{C}_{16}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_2$	50	179–180	6.0	0.20	0.39
(X)		$\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{N}_2$	48	249–250	0.00	0.17	1.24
(XI)	$-\text{NEt}_3$	$\text{C}_{17}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{N}_2$	72	257–258	0.00	0.12	0.22
(XII)		$\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_2$	56	261–262	0.00	0.08	0.32
(XIII)		$\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{N}_2$	60	202–204	0.00	0.07	0.18
(XIV)	$-\text{SMe}_2$	$\text{C}_{13}\text{H}_{31}\text{Br}_2\text{NS}$	20	156–157	100	1.60	7.30
(XV)	$-\text{NH}_3$	$\text{C}_{11}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{N}_2$	36	181–183	100	0.70	1.80
(XVI)	$-\text{NHMe}_2$	$\text{C}_{13}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{N}_2$	50	176–178	100	1.80	6.20
(XVII)	$-\text{NHEt}_2$	$\text{C}_{15}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2$	67	159–160	79.6	1.10	4.40
(XVIII)		$\text{C}_{15}\text{H}_{34}\text{Br}_2\text{N}_2$	47	156–157	100	1.10	4.00
(XIX)	$-\text{NH}_2\text{Bu}^i$	$\text{C}_{15}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2$	57	229–230	100	1.10	1.27
(XX)	$-\text{NHMePr}^i$	$\text{C}_{15}\text{H}_{36}\text{Br}_2\text{N}_2$	56	184–185	98.5	1.00	2.90

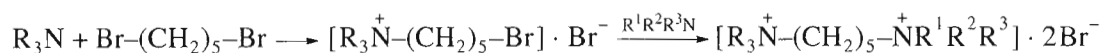
Таблица 1. Окончание

Номер	$-\overset{+}{\text{N}}\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3$	Брутто-формула	Выход, %*	Т.пл., °С	Заселенность, $\Sigma P_1, \%^{**}$	Активность***	
						на симпатическом ганглии	на парасимпатическом ганглии
(XXI)	$-\text{NH}_2\text{Pr}^i$	$\text{C}_{14}\text{H}_{34}\text{Br}_2\text{N}_2$	69	196–197	100	0.60	0.97
(XXII)	$-\text{NHP}\text{r}_2^i$	$\text{C}_{17}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{N}_2$	27	209–210	41.6	0.18	1.05
(XXIII)	$-\text{NHMeBu}'$	$\text{C}_{16}\text{H}_{38}\text{Br}_2\text{N}_2$	43	219–220	87.2	0.11	0.38
(XXIV)	$\begin{array}{c} \overset{+}{\text{N}}\text{HMe}_2 \\ \downarrow \\ \text{O} \end{array}$	$\text{C}_{13}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$	57	167–168	–	0.01	0.03

* Указан выход аналитически чистого продукта в расчете на исходный бромид 5-бромпентилтриэтиламмония.

** Суммарная заселенность продуктивных конформаций (для сечения $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$).

*** Относительная активность (по отношению к активности гексония, которая принята за 1). Активность гексония на верхнем шейном симпатическом ганглии кошки соответствует величине $\text{ED}_{50} 0.035 \text{ мкМ}$, а на парасимпатическом ганглии тонкой кишки морской свинки соответствует величине $K_d 4.5 \text{ мкМ}$.



(3) а) R = Me
б) R = Et

(4) а) R = Me
б) R = Et

(1) R = Me
(2) R = Et

Мы разработали короткий двухстадийный метод синтеза целевых соединений. Образование моно-, а не бисчетвертичного производного на первой стадии оказалось возможным благодаря правильному подбору растворителя, что обеспечило выпадение моночетвертичного аммониевого продукта (5) в осадок по мере образования.




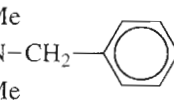
Свойства и фармакологическая активность полученных веществ общей формулы (1) и (2) представлены в табл. 1, 2. Активность всех исследованных соединений выражена в относительных единицах; ED_{50} гексаметония, общепринятого эталонного ганглиоблокатора [5], принята за 1.0. Методика оценки ганглиоблокирующей активности изложена в “Эксперимент. части”.

Поскольку соединения формулы (1) и (2) имеют гибкую молекулярную структуру и способны существовать в виде множества конформаций, были проведены конформационные расчеты, методика которых изложена в работе [6]. Для анализа связи структуры и активности отбирались конформеры с энергией устойчивых конформаций, составляющей не более 3 ккал/моль. Оценку параметров сужения в русле ионного канала проводили на основании корреляции между заселенностью продуктивных конформаций (т.е. способностью молекул проходить через данное сечение канала, аппроксимированное прямоугольником) и активностью данного вещества. Расчеты пока-

зали, что максимальная величина коэффициента корреляции (0.97 для симпатического и 0.80 для парасимпатического ганглиев) соответствует прямоугольному профилю сужения со сторонами прямоугольника $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$ [7]. Аналогичные параметры были получены и в том случае, когда при расчетах использовали результаты опытов на изолированных нейронах, где каналоблокирующую активность веществ оценивали по подавлению ими трансмембранного тока, вызванного ионофоретической аппликацией ацетилхолина [3]. Анализ связи структуры и активности другого ряда бискатионов общей формулы (1) позволил постулировать наличие второго сужения в русле ионного канала, более узкого, чем первое [8].

На рис. 1 по оси абсцисс отложены через равные промежутки варьируемые $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\overset{+}{\text{N}}$ -группы в порядке уменьшения заселенности продуктивных конформаций, т.е. способности данной группы, входящей в состав бискатионной молекулы, проходить через сужение с размерами $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$. По оси ординат отложены относительные величины ганглиоблокирующей активности (за 100% принята активность соединения (I)). Видно, что в общем случае падение заселенности (т.е. способности проходить через сужение с указанными размерами) сопровождается падением активности. Например, соединение (XI) ($\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\overset{+}{\text{N}} = \text{Et}_3\overset{+}{\text{N}}$)

Таблица 2. Свойства и активность соединений общей формулы $[\text{Me}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3] \cdot 2\text{Br}^-$ (1)

