



## MODELE ODDZIAŁYWAŃ LIGANDÓW ARYLOPIPERAZYNYLOWYCH Z RECEPTORAMI SEROTONINOWYMI 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> I 5-HT<sub>7</sub>

Anna Bielenica\*, Jerzy Kossakowski

Katedra i Zakład Chemii Medycznej, I Wydział Lekarski,  
Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Oczki 3, 02 007 Warszawa

\*autorka korespondująca, tel./faks: +22 628 0679; e-mail: [anna.bielenica@wum.edu.pl](mailto:anna.bielenica@wum.edu.pl)

Otrzymano 29.12.2009; zaakceptowany 25.01.2010; zamieszczony 23.03.2009

### STRESZCZENIE

Prezentowana praca zawiera przegląd literaturowy modeli oddziaływań dokujących długołańcuchowych arylopiiperazyn z receptorami serotoninowymi 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> oraz 5-HT<sub>7</sub>. Wymieniono najważniejsze rodzaje oddziaływań stabilizujących kompleks ligand-receptor serotoninowy. Omówiono szereg hipotez wiązania ligandów do receptorów metabotropowych, proponowanych na podstawie modelowania homologicznego. W celu określenia konformacji znanych pochodnych alkilo- i alkoksypiperazynyloowych przeanalizowano również dane strukturalne z *Cambridge Structural Database*.

**SŁOWA KLUCZOWE:** dokowanie, długołańcuchowe arylopiiperazyny, receptor 5-HT<sub>1A</sub>, receptor 5-HT<sub>2A</sub>, receptor 5-HT<sub>7</sub>

### ABSTRACT

#### BINDING MODES OF LONG-CHAIN ARYLPIPERAZINES TO 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> AND 5-HT<sub>7</sub> RECEPTORS

The objective of this article is a presentation of selected docking models of long-chain arylpiperazines to 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors. The most important types of interactions stabilizing the ligand-receptor complex were described. Several hypotheses proposed on the basis of homological modeling were discussed. In order to determine conformations of known alkyl- and alkoxypiperazinyl ligands, structural data from *Cambridge Structural Database* were analyzed.

**KEYWORDS:** docking, LCAPs, 5-HT<sub>1A</sub> receptor, 5-HT<sub>2A</sub> receptor and 5-HT<sub>7</sub> receptor

### 1. Wprowadzenie

Aktywność wielu leków psychotropowych jest związana z oddziaływaniem na różnego typu receptory serotoninowe (5-HT). Ugrupowanie arylopiiperazynylowe stanowi przykład najbardziej uniwersalnej części farmakoforowej związków działających na ośrodkowy układ nerwowy. To ugrupowanie jest rozpoznawane nie tylko przez receptory 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>7</sub>, ale również przez receptory dopaminergiczne oraz adrenergiczne.

Dokowanie (ang. *docking*) jest operacją obliczeniową, polegającą na modelowaniu oddziaływania molekularnego między ligandem a makrocząsteczką - receptorem, którą przeprowadza się w celu określenia i zoptymalizowania budowy potencjalnego aktywnego składnika leku. Niezbędna jest do tego znajomość struktury receptora, uzyskana na drodze analizy strukturalnej, widm NMR i/lub modelowania homologicznego. Ta ostatnia metoda polega na wirtualnym przewidywaniu struktury nieznanego białka na podstawie podobieństwa w sekwencji do innych, znanych struktur białkowych. W procesie dokowania generowane są liczne konformacje i orientacje ligandów, z czego wybierane są energetycznie najkorzystniejsze. Obliczenia przeprowadza się zarówno dla grupy znanych aktywnych, jak i nieaktywnych ligandów.

Rzeczywiste związanie ligandu może prowadzić do zmiany konformacji nie tylko białka receptorowego [1], ale

i ligandu. Również funkcja cząsteczek rozpuszczalnika (np. wody) jest trudna do ustalenia - mogą one brać udział w tworzeniu wiązań wodorowych między ligandem a receptorem, regulować proces aktywacji receptora lub wpływać na efekty entropowe [2,3,4].

Lek z receptorem rzadko wiąże się silnym wiązaniem kowalencyjnym - wtedy wiązanie można uznać za trwałe. Tworzenie odwracalnego wiązania między lekiem a receptorem zachodzi w wyniku następujących rodzajów oddziaływań niekowalencyjnych [5,6]:

- **Wiązania wodorowe**, utworzone między związanym kowalencyjnie atomem wodoru a dwoma (lub więcej) innymi atomami elektroujemnymi. Schematycznie można je przedstawić w postaci D-H...A, gdzie D jest donorem, a A - akceptorem wiązania wodorowego (D i A to głównie atomy N, O, S, C, Cl). Zależnie od mocy, międzycząsteczkowe wiązania wodorowe można podzielić na:
  - a) **stabe wiązania wodorowe**, występujące wtedy, gdy atomy donora i akceptora niewiele różnią się elektroujemnością od atomu H (np. atomy C);
  - b) **wiązania wodorowe średniej mocy**, typowe dla oddziaływań między grupami karbonyłowymi, amidowymi, aminowymi, hydroksylowymi lub eterowymi (w dowolnych kombinacjach);

c) *wiązania wodorowe wspomagane ładunkiem*, obecne gdy donor i/lub akceptor atomu wodoru jest obdarzony trwałym ładunkiem, np.  $\text{COO}^- \dots \text{NH}_3^+$ ,  $\text{C}=\text{O} \dots \text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^- \dots \text{HN}$ ,  $-\text{C}=\text{O} \dots \text{HN}$ .

- *Oddziaływania hydrofobowe*. To oddziaływania stabilizujące kompleks lek - receptor w środowisku wodnym w przypadku, gdy zarówno ligand, jak i białko receptorne mają charakter lipofilowy, np. oddziaływanie  $\pi \dots \pi$ . Gdy hydrofobowy ligand i receptor zbliżają się do siebie, uporządkowanie cząsteczek wody zostaje zaburzone, rośnie ich entropia, co prowadzi do korzystnego zmniejszenia energii swobodnej niepolarnego układu lek - receptor.
- *Oddziaływania jon-dipol oraz dipol-dipol*. Jeśli ligand zawiera spolaryzowane wiązanie C-X, gdzie X jest atomem elektroujemnym (O, N, S, Cl), to ten fragment ligandu tworzy dipol, przyciągany przez jony lub dipole obecne w receptorze. Ze względu na wielkość ładunku, oddziaływanie jon-dipol jest silniejsze niż oddziaływanie dipol-dipol.
- *Sily van der Waalsa*. Są to słabe międzycząsteczkowe siły przyciągania; powstają, gdy ligand i receptor znajdują się blisko siebie. Przejściowo niesymetryczny rozkład gęstości elektronowej indukuje chwilowy dipol w cząsteczce leku, co powoduje powstanie przeciwnego dipola na powierzchni białka receptorowego.

