

УДК 577.112

АГОНИСТЫ В ВЫТЯНУТОЙ КОНФОРМАЦИИ СТАБИЛИЗИРУЮТ АКТИВИРОВАННОЕ СОСТОЯНИЕ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

© 2022 А.В. Ефимов^{1*}, О.В. Мещерякова², А.Г. Рязанов³

¹ Институт белка РАН,
142290 Пущино, Московская обл., Россия; электронная почта: efimov@protres.ru

² Институт биологии КарНЦ РАН, 185910 Петрозаводск, Россия

³ Медицинская школа имени Рутгерса Роберта Вуда Джонсона, кафедра фармакологии,
08854 Пискатауэй, Нью-Джерси, США

Поступила в редакцию 21.03.2022

После доработки 21.06.2022

Принята к публикации 21.06.2022

В настоящей работе проведён сравнительный анализ структур агонистов и антагонистов, их взаимодействий с трансмембранными (ТМ) β -адренорецепторами, а также предложен механизм активации этих рецепторов. Характерной особенностью молекулы агониста и антагониста является то, что она имеет гидрофобную «головку» (чаще всего это одно или два ароматических кольца) и «хвостик» с положительно заряженной аминогруппой. Во всех агонистах β -адренорецепторов между ароматическим кольцом «головки» и атомом азота аминогруппы находятся два атома углерода. В молекулах антагонистов это расстояние уменьшено или увеличено до четырёх атомов за счёт дополнительных атомов углерода и кислорода. «Головка» агониста, как правило, имеет два донора или акцептора водородных связей в *para*- и *meta*-положениях ароматических колец. В «головке» антагониста таких доноров/акцепторов нет или они находятся в неподходящих положениях. Как показывает анализ известных пространственных структур комплексов агонистов и β -адренорецепторов, «головка» агониста образует две водородные связи со спиралью ТМ5, а «хвостик» образует ионную связь с остатком аспарагиновой кислоты D3.32 спирали ТМ3 и одну или две Н-связи со спиралью ТМ7. «Хвостик» антагониста может образовывать аналогичные связи, однако его «головка» и спираль ТМ5 взаимодействуют намного слабее. В результате этих взаимодействий молекула агониста приобретает вытянутую конформацию в виде «натянутой струны», в отличие от молекулы антагониста, которая имеет более длинный, изогнутый и гибкий «хвостик». «Натянутая струна» агониста взаимодействует со спиралью ТМ6 (прежде всего с остатком триптофана W6.48) и поворачивает её, что приводит к открыванию центра связывания G-белка на внутриклеточной стороне рецептора. Гибкая и большая по размерам молекула антагониста такого эффекта не оказывает.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: β -адренорецептор, GPCR, агонист, антагонист, механизм активации.

DOI: 10.31857/S0320972522070089, **EDN:** AVYRMR

ВВЕДЕНИЕ

Рецепторы, сопряжённые с G-белком (G-protein coupled receptor, GPCR), образуют самое большое семейство клеточных мембранных рецепторов, включающее только у человека более 800 белков, которые являются мишенями по крайней мере 30% современных лекарственных препаратов [1, 2]. В связи с этим GPCR ак-

тивно исследуются на протяжении нескольких последних десятилетий, хорошо изучены многие аспекты их биологии, биохимии и фармакологии [1–3]. Первоначально поведение GPCR описывалось простой двухстадийной моделью. Однако растущее число новых данных указывает на то, что GPCR не являются «молекулярными переключателями» («molecular switches»), а представляют собой «молекулярные передатчики» («molecular relays»), т.е. белки с множественными промежуточными стадиями между активными и неактивными состояниями [4–8].

Полученные кристаллографические данные позволяют изучить структуры как ак-

Принятые сокращения: ТМ – трансмембранные; β -AR – β -адренорецептор; GPCR – рецептор, сопряжённый с G-белком.

* Адресат для корреспонденции.

тивных, так и неактивных функциональных состояний GPCR [9, 10]. Структуры GPCR, разрешённые к настоящему времени, имеют одинаковую укладку пучка из семи трансмембранных (ТМ) α -спиралей с тремя внешними и тремя внутриклеточными петлями. Внеклеточная часть рецептора является участком, ответственным за связывание лигандов, в то время как внутриклеточная область рецептора взаимодействует с G-белками, β -аррестинами и другими эффекторами. Анализ известных структур показывает, что в процессе активации рецептора небольшие изменения взаимного расположения участков трансмембранных спиралей во внеклеточной части приводят к существенным изменениям расположения участков спиралей на цитоплазматической стороне [11–12]. Связывание агониста во внеклеточном сайте связывания рецептора приводит к открытию внутриклеточной области связывания G-белка, что, в свою очередь, обеспечивает активацию G-белка (освобождению GDP) и инициирует сигнальный каскад.