Номер	$-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3$	Брутто-формула	Выход, %*	Т.пл., °C	ΣP_1^{**}	ΣP_2^{***}	Активность****	
							на симпатическом ганглии	на парасимпатическом ганглии
(XXV)	$-\text{NH}_3^+$	$\text{C}_8\text{H}_{22}\text{Br}_2\text{N}_2$	43	208–209	100	0.00	0.03	0.05
(XXVI)	$-\text{NH}_2\text{Me}^+$	$\text{C}_9\text{H}_{24}\text{Br}_2\text{N}_2$	53	185–187	100	0.00	0.20	0.44
(XXVII)	$-\text{NHMe}_2^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{26}\text{Br}_2\text{N}_2$	80	201–203	100	33.8	1.00	1.22
(XXVIII)	$-\text{NH}_2\text{Et}^+$	$\text{C}_{10}\text{H}_{26}\text{Br}_2\text{N}_2$	51	169–171	100	57.2	2.70	3.20
(XXIX)	$-\text{NH}_2\text{Pr}^i^+$	$\text{C}_{11}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{N}_2$	65	191–192	100	100	7.70	22.40
(XXX)	$-\text{NH}_2\text{Bu}^i^+$	$\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2$	33	221–223	100	100	4.20	26.90
(XXXI)	$-\text{NHEt}_2^+$	$\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2$	70	221–223	79.6	100	3.70	19.60
(XXXII)		$\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{N}_2$	48	199–200	100	100	4.00	–
(XXXIII)	$-\text{NHMePr}^i^+$	$\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2$	77	210–212	98.5	100	7.70	13.90
(XXXIV)	$-\text{NHMeBu}^i^+$	$\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2$	72	252–253	87.2	100	5.50	20.00
(XXXV)	$-\text{NHPri}^i^+$	$\text{C}_{14}\text{H}_{34}\text{Br}_2\text{N}_2$	54	222–223	41.6	100	9.40	31.00
(XXXVI)		$\text{C}_{14}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{N}_2$	62	225–226	32.9	100	4.20	11.80
(XXXVII)	$-\text{NMe}_3^+$	$\text{C}_{11}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{N}_2$	74	288–289	100	100	1.40	1.60
(XXXVIII)	$-\text{NMe}_2\text{Et}^+$	$\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2$	50	269–271	100	100	1.90	7.10
(XXXIX)		$\text{C}_{13}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2$	79	271–272	95.5	100	4.00	6.30
(XL)	$-\text{NMeEt}_2^+$	$\text{C}_{13}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{N}_2$	68	250–252	50.4	100	2.60	9.40
(XLI)	$-\text{NMe}_2\text{Pr}^i^+$	$\text{C}_{13}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{N}_2$	55	263–265	12.6	100	3.90	6.00
(XLII)		$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{Br}_2\text{N}_2$	61	189–190	15.6	100	0.8	4.00
(XLIII)	$-\text{NHMePr}^i^+$ ↓ O	$\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}$	41	158–160	–	–	1.1	20.0

* Указан выход аналитически чистого продукта в расчете на исходный бромид 5-бромпентилтриметиламмония.

** Суммарная заселенность продуктивных конформаций для сечения $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$. Продуктивны конформации, которые проходят через сечение $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$.

*** Суммарная заселенность продуктивных конформаций для сечения $6.4 \times 5.5 \text{ \AA}$. Продуктивны конформации, которые не проходят через сечение $6.4 \times 5.5 \text{ \AA}$.

**** Относительная активность (по отношению к активности гексония, которая принята за 1). Активность гексония на верхнем шейном симпатическом ганглии кошки соответствует величине ED_{50} 0.035 мкМ, а на парасимпатическом ганглии тонкой кишки морской свинки соответствует величине K_d 4.5 мкМ.

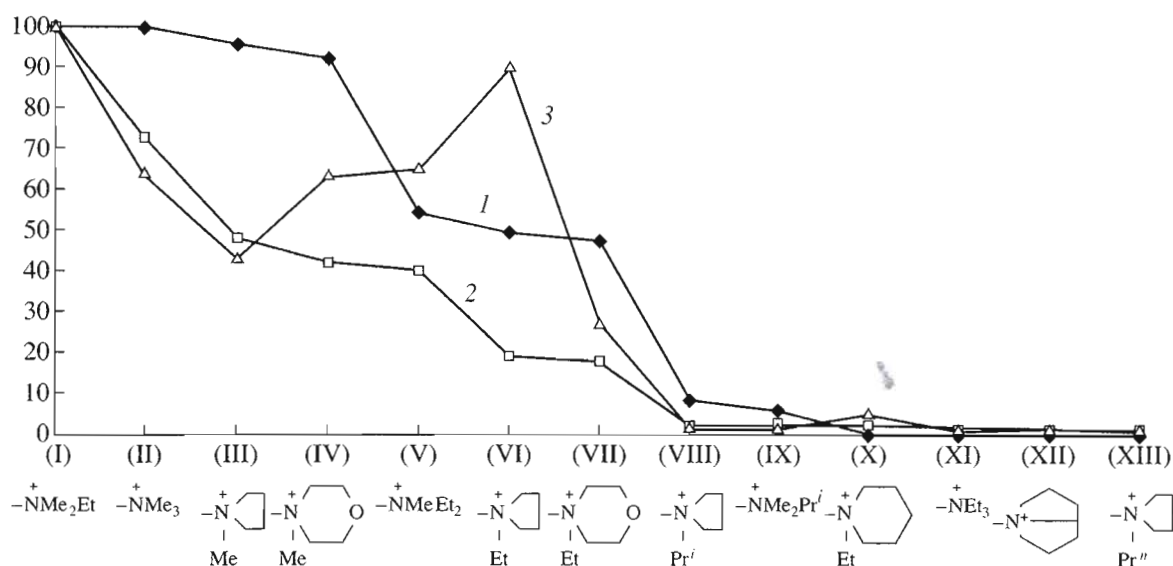


Рис. 1. Корреляция между относительной заселенностью продуктивных конформаций соединений общей формулы $[Et_3N^+(CH_2)_5-N^+R^1R^2R^3] \cdot 2Br^-$ (кривая 1) и их относительной блокирующей активностью на симпатических (кривая 2) и парасимпатических (кривая 3) ганглиях. За 100% принята заселенность и активность соединения (I). Внизу под графиком приводится строение группы $N^+R^1R^2R^3$.

практически неактивно в полном соответствии с тем, что оно не проходит через сужение (заселенность 0%). Если в этом же соединении ограничить конформационную подвижность двух этильных

радикалов Et_3N^+ -группы, замкнув их в кольцо (соединение (VI)), то заселенность увеличивается от 0 до 49.4%, и вместе с тем в 13 раз увеличивается активность на симпатическом, и в 100 раз – на парасимпатическом ганглии. Если же *N*-этилпирролидиновую группу в молекуле (VI) увеличить на одно CH_2 -звено путем замены этила на Pr^i (VIII), либо на Pr^{ii} (XIII), либо расширив цикл от пяти- до шестичленного (X), то во всех этих случаях мы наблюдаем падение как заселенности (от 49.4 до 8.1, 0, 0% соответственно), так и активности (в 9, 21, 10 раз на симпатическом и в 56, 60, 18 раз на парасимпатическом ганглии). Минимально возможное уменьшение Et_3N^+ -группы (на одно CH_2 -звено) в соединении (XI), т.е. переход к аналогу с Et_2MeN^+ -группой (V), ведет к росту заселенности от 0 до 54% и росту активности в 26 раз на симпатическом и в 82.5 раза на парасимпатическом ганглии.