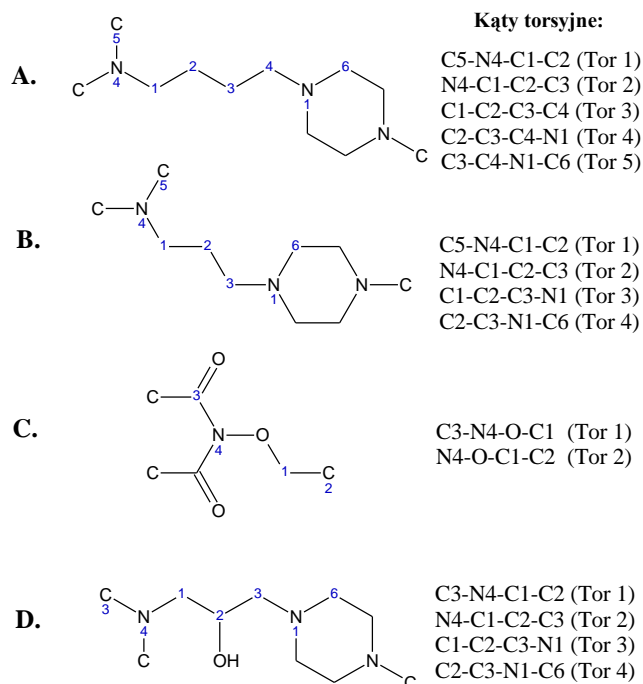
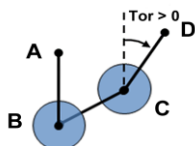
Miarą siły wiązania lek - receptor jest zmiana wartości entalpii swobodnej układu  $\Delta G$  - im bardziej ujemna, tym wiązanie jest silniejsze. Entalpie swobodne wszystkich oddziaływań niekowalencyjnych są addytywne, zatem całkowita siła oddziaływania między lekiem a receptorem jest efektem współdziałania kilku typów słabych oddziaływań.

## 2. Przegląd danych strukturalnych w kierunku poszukiwania ligandów arylopiperazyńowych

„Cambridge Structural Database” (<http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/csd/>) [7,8] jest największą bazą eksperymentalnie wyznaczonych danych strukturalnych związków organicznych i metaloorganicznych. Obecnie znajduje się w niej ponad 250 tys. struktur małych cząsteczek.

W niniejszej pracy przeanalizowano dane strukturalne z bazy CSD w celu określenia konformacji znanych z literatury pochodnych alkilo- i alkoksypiperazyńowych. Pod uwagę wzięto struktury, które zawierają fragment hydroksypropylo-, propoksy-, propylo- i butylo-piperazyńowy. Wymiar pierścienia nie był definiowany, mógł być to pierścień pięcio- lub sześcioczłonowy (Ryc. 1). Analizowane struktury zawierają układ amidowy i imidowy, innych nie znaleziono.

Parametrem geometrycznym wygodnym przy ilościowym opisie konformacji cząsteczek jest kąt torsyjny. Zdefiniowany dla czterech atomów, jest kątem pomiędzy płaszczyzną przechodzącą przez atomy A, B, C a płaszczyzną przechodzącą przez atomy B, C, D:



Ryc. 1. Definicje fragmentów molekularnych poszukiwanych w bazie CSD i definicje kątów torsyjnych pochodnych: (A) butylo- (B) propylo- (C) alkoksy- (D) hydroksypropylpiperazyńowych.

Na podstawie znanych wartości kątów Tor 2, Tor 3 i Tor 4 możliwe jest ustalenie konformacji łańcucha butylo- i propoksylo- (w przypadku łącznika propylo- - kątów Tor 2 i Tor 3). (Ryc. 1). Kąt torsyjny Tor 1 określa orientację przestrzenną części imidowej, natomiast Tor 5 decyduje o ułożeniu pierścienia piperazyńowego.

Otrzymane wartości wskazują na giętkość łańcucha *n*-butylo- (Tabela 1.; podano także identyfikatory analizowanych cząsteczek, tzw. *Refcodes*). Przyjmuje on najczęściej jedną z dwóch konformacji, zgiętą (dla 9 związków) lub rozciągniętą (15 pochodnych). Obliczone odległości  $\text{N4}_{\text{imid}} \dots \text{N1}_{\text{piperazyńa}}$  zawierają się w przedziale 5,0 - 6,3 Å. Zmiany wewnątrzcząsteczkowej odległości międzyatomowej są skutkiem konformacji łańcucha węglowego. W przypadku konformerów o zgiętym łańcuchu 4-węglowym, podana odległość jest mniejsza niż 6 Å, a jeden z kątów torsyjnych Tor 2, Tor 3 lub Tor 4 ma wartość  $\pm 70^\circ$  (Tabela 1).

Dla pochodnych propylo- łańcuch o niewielkiej długości ogranicza „giętkość konformacyjną”. Dla pięciu struktur obserwowane są konformacje rozciągnięte, dla dwóch - zgięte. Parametr  $\text{N4}_{\text{imid}} \dots \text{N1}_{\text{piperazyńa}}$  konformerów o łączniku rozciągniętym wynosi ok. 5 Å, natomiast dla ligandów przyjmujących konformację zgiętą - 4,2 Å (Tabela 2).

Baza danych strukturalnych nie zawiera wielu przykładów pochodnych propanolo-piperazyńowych oraz propoksylo- . Zbadano zaledwie kilka takich układów, stąd trudno o uogólnienia (Tabele 3 i 4). Nie znaleziono związków zawierających fragment hydroksypropoksylo- oraz alkoksypiperazyńowy.

Tabela 1. Wybrane kąty torsyjne [°] pochodnych butylopiperazynyowych i typ konformacji łańcucha *n*-butylowego.