Прогресс в кристаллографии мембранных белков и связанных с ней методов в последнее десятилетие [7, 13] пролил свет на многие аспекты структуры, активации и физиологии рецепторов, однако некоторые детали механизма узнавания лигандов и активации рецепторов до сих пор непонятны. Одной из главных целей данной работы является анализ структуры лигандов β -адренорецепторов (β -AR) и их комплексов с рецепторами. Результаты этого исследования позволяют заключить, что молекулы агонистов приобретают вытянутую конформацию в виде «натянутой струны» и стабилизируют β -адренорецепторы в активированном состоянии, а молекулы антагонистов, которые имеют более длинные и гибкие «хвостики», такого эффекта не оказывают.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящей работе основными методами исследования были стереохимический анализ известных пространственных структур комплексов β -адренорецепторов с соответствующими лигандами и сравнительный анализ химической структуры агонистов и антагонистов и их конформаций в комплексах. Для этого была создана база данных таких комплексов, которая включает 64 структуры, установленные методами кристаллографии к настоящему времени. Кроме того, была собрана база данных β -адренорецепторов, включающая экспериментально подтверждённые последова-

тельности, взятые из Swiss-ProtUniProt [14]. Координаты атомов комплексов рецепторов с лигандами были взяты из Банка белковых структур (PDB, URL: <https://www.rcsb.org>) [15]. Анализ пространственных структур рецепторов и их лигандов проводился визуально с помощью программ молекулярной графики RasMol [16] и PyMOL (версия 1.4.1 Schrödinger, LLC). Для обозначения подтипов β -адренорецепторов использовалась номенклатура, рекомендованная Комитетом NC-IUPHAR по адренорецепторам. Для маркировки аминокислотных остатков в β -адренорецепторах была использована номенклатура, предложенная Ballesteros и Weinstein [17] специально для рецепторов. Множественное выравнивание последовательностей аминокислот проводилось с помощью программы Clustal Omega (версия 1.2.4) на платформе UniProt [14]. Изображения структур молекул лигандов были взяты на порталах Drug Information Portal, ChEBI и ChemSpider.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ химической структуры лигандов β -адренорецепторов. Лиганды GPCR-рецепторов в зависимости от эффективности активации могут быть разделены на 4 группы: полные или частичные агонисты, которые обеспечивают, соответственно, максимальный или частичный функциональный ответ; обратные агонисты, которые уменьшают базовую активность рецептора (активность в отсутствие лиганда) и антагонисты, которые конкурируют с другими лигандами за центр связывания, однако не вызывают связывание G-белка.

В табл. 1 представлены химические структуры агонистов β -адренорецепторов, которые к настоящему времени закристаллизованы в комплексах с рецепторами. Характерная особенность этих молекул состоит в том, что каждая из них имеет ароматическую «головку» и «хвостик». «Хвостик» агониста всегда состоит из этаноламина, имеет положительно заряженную аминогруппу, может иметь различные заместители, связанные с аминогруппой. Гидроксильные группы, расположенные в *пара*- и *мета*-положениях катехольной «головки» агонистов, а также гидроксильные группы в *пара*-положении у агонистов некатехольного типа могут образовывать водородные связи со спиралью рецепторов.

Ароматические кольца некатехольного типа могут иметь и другие доноры/акцепторы Н-связей, которые также могут принимать

Таблица 1. Агонисты β -адренорецепторов (β -AR), для которых получены кристаллические структуры комплексов рецептора с лигандом