“Непроходящая” *N*-этилпирролидиновая группа (соединение (X)) становится “проходящей”, если одно метиленовое звено в цикле заменить на кислород (соединение (VII)), т.е. при переходе от пирролидинового к морфолиновому циклу. Кислород способен влиять на связывание (например, путем образования водородной связи), но конформационные расчеты ясно указывают на стерический

фактор: заселенность увеличивается от 0% для соединения (X) до 47.3% для соединения (VII), что сопровождается ростом активности на обоих типах ганглиев в 5–8 раз.

Из данных, представленных в табл. 1 и на рис. 1, следует, что общим фактором, определяющим активность соединений формулы (2), являются стерические параметры их молекул, которые количественно оцениваются заселенностью продуктивных конформаций.

Кривая активности для парасимпатических ганглиев (рис. 1) коррелирует с кривой заселенности в меньшей мере, чем для симпатических ганглиев, демонстрируя подъем в ряду соединений (IV) → (VI) вместо ожидаемого падения, причем пик активности приходится на соединение (VI). Возможно, эта особенность связана с эффектом “ловушки”, показанным для соединения (VI) [9].

Кроме соединений, рассмотренных выше, нами проанализированы свойства и активность соединений (XV)–(XXIII) с нечетвертичной структурой варьируемой аммониевой группы, чтобы выяснить, является ли четвертичность (и, следовательно, стабильный (+)-заряд на N-атоме) обязательным условием высокой ганглиоблокирующей активности. Несмотря на формальное сходство в отношении (+)-заряда на атоме азота, между четвертичной и нечетвертичной аммониевыми группами имеется принципиальное различие.

В аммониевых группах типа R_3N^+ , содержащих нечетвертичный атом азота, (+)-заряд на N-атоме образуется за счет протонирования атома азота,

причем процент протонированной формы зависит от основности аминогруппы: при физиологических значениях pH (7.4) и основности аминогрупп исследуемых соединений порядка 10–12 единиц pK_b равновесие между непротонированной (R_3N)

и протонированной (R_3NH^+) формами смещено в сторону протонированной формы более чем на 99% [10]. В случае четвертичной аммониевой группы общей формулы R_4N^+ все четыре C–N-связи являются ковалентными, что исключает возможность диссоциации с образованием непротонированного третичного амина R_3N . Отсюда проистекает коренное различие биологических свойств аминов с четвертичной и нечетвертичной аммониевой группой, поскольку стабильный (+)-заряд четвертичной аммониевой группы препятствует прохождению молекулы через гематоэнцефалический барьер и биологические мембраны, тогда как молекулы с нечетвертичной аммониевой группой проходят через биологические мембраны в виде незаряженной (депротонированной) формы амина [11].

Как видно из табл. 1, замена одного из трех алкильных радикалов при четвертичном атоме азота на водород во всех случаях ведет к падению активности. Видимо, второй нуклеофильный участок связывания, расположенный глубже в канале и связывающий “проходящие” $R^1R^2R^3N^+$ -группы (первый участок связывает “непроходящую” Et_3N^+ -группу) лучше фиксирует четвертичные аммониевые группы и слабее – нечетвертичные. Это может говорить о том, что водородная связь с нуклеофильным участком, возможная, в принципе, для нечетвертичных аналогов с протонированным атомом азота, не вносит существенного вклада в связывание на втором нуклеофильном участке. Об этом же говорит тот факт, что активность бискатионов с Me_2NH^+ - и Me_2S^+ -группами практически одинакова, хотя в первом случае возможно образование H-связи, а во втором – нет (соединения (XVI) и (XIV), табл. 1). Снятие заряда на N-атоме путем образования N-оксида [(XVI) \rightarrow (XXIV)] ведет к исчезновению активности (величины pK_a N-оксидов алифатических третичных аминов находятся в интервале 4–5 [12], т.е. в водном растворе их соли практически непротонированы и лишены (+)-заряда).

Необходимость второго (+)-заряда в молекуле ганглиоблокатора как условия высокой активности обусловлена, по-видимому, двумя факторами: 1) появляется возможность двухточечной фиксации, более эффективной, чем одноточечная, 2) вследствие отталкивания двух (+)-зарядов полиметиленовая цепь между ними находится в полностью вытянутой конформации, благоприятств-

ующей двухточечной фиксации на двух нуклеофильных участках.

Наиболее активным из бискатионов общей формулы (2) с нечетвертичной аммониевой группой оказалось соединение (XVI) с Me_2NH^+ -группой, которая, видимо, наиболее комплементарна окружению второго участка связывания. Коэффициент корреляции для данной группы соединений оказался наивысшим для сечения $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$ и равным 0.91 для симпатического и 0.80 для парасимпатического ганглия, что говорит о ведущей роли стерического фактора для блокаторов как с четвертичной, так и с нечетвертичной аммониевой группой.

Высокая ганглиоблокирующая активность характерна для бискатионов не только Et_3N^+ , но и Me_3N^+ -ряда общей формулы (1) (табл. 2), хотя обе аммониевые группы многих высокоактивных блокаторов Me_3N^+ -ряда проходят через первое сужение (заселенность 100%). Чтобы объяснить эту особенность, ранее мы предположили, что в ионном канале имеется второе сужение, более узкое, чем первое, создающее стерические препятствия для прохождения данных бискатионов [8]. В этом случае блокирующая активность данной группы соединений должна быть тем выше, чем труднее переменная катионная группа проходит через это второе сужение. Были рассчитаны параметры сужения канала, для которых имеет место наивысший коэффициент корреляции между заселенностью проходящих конформаций и величиной, обратной величинам активностей. Наибольший коэффициент корреляции 0.91 для симпатического и 0.96 для парасимпатического ганглия соответствовал сужению прямоугольного профиля с параметрами $6.4 \times 5.5 \text{ \AA}$ [13].

Соединения Me_3N^+ -ряда общей формулы (1) с H_3N^+ - и $MeNH_2^+$ -группами (XXV) и (XXVI) мало активны вследствие недостаточных гидрофобных возможностей к эффективному связыванию (заселенность продуктивных, т.е. “непроходящих” конформаций 0%). Аналоги с Me_2NH^+ - и $EtNH_2^+$ -группами (XXVII) и (XXVIII) значительно активнее двух предыдущих, поскольку часть их конформеров уже не проходит через второе сужение (заселенность 33.8 и 57.2% соответственно). Остальные соединения Me_3N^+ -ряда общей формулы (1) полностью задерживаются перед вторым сужением (заселенность 100%) и все они обладают сравнительно высокой активностью (за исключением аналога (XLII) с диметилбензиламмониевой группой, конфигурация которой, по-видимому, некомплементарна окружению анионного участка связывания). Некоторые различия в величинах

активности этих веществ обусловлены, возможно, такими факторами, как гидрофобность и стерическое соответствие с участками связывания.