Nr	Refcode	N(4) <sub>im</sub> ...N(1) <sub>p</sub> [Å]	Tor 1	Tor 2	Tor 3	Tor 4	Konfor.*	Tor 5
1	AKIMIQ	6,21	90,0	175,2	176,9	159,2	R	61,3
2	HIJCOS	6,25	77,3	178,6	174,9	-167,4	R	-62,5
3	IRUNAK	6,27	96,0	174,2	-174,8	-178,2	R	-65,2
4	LUYQOL	6,24	-79,3	165,5	176,3	-179,2	R	-73,4
5	MAXMAZ	5,44	-115,5	68,9	-178,6	-171,0	Z	70,6
6	MAXMAZ	6,19	-96,8	164,4	172,0	161,8	R	60,9
7	MAXMED	6,26	-91,3	170,2	168,6	175,7	R	64,2
8	MAXMED	6,26	-99,0	170,1	169,1	160,8	R	55,0
9	MAXMIH	5,00	-92,4	66,1	70,5	-178,9	Z	80,7
10	MAXMON	6,28	-88,7	-173,7	-171,1	-175,2	R	-59,4
11	MAXMUT	5,64	81,8	64,9	-177,6	-58,3	Z	-176,5
12	MAXNAA	5,70	-89,3	174,9	75,2	-157,9	Z	-59,2
13	MAXNEE	5,98	89,9	-178,8	-72,3	-167,6	Z	-59,0
14	MEQCOB	6,26	84,1	177,7	172,3	-173,9	R	166,8
15	NAXDAR	6,30	-97,7	-179,0	179,9	170,8	R	-172,9
16	NUQTOI	6,28	95,8	173,9	-176,9	-179,0	R	-67,8
17	OFAZEA	6,29	-108,9	-172,9	176,9	178,3	R	61,2
18	OFAZIE	5,90	-62,8	162,7	75,7	-172,8	Z	73,4
19	OFAZOK	5,79	92,9	-168,7	-72,4	166,2	Z	-72,8
20	PANGAM	6,23	91,2	173,5	-172,3	-171,8	R	-60,2
21	ZIDBAP	5,71	91,0	177,6	76,1	-159,4	Z	177,4
22	ZIDBET	6,30	113,2	-177,0	-169,4	174,5	R	73,7
23	ZIDBIX	5,68	94,1	174,9	74,0	-157,9	Z	177,4
24	ZOGSET	6,24	-146,8	-176,1	178,2	-164,6	R	-68,7

\*Konformacja: R - rozciągnięta, Z - zgięta

Tabela 2. Wybrane kąty torsyjne [°] pochodnych propylopiperazynyowych i typ konformacji łańcucha propylowego.

Nr	Refcode	N(4) <sub>im</sub> ...N(1) <sub>p</sub> [Å]	Tor 1	Tor 2	Tor 3	Konfor.*	Tor 4
1	KACLUW	5,0	76,1	175,1	-179,5	R	169,1
2	PCLPMS	4,99	144,3	-174,3	-179,1	R	9,1
3	PERPAZ	4,19	-64,1	158,0	-80,7	Z	159,9
4	TETPAZ	4,22	65,9	175,0	-54,9	Z	-73,5
5	TFPRZC	4,96	-62,2	173,2	-178,6	R	-176,4
6	VICXOV	5,04	82,7	-167,8	-164,2	R	-65,4
7	VUCFOO	4,96	-99,2	178,0	169,1	R	65,4

\*Konformacja: R - rozciągnięta, Z - zgięta

Tabela 3. Wybrane kąty torsyjne [°] pochodnych propoksyłowych.

Nr	Refcode	N(4) <sub>im</sub> ...N(1) <sub>p</sub> [Å]	Tor 1	Tor 2	Tor 3	Tor 4	Tor 5
1	WACHUD	5,47	-100,5	-136,6	66,1	179,1	-107,5
2	YUHTOK	-	114,1	-60,6	-173,7	-	-

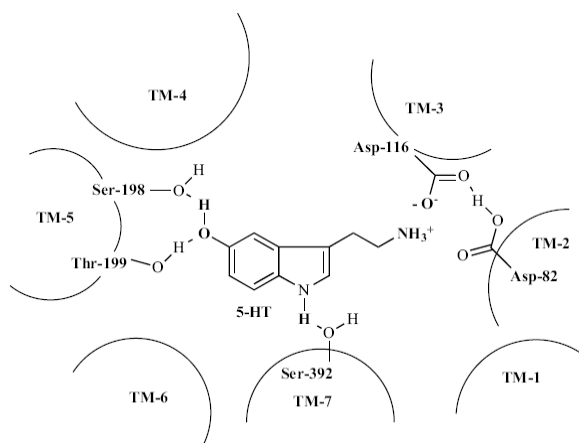
Tabela 4. Wybrane kąty torsyjne [°] pochodnych propanolopiperazynyowych.

Nr	Refcode	N(4) <sub>im</sub> ...N(1) <sub>p</sub> [Å]	Tor 1	Tor 2	Tor 3	Tor 4
1	EKANOT	4,41	-97,5	73,7	-174,9	96,6
2	JIJOC	4,29	96,4	169,1	-61,3	173,2
3	JIJOC	4,32	-80,3	-57,4	175,3	70,4
4	VOXHAR	4,38	-90,2	-171,9	62,2	174,6
5	ZIKPEO	4,33	-103,5	178,3	46,0	63,1

Podsumowując, łącznik węglowodorowy około 65% znanych analogów buspironu przyjmuje konformację rozciągniętą. Obliczenia teoretyczne przypisują minimum energetyczne konformerom rozciągniętym, i to zarówno w ciele stałym, jak i w roztworze, a także dla ich kompleksów z receptorem [9,10].

### 3. Wiązanie ligandów do receptora 5-HT<sub>1A</sub>

Serotonina (5-hydroksytryptamina, 5-HT) jest neuroprzekaźnikiem, odgrywającym znaczącą rolę w zaburzeniach nastroju, snu i łaknienia, w depresji, stanach lękowych oraz schizofrenii [11]. Jest ligandem receptorów centralnego układu nerwowego, wpływającym na ich funkcjonowanie. Wiązanie serotoniny z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> przedstawia Ryc. 2.



Ryc. 2. Oddziaływanie cząsteczki serotoniny z miejscem wiążącym receptora 5-HT<sub>1A</sub> [12]. Na schemacie symbolem TM oznaczono  $\alpha$ -helisy transbłonowe (w dalszej części pracy użyto skrótu TMH).

Charakterystyczne odległości międzyatomowe dla dwóch konformerów kationu serotoniny, występujących w kryształach różnych soli przedstawiono na Ryc. 3. Fragment alkiloaminowy przybiera różne konformacje, rozciągniętą

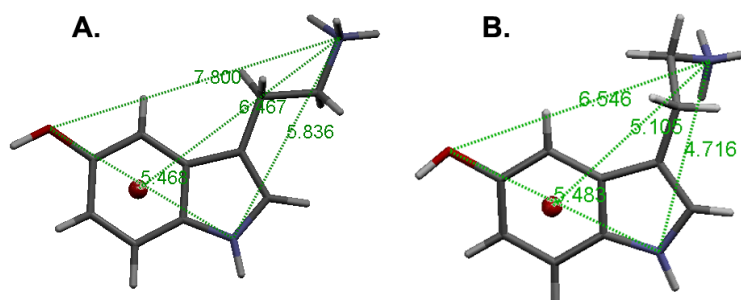
(Ryc. 3A.) i zgiętą (Ryc. 3B.). Odległości centroid...N(NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) zmieniają się, odpowiednio, od 6,467 do 5,105 Å.

Receptory serotoninowe dzielą się na siedem grup, wśród których znajduje się 16 różnych podtypów. Z wyjątkiem receptora 5-HT<sub>3</sub>, wszystkie pozostałe należą do rodziny receptorów metabotropowych, w których sygnał transmitowany jest przez białka G [12]. Struktura I-rzędowa receptorów błonowych jest bardzo podobna i składa się z 300-600 aminokwasów. Pochodne arylopiperazyny reprezentują jedną z największych i najlepiej poznanych klas ligandów receptorów serotoninowych, przede wszystkim receptora 5-HT<sub>1A</sub>, a także 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>7</sub>. Większość ligandów z tej grupy zawiera giętki łańcuch alifatyczny o zróżnicowanej długości, połączony z fragmentem arylopiperazyny, stanowiącym grupę farmakoforową.

W ciągu ostatnich dwóch dekad wysunięto szereg hipotez dotyczących oddziaływania ligandów arylopiperazynyowych z receptorami 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> oraz 5-HT<sub>7</sub>. Poniżej przedstawiono najważniejsze z nich.

Białko ludzkiego receptora 5-HT<sub>1A</sub> zbudowane jest z 421 reszt aminokwasowych, ułożonych w siedem hydrofobowych, transbłonowych  $\alpha$ -helis, nazywanych od TMH 1 do TMH 7. Helisy połączone są przez wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe pętle [12]. Trójwymiarowa struktura tego receptora została ustalona w 2000 roku na podstawie struktury przestrzennej rodopsyny wołowej [13].

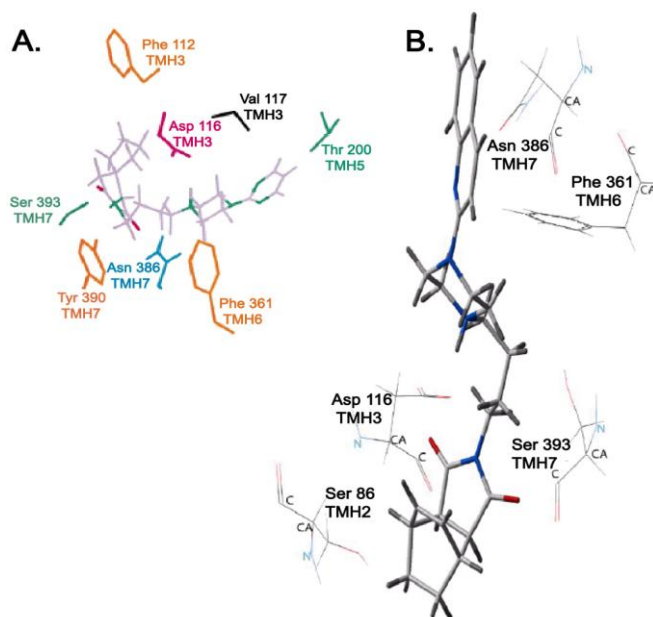
Mimo że receptor serotoninowy 5-HT<sub>1A</sub> jest jedną z najczęściej modelowanych monoamin z grupy białek G, sposób wiązania arylopiperazynyowych pochodnych nie został do końca wyjaśniony. Dotychczas na drodze modelowania homologicznego do struktury rodopsyny wysunięto kilka hipotez oddziaływania analogów buspironu. Wiadomo, że warunkiem wysokiego powinowactwa ligandu jest wystąpienie oddziaływania jonowego między protowanym atomem N<sub>4</sub> piperazyny a grupą COO<sup>-</sup> Asp116 (3.32) z TMH 3 [14].



Ryc. 3. Eksperymentalnie wyznaczone [7,8] konformery kationów serotoniny w solach: (A) wodoroszczawianowej; (B) jednowodnym pikrynianie. Odległości wewnątrzcząsteczkowe autorzy niniejszej pracy wyznaczyli za pomocą programu Mercury 1.4.2.

Jedna z hipotez zakłada, że ligand zostaje umieszczony w głębokiej kieszeni między TMH 2, 3 i 7. W tym przypadku łańcuch alkilowy N-podstawionej pochodnej arylopiperazyny przybiera postać zgiętą [15].

W teorii przedstawionej przez Sylte'a i współpracowników [16,17], część *n*-butylowa buspironu jest zgięta i pozostaje w bezpośrednim kontakcie z Asn386 (TMH 7), a grupa arylowa ligandu oddziałuje z Phe361 (6.61) i innymi aminokwasami TMH 5, 6, 7. Jednocześnie tlen grupy karbonylowej pierścienia imidowego łączy się za pomocą oddziaływań wodorowych z grupą OH Ser393 (7.46) i innymi aminokwasami TMH 2 i 7 (Ryc. 4). Obliczenia wykazały również, że wiązanie ligandów o pewnych konformacjach powoduje zerwanie jednych i powstanie innych wiązań wodorowych między helisami białka receptorowego, co może powodować jego aktywację [15,17].



Ryc. 4. Symulacje dynamiki molekularnej kompleksu ligand-receptor 5-HT<sub>1A</sub> dla: (A) częściowego agonisty (buspironu) [15]; (B) antagonisty [16].

Odmienne punkt widzenia przedstawiła grupa Lopez-Rodriguez zakładając, że fragment arylopiperazyny ulokowany jest między helisą 3 a 7. Pierścień aromatyczny ligandu może wtedy oddziaływać z Phe3.28, Trp7.40 i Tyr7.43, podczas gdy podstawniki pierścienia łączą się z Asn6.48, a cała część imidowa wchodzi w kieszeń między TMH 4 a TMH 6 [18]. We wcześniejszych pracach autorzy ustalili, że grupa hydroksylowa lub karbonylowa imidu tworzy wiązania wodorowe z Ser5.42 i Thr5.43 [19,20,21] (Ryc. 5A i B). Odminną od powyższej teorię wysunął zespół Seebera [22] przyjmując, że w przestrzeń powstałą między helisami 4 a 6 wchodzi fragment 2-metoksyfenylo-piperazyny, a podstawniki części amidowej tworzą wiązanie wodorowe z łańcuchem bocznym Asn7.39.

Według Zlatovića i współpracowników [23,25], za powinowactwo 1,4-dipodstawionych arylopiperazyn do receptora 5-HT<sub>1A</sub> odpowiadają hydrofobowe i wodorowe oddziaływanie podstawnika 4-N-arylowego z resztami aminokwasów z TMH 6 (Phe6.51/361), TMH 7 (Tyr7.43/390) oraz pętli zewnątrzkomórkowej e2 (Thr188). Łańcuch *n*-butylowy zwija się wewnątrz miejsca wiążącego, przez co część

amidowa ligandu zostaje wepchnięta w kieszeń utworzoną przez reszty aminokwasowe helisy 5 i 6 (Ryc. 5D).