Выше было отмечено, что соединение (XXIV), содержащее Et_3N^+ - и Me_2NO -группы в одной молекуле, практически неактивно вследствие отсутствия (+)-заряда на N -оксидной группе, имеющей низкое значение pK_a . В связи с этим интересно отметить, что в соединениях Me_3N^+ -ряда замена (+)-заряженной Pr^iMeNH^+ -группы на незаряженную Pr^iMeNO -группу (XXXIII) \rightarrow (XLIII) не ведет, в отличие от соединений Et_3N^+ -ряда, к полной потере блокирующей активности: активность уменьшается в 7 раз на симпатическом ганглии (от 7.7 до 1.1), оставаясь примерно равной гексаметонию, а на парасимпатическом ганглии даже увеличивается в 1.4 раза (от 13.9 до 20.0) (табл. 2). Объяснение, очевидно, состоит в том, что Me_3N^+ -группа в соединении (XLIII), в отличие от Et_3N^+ -группы в соединении (XXIV), способна проходить через первое сужение канала ко второму, обеспечивая достаточно прочное связывание с соответствующим участком канала. Сравнительно высокая активность аналога (XLIII) в отношении обоих типов ганглиев говорит в пользу связывания их молекул с нуклеофильными областями обоих сужений. Возможно, что избирательность действия соединения (XLIII) на парасимпатический ганглий связана с особенностями связывания именно в области первого сужения.

Таким образом, анализ связи структуры и активности соединений общей формулы (1) и (2), основанный на расчетах коэффициента корреляции между заселенностью продуктивных конформаций и ганглиоблокирующей активностью, приводит к заключению о том, что ионный канал нейронального никотинового холинорецептора имеет воронкообразную форму с двумя сужениями в месте связывания ганглиоблокаторов, которые аппроксимируются прямоугольниками с размерами $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$ и $6.4 \times 5.5 \text{ \AA}$ (рис. 2).

Представляет интерес сравнить наши данные с результатами, полученными другими исследователями. Было показано, что ионные каналы никотиновых холинорецепторов электрического органа рыб и мышцы лягушки имеют воронкообразную форму [14 – 18]. Диаметр узкой части канала мышечного холинорецептора, рассчитанный по способности органических катионов проходить через канал (без учета их конформаций), был оценен величиной 8.4 \AA [19].

Никотиновые холинорецепторы в нейронах верхнего шейного симпатического ганглия крысы состоят из $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 4$ [20, 21] и $\alpha 4$ -1-

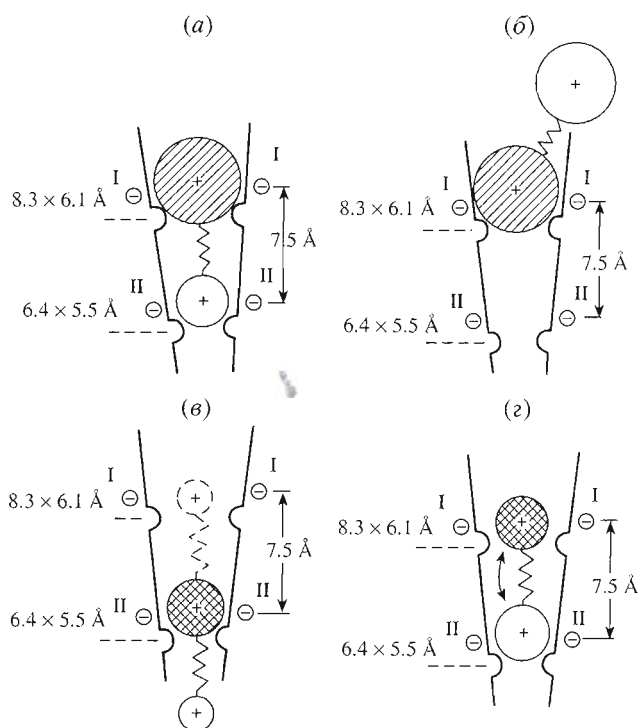


Рис. 2. Модели вариантов (а, б, в, з) связывания бисамониевых блокаторов общей формулы $[\text{Me}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3] \cdot 2\text{Br}^-$ (1) и $[\text{Et}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3] \cdot 2\text{Br}^-$ (2) с нуклеофильными участками в русле ионного канала нейронального никотинового холинорецептора. (а) – ориентация в русле канала молекулы блокатора (2) с постоянной Et_3N^+ -группой, варьируемая катионная группа которого способна пройти ко второму сужению ионного канала (обозначено II), в то время как Et_3N^+ -группа остается в области первого сужения (обозначено I). (б) – ориентация молекулы блокатора (2) с постоянной Et_3N^+ -группой в русле канала в том случае, когда вторая катионная группа либо равна Et_3N^+ -группе, либо превышает ее размеры. (в) – два типа возможной ориентации в русле ионного канала молекулы (1) с постоянной Me_3N^+ -группой, которая расположена в области второго сужения, в то время как варьируемая катионная группа, меньшая, чем Me_3N^+ , способна либо пройти через второе сужение, либо располагаться в области первого сужения. (з) – два типа возможной ориентации в русле ионного канала молекулы (1) с постоянной Me_3N^+ -группой, обе катионные группы которого превышают размеры второго сужения.

субъединиц [22], образующих различные подтипы рецепторов. Наиболее важными для данного типа нейронов являются $\alpha 3$ - и $\beta 4$ -субъединицы [23]. Недавно наличие $\alpha 3$ -, $\alpha 5$ - и $\alpha 7$ -субъединиц в верхнем шейном ганглии крысы было показано с помощью иммунохимических методов [24].

Таблица 3. Аминокислотные последовательности M2-сегментов никотиновых холинорецепторов [20–23]

(α Torp. Cal.)*	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	Лит.
Субъединицы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
α TC	E	K	M	T	L	S	I	S	V	L	L	S	L	T	V	F	L	L	V	I	V	[19, 25]
β TC	E	K	M	S	L	S	I	S	A	L	L	A	V	T	V	F	L	L	L	L	A	[19, 25]
γ TC	Q	K	C	T	L	S	I	S	V	L	L	A	Q	T	I	F	L	F	L	I	A	[19, 25]
δ TC	E	K	M	S	T	A	I	S	V	L	L	A	Q	A	V	F	L	L	L	T	S	[19, 25]
α мышь	E	K	M	T	L	S	I	S	V	L	L	S	L	T	V	F	L	L	V	I	V	[19]
β мышь	E	K	M	G	L	S	I	F	A	L	L	T	L	T	V	F	L	L	L	L	A	[19]
γ мышь	Q	K	C	T	V	A	T	N	V	L	L	A	Q	T	V	F	L	F	L	V	A	[19]
δ мышь	E	K	T	S	V	A	I	S	V	L	L	A	Q	S	V	F	L	L	L	I	S	[19]
$\alpha 2$ крыса	E	K	I	T	L	C	I	S	V	L	L	S	L	T	V	F	L	L	L	I	T	[38]
$\alpha 3$ крыса	E	K	V	T	L	C	I	S	V	L	L	S	L	T	V	F	L	L	V	I	T	[38]
$\alpha 4$ крыса	E	K	V	T	L	C	I	S	V	L	L	S	L	T	V	F	L	L	L	I	T	[38]
$\alpha 5$ крыса	E	K	I	S	L	C	T	S	V	L	V	S	L	T	V	F	L	L	V	I	E	[38]
$\alpha 7$ крыса	E	K	I	S	L	G	I	T	V	L	L	S	L	T	V	F	M	L	L	V	A	[39]
$\beta 2$ крыса	E	K	M	T	L	C	I	S	V	L	L	A	L	T	V	F	L	L	L	I	S	[38]
$\beta 3$ крыса	E	K	L	S	L	S	T	S	V	L	V	S	L	T	V	F	L	L	V	I	E	[38]
$\beta 4$ крыса	E	K	M	T	L	C	I	S	V	L	L	A	L	T	F	F	L	L	L	I	S	[38]

* В нижней строке приведены номера аминокислотных остатков 1–21 M2-сегментов в последовательности α -субъединицы никотинового холинорецептора электрического органа рыб *Torpedo californica* (TC). Жирным шрифтом выделены (по вертикали) аминокислотные остатки, формирующие треониновое, сериновое, внутреннее лейциновое, валиновое и внешнее лейциновое кольца (соответственно, положения 4, 8, 11, 15 и 18).

** Субъединицы α , β , γ , δ входят в состав никотинового холинорецептора мышц (изучено на *Torpedo californica* [19, 25]) и на мышцах [19]), а субъединицы $\alpha 2$ – $\alpha 7$, $\beta 2$ – $\beta 4$ – в состав нейрональных никотиновых холинорецепторов (изучено на крысах [38, 39]).

Исследования методами фотомечения и мутагенеза привели к выводу о наличии трех “колец”, сформированных из аминокислотных остатков M2-сегментов разных субъединиц, ответственных за связывание катионов внутри канала никотинового холинорецептора [25, 29]. Соответствующие аминокислотные остатки находятся в этих кольцах в одних и тех же положениях и развернуты внутрь канала. Термин “кольца” возник в связи с тем, что в плоскости сечения, перпендикулярного к оси канала, сходные аминокислоты разных субъединиц оказываются размещенными по окружности. Полагают, что эти кольца играют определяющую роль при взаимодействии с двухвалентными катионами [15, 25–27] и с блокаторами открытого канала [28, 29]. Были идентифицированы аминокислотные остатки, формирующие селективный фильтр гомогенного $\alpha 7$ -рецептора [30], для которого установлена пентамерная структура [31].

В нашей предыдущей работе было установлено, что в нейронах верхнего шейного ганглия крысы имеется две популяции никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, которые в 4 раза отличались по константе связывания блокатора с открытым ионным каналом [32]. Возможно, этот факт отражает различие в субъединичном составе

двух типов никотиновых рецепторов, находящихся в одном и том же нейроне [15].

Многочисленные эксперименты показали, что аминокислотные остатки, локализованные в M2-сегменте никотиновых холинорецепторов, ответственны за различные фармакологические и функциональные свойства, такие, как связывание неконкурентных блокаторов, десенситизация, ионная проводимость канала [25–29]. Аминокислотные последовательности M2-сегментов ряда субъединиц никотиновых холинорецепторов представлены в табл. 3. M2-сегмент имеет α -спиральную структуру (3.6 а.о. на один оборот спирали). Аминокислотные остатки в положениях 4, 8, 11, 15, 18, определяющие ионную проводимость и связывание неконкурентных блокаторов, формируют соответствующие кольца (табл. 3): треониновое, сериновое, экваториальное лейциновое, валиновое и внешнее лейциновое. Эксперименты по связыванию конкурентных блокаторов в области треонинового и серинового колец в сочетании с методами мутагенеза показали, что треониновое кольцо является наиболее узкой частью канала [26, 33, 34].

Приведенные данные позволили нам постулировать, что именно треониновое кольцо соответству-

ет меньшему сужению в нашей модели ($6.4 \times 5.5 \text{ \AA}$). Тот факт, что расстояние между атомами азота в исследуемых соединениях (7.2 \AA) близко к расстоянию между соседними витками α -спирали, дает основание полагать, что сериновое кольцо соответствует большему сужению в нашей модели ($8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$). Атомы кислорода в гидроксильных группах треонинового и серинового колец играют роль нуклеофильных сайтов связывания для катионных групп блокатора.

Данные о местах связывания каналоблокаторов в ионном канале холинорецептора послужили основой для построения гипотетической трехмерной модели ионного канала никотинового холинорецептора электрического органа рыб (*Torpedo californica*) [35]. Мы воспроизвели эту модель и сопоставили размеры сужения на уровне серинового и треонинового колец с размерами сужений, полученных в нашей работе. Обнаружилось близкое соответствие между этими двумя моделями (рис. 3). Энергетический профиль при прохождении исследуемых нами бискатионных блокаторов через участок канала, включающий сериновое и треониновое кольца, имел несколько минимумов, демонстрирующих процесс лиганд-рецепторного взаимодействия. Глобальный минимум соответствует состоянию, в котором обе катионные группы блокатора одновременно взаимодействуют с сериновым и треониновым кольцами [36]. Этот тип связывания показан на рис. 4.

Таким образом, предлагаемая топографическая модель участка связывания бискатионных блокаторов, основанная на анализе связи конформаций с биологической активностью, находится в хорошем соответствии с данными о структуре и функции никотинового холинорецептора [20, 27]. Модель определяет следующие требования для эффективного неконкурентного блока нейрональных никотиновых холинорецепторов: 1) блокатор должен встречать стерические препятствия на уровне серинового или треонинового колец, которые препятствуют его прохождению далее по каналу; 2) блокатор должен обладать достаточной комплементарностью к связующим сайтам, чтобы обеспечить эффективное гидрофобное и ион-дипольное взаимодействие обеих аммониевых групп с соответствующими нуклеофильными областями канала.

Подход, использованный в данной работе, открывает возможности для прицельного конструирования новых блокаторов нейрональных никотиновых холинорецепторов. Рассчитанные размеры сужений ионного канала могут быть полезными для дальнейших экспериментальных и теоретических исследований нейрональных никотиновых холинорецепторов.