W roku 2006, posługując się programem „Predict” przedstawiono model miejsca wiążącego receptora 5-HT<sub>1A</sub> [24]. Metoda opiera się na modelowaniu niehomologicznym i generuje model receptora na podstawie jego sekwencji aminokwasowej. Ustalono, że w przypadku ligandów arylopiperazyny, grupa aromatyczna oddziałuje z Phe362 (TMH 6), natomiast pierścień piperazyny z Asp116 (TMH 3) (Ryc. 5C).

W modelu zaproponowanym przez Nowaka i współpracowników [14], N-podstawione arylopiperazyny są równoległe do helisy TMH 3, przy czym ich część arylowa znajduje się między TMH 4, 5 i 6, a terminalny fragment imidowy jest zorientowany w kierunku TMH 1, 2 i 7, na zewnątrz komórki (Ryc. 6). Zgodność z modelem wykazały zarówno analogi buspironu o zgiętej i liniowej konformacji, jak i pochodne cykloheksyloarylopiperazyny. Oprócz wiązania między atomem azotu piperazyny a Asp3.32, istotne okazało się oddziaływanie C-H...π pierścienia aromatycznego ligandu z Phe6.52 receptora. Dodatkowo grupa karbonylowa imidu tworzyła wiązanie wodorowe z Tyr7.43 i Asn7.39. Podstawniki *o*- lub *m*-OCH<sub>3</sub> były akceptorami, a Ser5.42 donorami wiązania wodorowego. Należy podkreślić, że oddziaływanie z resztą Ser5.42 ma miejsce w przypadku wszystkich receptorów, do których podstawniki *o*-metoksyfenylo- wykazują wysokie powinowactwo, czyli 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>7</sub> i α<sub>1</sub>-adrenergicznego. Jednocześnie ich obecność zmniejsza powinowactwo do receptora 5-HT<sub>2A</sub>, w którym w miejscu Ser5.42 znajduje się niepolarna reszta glicyny.

#### 4. Wiązanie ligandów do receptora 5-HT<sub>2A</sub>

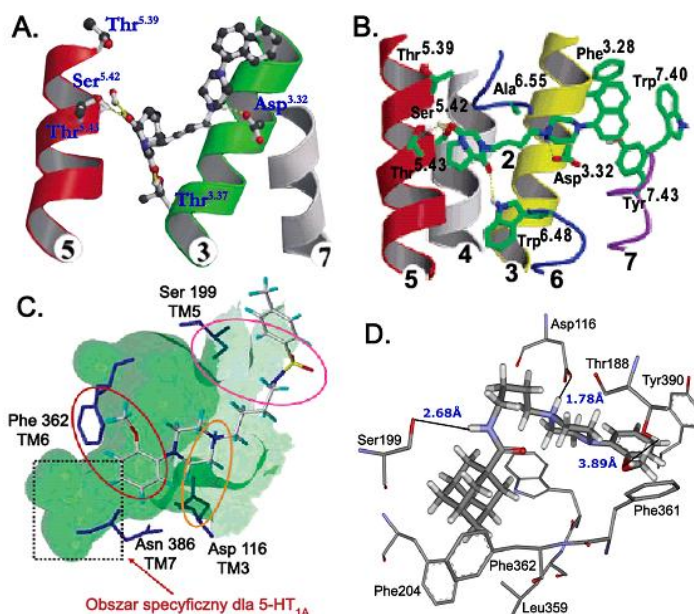
Białko ludzkiego receptora 5-HT<sub>2A</sub> zawiera 471 reszt aminokwasowych [12] i, jak wszystkie białka G, złożone jest z siedmiu transbłonowych α-helis [26]. Opublikowano wiele modeli molekularnych tego receptora, bazujących na strukturze bakteriorodopsyny i rodopsyny wołowej.

W przypadku większości modeli kompleksu agonista-receptor 5-HT<sub>2A</sub> za najistotniejsze uznaje się następujące oddziaływania [27,28,29]:

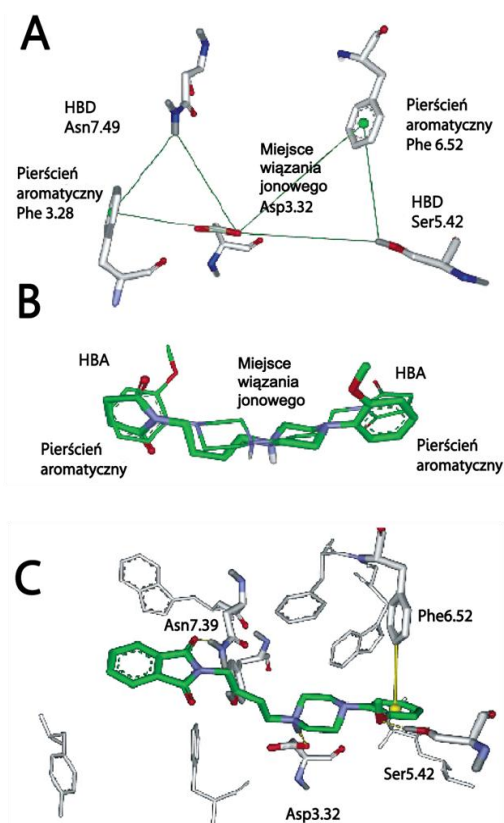
- stabilizujące oddziaływanie jonowe między dodatnio naładowanym atomem azotu ligandu a grupą COO<sup>-</sup> Asp155 (3.32) z TMH 3;
- wiązania wodorowe z grupą OH Ser159 (3.36) z TMH 3, z jedną lub więcej reszt seryny z TMH 4 (Ser207 (4.57)) i TMH 5 (Ser239 (5.43)) oraz TMH 7 [Ser372 (7.45), Ser373 (7.46)], które stabilizują reszty NH lub OH ligandu;
- wpływ pierścieni aromatycznych, które stabilizują ugrupowania aromatyczne i hydrofobowe ligandu, przy czym sugeruje się [28] kluczową rolę Phe243 (5.47) i Phe244 (5.48) w procesie wiązania i aktywacji receptora 5-HT<sub>2A</sub>.