Подводя итог всему вышеизложенному, необходимо отметить, что применение фармакохимического подхода представляет интерес в двух ос-

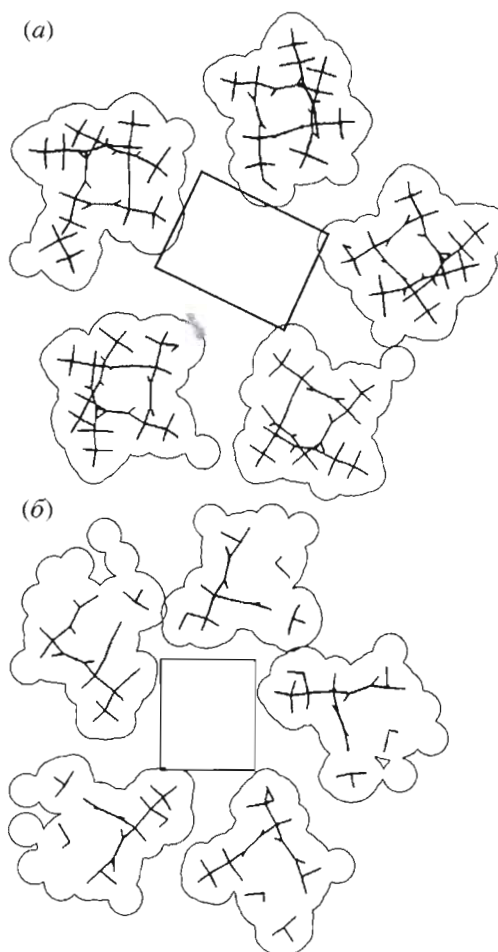


Рис. 3. Модель никотинового холинорецептивного канала в разрезе плоскости мембраны: на уровне серинового кольца, размеры прямоугольника $8.3 \times 6.1 \text{ \AA}$ (a) и на уровне треонинового кольца, размеры прямоугольника $6.4 \times 5.5 \text{ \AA}$ [35, 13] (б).

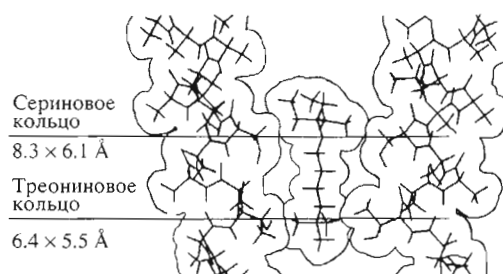


Рис. 4. Положение молекулы бискатионного блокатора $[\text{Me}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_5\text{N}^+\text{MeEt}_2] \cdot 2\text{Br}^-$ (XL) в русле ионного канала нейронального никотинового холинорецептора.

новных направлениях. Во-первых, он ускоряет поиск новых высокоэффективных лекарственных веществ. Например, соединение (XXXV), содержащее Me_3N^+ - и Pr_2NH^+ -группы на концах пен-

таметиленовой цепи, значительно превосходит по активности известные бискатионные ганглиоблокаторы. Во-вторых, в процессе исследования связи химической структуры с биологической активностью неизбежно познается строение биологической мишени, выявляется ее топография. При использовании фармакохимического подхода весьма существенным является то, что получаемые данные характеризуют нативный функционирующий рецептор, находящийся в реальном физиологическом окружении.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

При определении ганглиоблокирующей активности в качестве базовых использовали препараты фирмы "Sigma": субехолин (суберилдихолин, дихлорид), 5-метилфурметид и гексоний (гексаметонийбромид). Остальные препараты синтезированы в Институте экспериментальной медицины (Санкт-Петербург).

Методы конформационного анализа. Теоретический конформационный анализ молекул проведен с учетом внутреннего вращения вокруг всех простых связей триалкиламмониевой группы и связи пентаметиленовой цепочки, ближайшей к азоту этой группы. Конформационная энергия рассчитана в атом-атомном приближении (методом молекулярной механики) как сумма невалентных взаимодействий атомов, торсионной энергии связей, энергии упругой деформации валентных углов атомов углерода и азота и энергии электростатических взаимодействий. Вычисления выполнены на IBM PC/AT с помощью универсальной программы для расчета конформаций органических молекул [37]. Для построения пространственных моделей молекул их наиболее выгодные устойчивые конформации визуализированы с помощью программы Desk Top Molecular Modelling (Oxford Electronic Publishing). Чтобы установить размеры минимального профиля конформера, его стержневую модель вращали вокруг оси, связывающей атомы азота, до тех пор, пока ее проекция на экране не вписывалась в прямоугольную рамку минимальной площади.

Фармакологические методы: определение ганглиоблокирующей активности.

а) Определение ганглиоблокирующей активности в опытах на верхнем шейном симпатическом ганглии кошки [38].

После эфирного наркоза кошкам вводили смесь уретана (250 мг/кг) и хлоралозы (50 мг/кг, внутривенно). Регистрировали сокращение мигательной перепонки в изотоническом режиме (нагрузка на мышцу составляла 7 г). Сокращение мигательной перепонки вызывали непрерывным супрамаксимальным раздражением преганглионарного шейного симпатического ствола с частотой 5 Гц, длительность стимула 1 мс. Ганглиобло-

кирующий эффект определяли по степени расслабления мигательной перепонки, вызываемого внутриартериальным введением ганглиоблокирующих соединений. Инъекции веществ производили с помощью тонкой полиэтиленовой канюли, вставляемой в центральный конец язычной артерии; наружную сонную артерию при этом перевязывали. В этих условиях введенные вещества направляются непосредственно к ганглию. Это позволяет избежать влияния побочных эффектов (падение артериального давления, изменение дыхания и др.) на проведение нервных импульсов в ганглии и позволяет провести более точное сопоставление активности исследуемых соединений. Во всех опытах для контроля за состоянием животного регистрировалось артериальное давление в бедренной артерии. Такой контроль необходим, так как значительное снижение артериального давления, иногда наблюдающееся в процессе эксперимента, меняет кровоснабжение ганглия и может отразиться на его чувствительности к фармакологическим агентам. Чтобы предупредить свертывание крови в канюле, вводился гепарин 300 ед./кг, внутривенно.

Для каждого ганглиоблокирующего соединения определяли дозу, вызывающую расслабление мигательной перепонки на 50% (ED_{50}). В каждом опыте определяли также величину ED_{50} гексония, с которой сравнивали активность изучаемого соединения. Это давало возможность определять активность препарата по отношению к гексонию на одном и том же животном и тем самым ослабить влияние колебаний в индивидуальной чувствительности к ганглиоблокирующим агентам. Все сопоставления производились на основании молярных доз ганглиоблокаторов. ED_{50} для гексония составляла 0.035 ± 0.001 мкм (среднее значение из 120 опытов). Все вещества, растворенные в физиологическом растворе, вводили в артерию в постоянном объеме – 0.2 мл. Обычный интервал между инъекциями составлял 15–20 мин.

б) Определение ганглиоблокирующей активности в опытах на парасимпатическом ганглии тонкой кишки морской свинки [38].