Symulacje dynamiki molekularnej wykonane przez zespół Bronowskiej [15] wskazują na istotne znaczenie łańcuchów bocznych Leu123 (TMH 2) i Ser371 (TMH 7), które oddziałują z grupą imidową analogu buspironu, ujemnie naładowanej reszty Asp155 (3.32) łączącej się z atomem azotu piperazyny, a także hydrofobowych aminokwasów z helisy 2, 3 i 7. Według tej teorii ligand przyjmuje konformację





Ryc. 5. Modele kompleksów pochodnych butyloarylopiperazyny z receptorem 5-HT<sub>1A</sub> według zespołów: (A), (B) Lopez-Rodriguez [18,21]; (C) Beckera [24], z zaznaczeniem obszaru odpowiedzialnego za selektywność względem receptora  $\alpha_1$ -adrenergicznego; (D) Zlatovića [23].



Ryc. 6. Geometria miejsca wiążącego receptora 5-HT<sub>1A</sub> (A) i ligandu arylopiperazynowego (B) oraz kompleksu NAN-190 - receptor 5-HT<sub>1A</sub> (C) [14].

zgiętą i jego wiązanie nie zmienia wyjściowej konformacji receptora 5-HT<sub>2A</sub> (Ryc. 7A).

Grupa Brea [26] zakłada, że antagonistą jest ułożony między helisami TMH 2, 3 i 7, i przybiera postać rozciągniętą, równoległą do osi helis. Stwierdzono obecność wiązań wodorowych między ligandem a trzema resztami aminokwasowymi TMH 3 (Cys148, Asp155, Ser159)

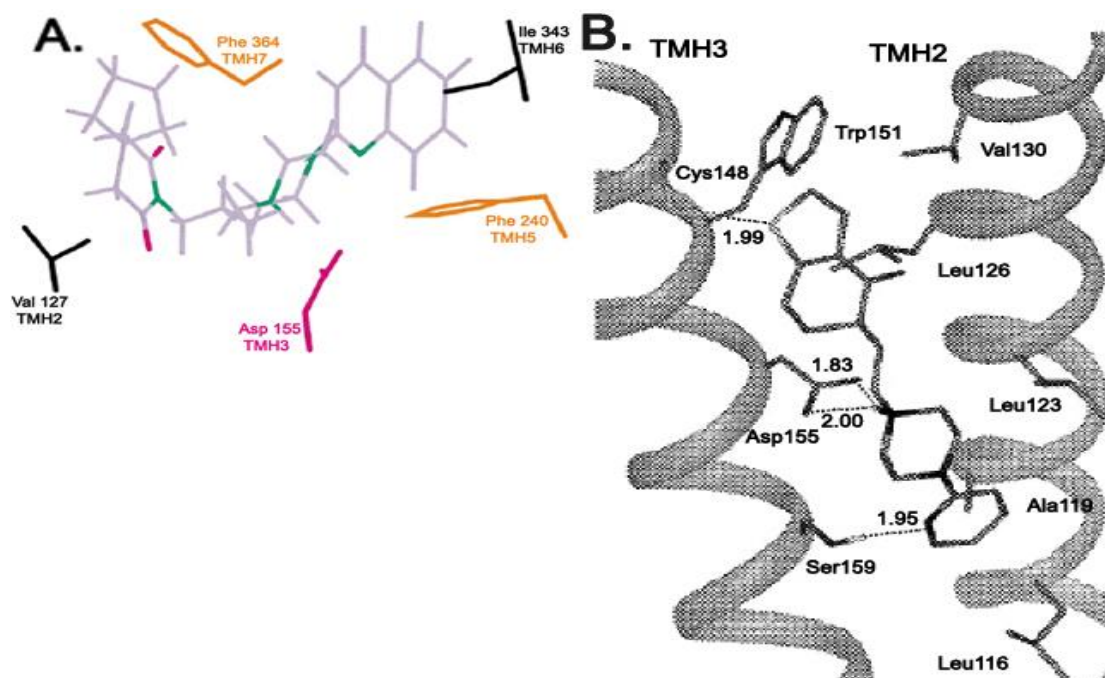
oraz stabilizujących oddziaływań hydrofobowych z TMH 2 i 7 (Ryc. 7B).

Zdaniem Klabunde i Eversa [30], w procesie dokowania obszary ligandu o charakterze hydrofobowym i aromatycznym wchodzą w kieszeń utworzoną przez arylowe i alifatyczne łańcuchy boczne aminokwasów helis 4, 5 i 6, takich jak Phe6.44, Trp6.48 i Phe5.47. Jednocześnie polarna grupa Asp w pozycji 6.55 staje się donorem wiązania wodorowego dla I klasy ligandów receptora 5-HT<sub>2A</sub> [30,31], a końcowy pierścień aromatyczny (hydrofobowy) tej grupy związków może wiązać się z grupami z TMH 3 (Trp3.28) i TMH 2 (Thr2.64) [30]. Klasa II antagonistów natomiast [30,31] oddziałuje z agonistycznym miejscem wiążącym receptora 5-HT<sub>2A</sub>, zlokalizowanym między TMH 3, TMH 5 i TMH 6 [30].

## 5. Wiązanie ligandów do receptora 5-HT<sub>7</sub>

Dotychczas opisano cztery izoformy ludzkiego receptora 5-HT<sub>7</sub> (5-HT<sub>7A</sub>, 5-HT<sub>7B</sub>, 5-HT<sub>7C</sub>, 5-HT<sub>7D</sub>), przy czym dominującą postacią jest 5-HT<sub>7A</sub> [32], złożona z 445 aminokwasów [33]. Podobieństwo sekwencji aminokwasowej między receptorem 5-HT<sub>7</sub> a 5-HT<sub>1A</sub> sięga 38%, natomiast homologia receptorów 5-HT<sub>7</sub> i 5-HT<sub>2A</sub> wynosi 28% [34]. Okazało się [35], że wśród aminokwasów pozostających w kontaktach van der Waalsa z ligandami w receptorach 5-HT<sub>7</sub> i 5-HT<sub>1A</sub>, tylko trzy są różne: Glu7.35 (5-HT<sub>7</sub>)-Gly (5-HT<sub>1A</sub>), Arg7.36-Ala i Leu7.39-Asn. Sekwencja aminokwasów w miejscach wiążących innych typów receptorów z grupy białek G (5-HT<sub>2A</sub>, D<sub>2</sub>,  $\alpha_1$ ) również wykazuje podobieństwo, szczególnie w obrębie helisy 4 i 6. Z kolei największe różnice widać w budowie TMH 7-3, miejsc, które wiążą selektywnych antagonistów receptora 5-HT<sub>7</sub>.

Pierwsze prace dotyczące dokowania antagonisty do receptora 5-HT<sub>7</sub> opublikowała grupa Lopez-Rodriguez [36], natomiast Vermeulen wraz ze współpracownikami [37] byli



Ryc. 7. Model oddziaływania łańcuchowych arylopiiperazyn z receptorem 5HT<sub>2A</sub> według grup: (A) Bronowskiej [15]; (B) Brea [26].

autorami pierwszych badań nad metodyką wiązania agonistów.

Pierwsze prace dotyczące dokowania antagonisty do receptora 5-HT<sub>7</sub> opublikowała grupa Lopez-Rodriguez [36], natomiast Vermeulen wraz ze współpracownikami [37] byli autorami pierwszych badań nad metodyką wiązania agonistów.

W przypadku antagonistów, grupa karbonylowa imidu tworzy wiązanie wodorowe z grupami hydroksylowymi Ser5.42 i Thr 5.43. Znaczącą rolę w stabilizowaniu lokalnej trójwymiarowej struktury białka receptorowego przypisano oddziaływaniom C-H... $\pi$ , utworzonym między łańcuchami Val3.33 i Ile4.56 a pierścieniem aromatycznym ligandu. Protonowany atom azotu piperazyny tworzy wiązanie jonowe z atomem O<sub>8</sub> Asp3.32, a grupa arylowa arylopiiperazyn zajmuje przestrzeń między TMH 3 i 7, wiążąc się z aromatycznymi Phe3.28 i Tyr7.43 (Ryc. 8A).

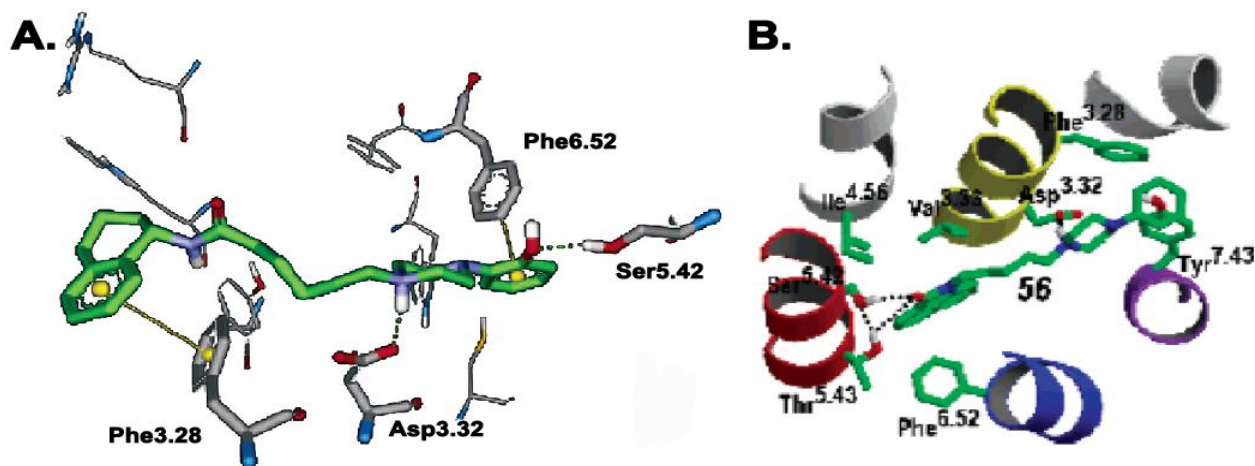
Dla agonistów [37] charakterystyczne są wiązania wodorowe tworzące się między Thr244 i podstawnikiem aromatycznego pierścienia ligandu, natomiast pomiędzy dodatnio naładowaną grupą aminową ligandu a resztą Asp162 stwierdza się obecność oddziaływań elektrostatycznych. Jednocześnie powstają oddziaływania hydrofobowe między grupą aromatyczną ligandu a szeregiem aminokwasów TMH 6 (Phe336, Trp340, Phe343) (Ryc. 8B).

Bliskość budowy miejsc wiążących oraz powinowactwo wielu ligandów do obu receptorów 5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>7</sub> pozwoliło na stworzenie modelu receptora 5-HT<sub>7</sub> na drodze modelowania homologicznego [35]. Ustalono, że miejsce wiążące receptora 5-HT<sub>7</sub> zlokalizowane jest wewnątrz siedmiohelikalnej wiązki biegnącej wzdłuż transbłonowej helisy TMH 3, z centralnie rozmieszczoną resztą Asp3.32, która stanowi główny punkt wiążący ligandu. Miejsce wiążące podzielone jest na dwie symetryczne, równoważne sobie kieszenie. Pierwsza, ukryta głęboko we wnętrzu receptora, mieści się między TMH 4 a 6, natomiast druga,

bardziej wysunięta na zewnątrz, leży pomiędzy helisami 7 a 3. Obie posiadają podobne miejsca oddziaływania z grupami aromatycznymi (odpowiednio Phe6.52/Phe6.51/Trp6.48 i Phe3.28/Arg7.36) oraz zbliżone obszary akceptorów wiązań wodorowych (Ser5.42 i Tyr7.43). Wszyscy antagoniści receptora 5-HT<sub>7</sub> tworzą wiązanie jonowe z Asp3.32, a ponadto wchodzi w przynajmniej jedno oddziaływanie typu C-H... $\pi$  lub  $\pi$ ... $\pi$ , tworząc jedno lub więcej wiązań wodorowych z receptorem (Ryc. 8A). Ligandy arylopiiperazyne zajmują jednocześnie obie kieszenie wiążącego. Pierścień aromatyczny grupy amidowej wchodzi w kieszeń między TMH 4-6, tworząc specyficzne oddziaływania typu C-H... $\pi$  lub van der Waals z jedną lub większą liczbą reszt aminokwasowych helisy 6 (Phe6.52/Phe6.51/Trp6.48). Końcowa grupa imidowa zajmuje kieszeń między TMH 7-3, natomiast tlen grupy karbonylowej może oddziaływać z Tyr7.43.

## 6. Wnioski

Jak wynika z przedstawionego przeglądu, dopiero wprowadzenie obliczeniowych metod komputerowych pozwoliło na rozpoczęcie efektywnego modelowania oddziaływania ligandów z receptorami. Dotychczas w literaturze opisano wiele modeli wiązania ligandów z receptorem typu 5-HT. Jednakże w zależności od założeń początkowych i przyjętej metody obserwuje się różnice w modelach nawet dla tego samego podtypu receptora 5-HT. Przypuszczenie, że niewielka cząsteczka ligandu może być wiązana na różne sposoby, zostanie zweryfikowana w wyniku zastosowania coraz doskonalszych przybliżeń matematycznych.



Ryc. 8. Kompleks ligandu arylopiperazyńowego (antagonisty) z receptorem 5-HT<sub>7</sub> w symulacjach zespołów: (A) Kotaczkowskiego [35]; (B) Lopez-Rodriguez [36].