Сокращение тонкой кишки морской свинки, помещенной в раствор Тироде (37°C), вызывали избирательным никотиновым ганглионарным агонистом субехолином. По сдвигу кривых логарифма концентрации – эффект для субехолина в присутствии ганглиоблокатора определяли константу диссоциации (K_d). Критерием того, что ганглиоблокатор не влияет на передачу с нерва на гладкую мышцу, служило отсутствие антагонизма с избирательным мускариновым агонистом 5-метилфурметидом. В каждом опыте определяли также K_d для гексония, с которым сопоставляли исследуемый ганглиоблокатор.

(5-Бромпентил)триметиламмоний бромид [(5a), R = Me]. К раствору 11.8 г (0.2 моль) триметиламина в 120 мл бензола добавляли 46 г (0.2 моль) 1,5-дибромпентана, смесь выдерживали 6 сут при комнатной температуре, выпавший осадок отфильтровывали, растворяли в 40 мл метанола, добавляли к полученному раствору 400 мл ацетона, смесь выдерживали 10 ч при -15°C , фильтровали, фильтрат упаривали и остаток кристаллизовали из смеси этанола и этилацетата. Выход 34 г (59%), т. пл. $137\text{--}139^{\circ}\text{C}$. Вычислено, %: С 33.21; Н 6.57; Вг 55.36; Вг (ионный) 27.68. $\text{C}_8\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{N}$. Найдено, %: С 33.51; Н 6.65; Вг 55.54; Вг (ионный) 27.44.

(5-Бромпентил)триэтиламмоний бромид [(5б), R = Et]. Смесь 46 г (0.2 моль) 1,5-дибромпентана, 10.1 г (0.1 моль) триэтиламина и 100 мл бензола кипятили 10 ч, декантировали раствор с твердого осадка, осадок кипятили в 50 мл ацетона, фильтровали, ацетоновый фильтрат выдерживали около 10 ч при -17°C , фильтровали, фильтрат упаривали и остаток дважды кристаллизовали из смеси ацетона и диэтилового эфира. Выход 7 г (21%), вещество сильно гигроскопично. Т. пл. $86\text{--}88^{\circ}\text{C}$. Вычислено, %: С 39.87; Н 7.55; Вг 48.33; Вг (ионный) 24.17. $\text{C}_{11}\text{H}_{25}\text{Br}_2\text{N}$. Найдено, %: С 39.90; Н 7.84; Вг 47.99; Вг (ионный) 24.47.

Типовая методика получения несимметричных бисаммониевых производных общей формулы (1) и (2). Смесь 0.01 моль соответствующего 5-(триалкиламмоний)пентилбромида общей формулы (5), 0.03 моль амина общей формулы $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{N}$ и 15 мл пропанола кипятили с обратным холодильником или (в случае низкокипящих аминов типа Me_2NH или Me_3N) грели в запаянной стеклянной ампуле в течение 3–5 ч при $100\text{--}110^{\circ}\text{C}$, затем (если $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{N}$ -группа является четвертичной аммониевой группой) растворитель и избыток амина отгоняли и целевое бисаммониевое производное выделяли кристаллизацией из пропилового или изопропилового спирта (**метод А**). Если же $\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{N}$ -группа является нечетвертичной аммониевой группой (**метод Б**), то после реакции к смеси добавляли 0.01 моль K_2CO_3 , кипятили 10–15 мин, растворитель и амин отгоняли, к остатку добавляли раствор 3 мл 48% HBr в 20 мл пропанола, смесь упаривали, остаток кипятили в 15 мл пропанола, горячий раствор фильтровали, фильтрат упаривали и целевой продукт выделяли кристаллизацией из пропанола или изопропанола. Данный элементного анализа полученных соединений соответствовали расчетным.

Примеры.

1-(Триэтиламмоний)-5-(триметиламмоний)пентан дибромид (II) получали реакцией соединения (5a) с триэтиламином, смесь кипятили 5 ч и далее обрабатывали по методу А, очищая кристаллизацией из изопропанола. Выход 1.8 г (46%), т. пл. $263\text{--}264^{\circ}\text{C}$.

1-(Триэтиламмоний)-5-(изопропиламмоний)пентан дибромид (XXIX) получали реакцией соединения (5a) с изопропиламином, смесь кипятили 5 ч и далее обрабатывали по методу Б, очищая кристаллизацией из пропанола. Выход 1.9 г (55%), т. пл. $191\text{--}192^{\circ}\text{C}$.

1-(Триэтиламмоний)-5-(диметиламмоний)пентан дибромид (XVI) получали выдерживанием смеси соединения (5б) с диметиламином в запаянной стеклянной ампуле в течение 3 ч при $100\text{--}110^{\circ}\text{C}$ и далее обрабатывают по методу Б, очищая кристаллизацией из смеси изопропанола с ацетоном (1 : 3). Выход 1.9 г (50%), т. пл. $176\text{--}178^{\circ}\text{C}$.

1-(Триэтиламмоний)-5-(диметиламинооксидоний)пентан дибромид (XXIV). Смесь 2.9 г (0.01 моль) бромида 5-(диметиламинопентил)триэтиламмония и 5 мл 20% водного раствора перекиси водорода выдерживали 24 ч при комнатной температуре, раствор упаривали и добавляли 2 мл 48% HBr в 10 мл изопропанола. Смесь упаривали и остаток дважды кристаллизовали из изопропанола. Выход 2.2 г (57%), т. пл. $167\text{--}168^{\circ}\text{C}$.

1-(Триэтиламмоний)-5-(диметилсульфоний)пентан дибромид (XIV). К раствору 4.9 г (0.015 моль) бромида (5-бромпентил)триэтиламмония (5б) в 10 мл этанола добавляли раствор 1.05 г (0.015 моль) Me_3SNa в 10 мл этанола. Смесь выдерживали 24 ч при комнатной температуре, фильтровали, к фильтрату добавляли раствор 8 г бромистого метила в 50 мл этанола, смесь выдерживали 5 сут при комнатной температуре, упаривали и остаток кристаллизовали сначала из ацетона, затем из изопропанола. Выход 1.2 г (20%), т. пл. $156\text{--}157^{\circ}\text{C}$.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 99-04-49815).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скок В.И., Селянко А.А., Деркач В.А., Гмиро В.Е., Лукомская Н.Я. // Нейрофизиология. 1984. Т. 16. С. 54–61.
2. Brovtsyna N.B., Gmiro V.E., Gorbounova O.B., Serdyuk S.S., Lukomskaya N.Ya. // Membr. and Cell Biol. 1996. V. 10. P. 59–73.
3. Zhorov B.S., Brovtsyna N.B., Gmiro V.E., Lukomskaya N.Y., Serdyuk S.E., Potap'yeva N.N., Magazanik L.G., Kurenniy D.E., Skok V.I. // J. Membrane Biol. 1991. V. 121. P. 119–132.
4. Гмиро В.Е., Лукомская Н.Я., Сердюк С.Е. // Докл. АН СССР. 1987. Т. 292. С. 746–750.
5. Gyermek L. // Pharmacology of Ganglionic Transmission / Ed. D.A. Kharkevich. Berlin: Springer-Verlag, 1980. P. 63–121.
6. Жоров Б.С., Бровцына Н.Б., Гмиро В.Е., Лукомская Н.Я., Сердюк С.Е., Потатьева Н.Н., Магазанник Л.Г. // Биол. мембраны. 1989. Т. 6. С. 1069–1084.
7. Бровцына Н.Б., Гмиро В.Е., Горбунова О.Б., Сердюк С.Е., Лукомская Н.Я. // Биол. мембраны. 1996. Т. 13. С. 57–70.

8. Гмиро В.Е., Бровцына Н.Б., Горбунова О.Б., Сердюк С.Е., Лукомская Н.Я. // Докл. РАН. 1995. Т. 341. С. 699–705.
9. Куренный Д.Э., Деркач В.А., Гмиро В.Е., Скок В.И. // Нейрофизиология. 1988. Т. 20. С. 826–829.
10. Альберт А., Сержент Е. Константы ионизации кислот и оснований. М.: Химия, 1964. 179 с.
11. Hughes R.A. // Physiology and Behavior. 1982. V. 29. P. 67–71.
12. Общая органическая химия. Т. 3 / Ред. Н.К. Кочетков, Л.В. Бакиновский. Пер. с англ. М.: Химия, 1982. С. 247.
13. Brovtsyna N.B., Tikhonov D.B., Gorbounova O.B., Gmiro V.E., Serduk S.V., Lukomskaya N.Ya., Magazanik L.G., Zhorov B.S. // J. Membr. Biol. 1996. V. 152. P. 77–87.
14. Changeux J.P., Galzi J.L., Devillers-Thierry A., Bertrand D. // Quarterly Rev. Biophys. 1992. V. 25. P. 395–432.
15. Vidal C., Changeux J.P. // Neural Information Processing Systems. 1996. V. 11. P. 202–207.
16. Unwin N. // J. Mol. Biol. 1993. V. 229. P. 1101–1124.
17. Unwin N. // Nature. 1995. V. 373. P. 37–43.
18. Miyazawa A., Fujiyoshi Y., Stowell M., Unwin N.J. // Mol. Biol. 1999. V. 288. P. 765–786.
19. Cohen B.N., Labarca C., Davidson N., Lester H.A. // J. Gen. Physiol. 1992. V. 100. P. 373–400.
20. Lindstrom J. // Ion Channels. 1996. V. 4. P. 377–450.
21. Lindstrom J., Peng X., Kuryatov A., Lee J., Anand R., Gerzanich V., Wang F., Wells G., Nelson M. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1998. V. 841. P. 71–86.
22. Rust G., Burgunder J.M., Lautenbourg T.E., Cachelin A.B. // Eur. J. Neurosci. 1994. V. 6. P. 478–485.
23. Rust G., Burgunder J.M., Lautenbourg T.E., Cachelin A.B. // Eur. J. Neurosci. 1994. V. 6. P. 478–485.
24. Skok M.V., Voitenko L.P., Voitenko S.V., Lykhmus E.Y., Kalashnik E.N., Litvin T.I., Tzartos S.J., Skok V.I. // Neurosci. 1999. V. 93. P. 1427–1436.
25. Imoto K., Bush H., Sakmann B., Mishina M., Konno T., Nakai J., Bujo H., Mori Y., Fukuda K., Numa S. // Nature. 1988. V. 335. P. 645–648.
26. Imoto K., Konno T., Nakai J., Wang F., Mishina M., Numa S. // FEBS Lett. 1991. V. 289. P. 193–200.
27. Bertrand D., Galzi J.L., Devillers-Thierry A., Bertrand S., Changeux J.P. // Current Opinion in Cell Biology. 1993. V. 5. P. 688–693.
28. Leonard R.L., Labarca C.G., Charnett P., Davidson N., Lester H. // Science. 1988. V. 242. P. 1578–1581.
29. Revah F., Galzi J.L., Giraudat J., Haumont P.Y., Lederer F., Changeux J.P. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. P. 4675–4679.
30. Corringer P.J., Bertrand S., Galzi J.L., Devillers-Thierry A., Changeux J.P., Bertrand D. // Neuron. 1999. V. 22. P. 831–843.
31. Drisdell R.C., Green W.N. // J. Neurosci. 2000. V. 20. P. 133–139.
32. Kertser S., Bobryshev A., Voitenko S., Gmiro V., Brovtsyna N., Skok V. // J. Membrane Biol. 1998. V. 163. P. 111–118.
33. Charnet P., Labarca C., Leonard R.J., Vogelaar N.J., Czyzyk L., Gouin A., Davidson N., Lester H.A. // Neuron. 1990. V. 2. P. 87–95.
34. Villarreal A., Herlitz S., Koenen M., Sakmann B. // Proc. R. Soc. 1991. V. 243. P. 69–74.
35. Furois-Corbin S., Pullman A. // Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 984. P. 339–350.
36. Тихонов Д.Б., Потапова Н.Н., Гмиро В.Е., Жоров Б.С., Магазаник Л.Г. // Биол. мембраны. 1996. Т. 13. С. 185–195.
37. Zhorov B.S., Brovtsyna N.B. // Membrane Biol. 1993. V. 135. P. 19–26.
38. Boulter J., O'Shea-Greenfield A., Duvoisin R.M., Connolly J.G., Wada E., Jensen A., Gardner P.D., Ballivet M., Deneris E.S., McKinnon D., Heinemann S., Patrick J. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 4472–4482.
39. Seguela P., Wadiche J., Dineley-Miller K., Dani J.A., Patrick J.W. // J. Neurosci. 1993. V. 13. P. 596–604.

Ion Channel Topography of the Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor: Pharmacological Approaches

V. E. Gmiro[#], N. B. Brovtsyna^{**}, S. E. Serdyuk^{***}, and N. Ya. Lukomskaya^{**}

[#]E-mail: g2119@online.ru

^{*}Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences,
Kamennoostrvskii pr. 69/71, St. Petersburg, 197022 Russia

^{**}Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
pr. Morisa Toreza 44, St. Petersburg, 194223 Russia

^{***}Donetsk Medical University, pr. Il'icha 16, Donetsk, 340003 Ukraine

Forty-three bisammonium ganglionic blockers were synthesized to study the structure of the ion channel of nicotinic acetylcholine receptor. The conformational parameters of these blockers were studied, and their effects toward the ganglionic transmission *in situ* on the sympathetic feline upper cervical ganglions and *in vitro* on the parasympathetic guinea-pig small intestine ganglions were determined. A model of the binding site for the bisammonium ganglionic blockers in the neuronal ion channel was proposed. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2002, vol. 28, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: conformational analysis, ganglionic blockers, ion channel, neuronal nicotinic acetylcholine receptor, parasympathetic ganglion, structure–activity relationship, sympathetic ganglion