#### WYKAZ SYMBOLI I SKRÓTÓW

Ala	alanina
AR, Ar	grupa aromatyczna
Arg	arginina
Asn	asparagina
Asp	kwas asparaginowy
CSD	strukturalna baza danych Cambridge (ang. Cambridge Structural Database)
Cys	cysteina
Glu	kwas glutaminowy
Gly	glicyna
HBA	akceptor wiązania wodorowego (ang. Hydrogen Bond Acceptor)
HBD	donor wiązania wodorowego (ang. Hydrogen Bond Donor)
5-HT	5-hydroksytryptamina; serotonina; receptor serotoninowy
Ile	izoleucyna
Leu	leucyna
Phe	fenylalanina
Ser	seryna
TMH	transbłonowa $\alpha$ -helisa (ang. Transmembrane Helix)
TM	transbłonowa $\alpha$ -helisa
Tor	kąt torsyjny
Trp	tryptofan
Tyr	tyrozyna
Val	walina

#### BIBLIOGRAFIA

1. Sylte I., Bronowska A., Dahl S.G., Eur. J. Pharmacol. 2001, 416, 33
2. Kapetanovic I.M., Chem. Biol. Interact. 2008, 171, 165
3. Ishiguro M., ChemBioChem 2004, 5, 1210
4. Pardo L., Deupi X., Dölker N., Lopez-Rodriguez M.L., Campillo M., ChemBioChem 2007, 8, 19
5. Silverman R.B., Chemia organiczna w projektowaniu leków, WNT, Warszawa, 2007
6. Giacovazzo C., Fundamentals of Crystallography, Oxford University Press, USA, 2002
7. Allen F. H., Acta Cryst., 2002, B58, 380

8. The Cambridge Structural Database, 2007, 5, 59
9. Siracusa M.A., Salerno L., Modica M.N., Pittala V., Romeo G., Amato M.E., Nowak M., Bojarski A.J., Mereghetti I., Cagnotto A., Mennini T., J. Med. Chem., 2008, 51, 4529
10. Paluchowska M.H., Bojarski A.J., Charakchieva-Minol S., Wesolowska A., Eur. J. Med. Chem., 2002, 37, 273
11. Nichols D. E., Nichols Ch.D., Chem. Rev. 2008, 108, 1614
12. Kitson S.L., Curr. Pharm. Des. 2007, 13, 2621
13. Palczewski K., Kumasaka T., Hori T., Behnke C.A., Motoshima H., Fox B.A., Le Trong I., Teller D.C., Okada T., Stenkamp R.E., Yamamoto M., Miyano M., Science. 2000, 289, 739
14. Nowak M., Kotaczkowski M., Pawłowski M., Bojarski A.J., J. Med. Chem., 2006, 49, 205
15. Bronowska A., Leś A., Chilmonecznyk Z., Filipek S., Edvardsen Ø., Østensen R., Bioorg. Med. Chem. 2001, 9, 881
16. Strzelczyk A.A., Jarończyk M., Chilmonecznyk Z., Mazurek A.P., Chojnacka-Wójcik E., Sylte I., Biochem. Pharmacol. 2004, 67, 2219
17. Sylte I., Bronowska A., Dahl S.G., Europ. J. Pharm., 2001, 416, 33
18. López-Rodríguez M.L., Morcillo M.J., Fernández E., Benhamú B., Tejada I., Ayala D., Viso A., Campillo M., Pardo L., Delgado M., Manzanares J., Fuentes J.A., J. Med. Chem. 2005, 48, 2548
19. López-Rodríguez M.L., Morcillo M.J., Fernández E., Rosado M.L., Pardo L., Schaper K., J. Med. Chem. 2001, 44, 198
20. López-Rodríguez M.L., Vicente B., Deupi X., Barrondo S., Olivella M., Morcillo M.J., Behamú B., Ballesteros J.A., Sallés J., Pardo L., Mol. Pharmacol. 2002, 62, 15
21. López-Rodríguez M.L., Morcillo M.J., Fernández E., Benhamú B., Tejada I., Ayala D., Viso A., Olivella M., Pardo L., Delgado M., Manzanares J., Fuentes J.A., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13, 1429
22. Seeber M., De Benedetti P.G., Fanelli F., J. Chem. Inf.Comput.Sci., 2003, 43, 1520
23. Zlatović M., Sukalovic V.V., Schneider Ch., Roglic G.M., Bioorg. Med. Chem. 2006, 14, 2994
24. Becker O.M., Dhanoa D.S., Marantz Y., Chen D., Shacham S., Cheruku S., Heifetz A., Mohanty P., Fichman M., Sharadendu A., Nudelman R., Kauffman M., Noiman S., J. Med. Chem. 2006, 49, 3116
25. Zlatović M.V., Šukalić V.V., Kostić-Rajačić S., Anđić D.B., Roglić G.M., J. Serb. Chem. Soc., 2006, 71, 1125
26. Brea J., Rodrigo J., Carrieri A., Sanz F., Cadavid M.I., Enguix M.J., Villazón M., Mengod G., Yolanda Caro, Masaguer Ch.F., Raviña E., Centeno N.B., Carotti A., Loza M.I., J. Med. Chem. 2002, 45, 54
27. Roth B.L., Choudhary M.S., Khan N., Uluer A.Z., J. Pharmacol. Exp. Ther. 1997, 280, 576



28. Shapiro D.A., Kristiansen K., Kroeze W.K., Roth B.L., *Mol. Pharmacol.* 2000, 58, 877
29. Ebersole B.J., Visiers I., Weinstein H., Sealfon S.C., *Mol. Pharmacol.* 2003, 63, 36
30. Klabunde T., Evers A., *Chembiochem.* 2005, 6, 876
31. Rowley M., Bristow L. J., Hutson P. H., *J. Med. Chem.* 2001, 44, 477
32. Mahe C., Bernhard M., Bobirnac I., Keser C., Loetscher E., Feuerbach D., Dev K.K., Schoeffter P., *Br. J. Pharmacol.* 2004, 143, 404
33. Leopoldo M., *Curr. Med. Chem.* 2004, 11, 629
34. Hoyer D., Hannon J.P., Martin G.R., *Pharm. Biochem. Behav.* 2002, 71, 533
35. Kotłaczkowski M., Nowak M., Pawłowski M., Bojarski A.J. - *J. Med. Chem.* 2006, 49, 6732
36. Lopez-Rodriguez M. L., Porras E., Morcillo M. J., Benhamu B., Soto L. J., Lavandera J. L., Ramos J. A., Olivella M., Campillo M., Pardo L., *J. Med. Chem.* 2003, 46, 5638
37. Vermeulen E. S., Schmidt A. W., Sprouse J. S., Wikstrom H. V., Grol C. J., *J. Med. Chem.* 2003, 46, 5365