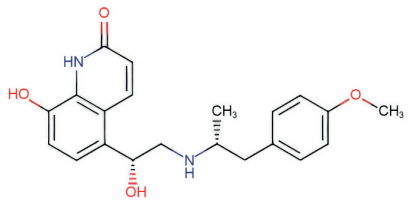
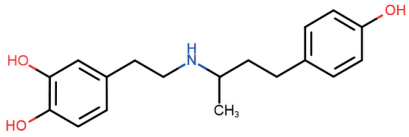
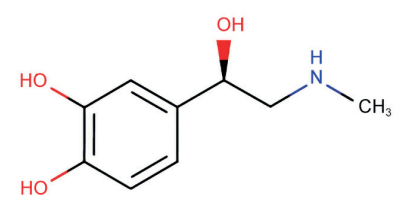
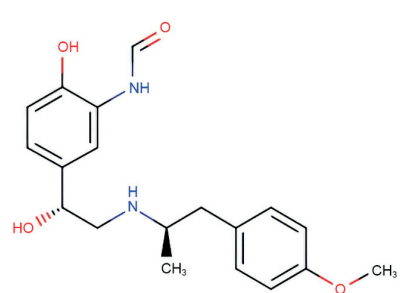
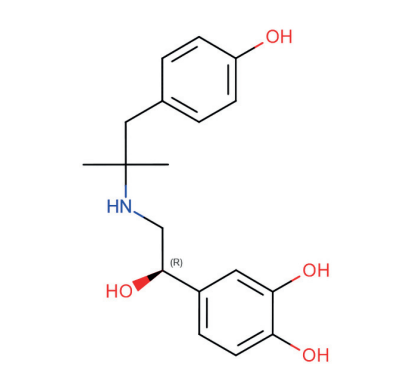
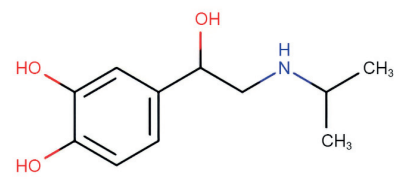
Агонист	Структура	β -AR, организм	PDB код	Разрешение, Å	Источник
Carmoterol		β_1 -AR, индейка	2Y02	2,60	[18]
Dobutamine		β_1 -AR, индейка	2Y00	2,50	[18]
			6H7L	2,70	[19]
Epinephrine		β_1 -AR, человек	4LDO	3,20	[20]
		β_2 -AR, человек	7BTS	3,13	[21]
Formoterol		β_1 -AR, индейка	6IBL 6TKO	2,70 3,30	[22]
		β_2 -AR, человек	7BZ2	3,82	[23]
Hydroxybenzyl-isoproterenol		β_2 -AR, человек	4LDL	3,10	[20]
Isoprenaline		β_1 -AR, индейка	2Y03	2,85	[18]
			6H7J	2,80	[19]
		β_2 -AR, человек	7DHR	3,80	[24]

Таблица 1 (окончание)

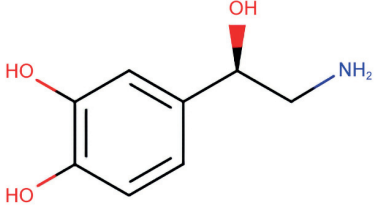
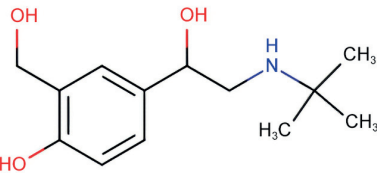
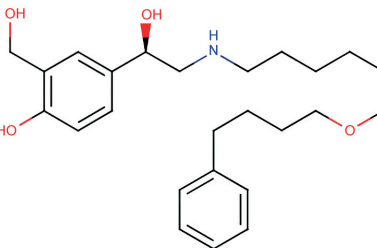
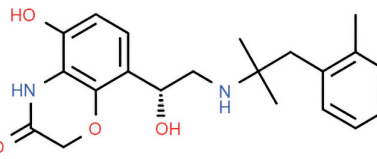
Агонист	Структура	β -AR, организм	PDB код	Разрешение, Å	Источник
Noradrenaline		β_1 -AR, человек	7BU6	2,70	[21]
Salbutamol		β_1 -AR, индейка	6H7M	2,76	[19]
			2Y04	3,05	[18]
		β_2 -AR, человек	7DHI	3,26	[24]
Salmeterol		β_2 -AR, человек	6MXT	2,96	[25]
BI167107(Q27464220)		β_1 -AR, человек	7BU7	2,60	[21]
		β_2 -AR, человек	4LDE	2,79	[20]
			3P0G 3SN6	3,50 3,20	[26]
			6N48	3,20	[27]

Таблица 2. Блокаторы β -адренорецепторов (частичные агонисты, антагонисты и обратные агонисты), для которых получены кристаллические структуры комплексов рецептора с лигандом

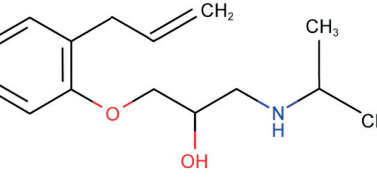
Блокатор	Структура	β -AR, организм	PDB код	Разрешение, Å	Источник
Alprenolol		β_2 -AR, человек	3NYA	3,16	[29]
			6PS2 6PRZ	2,40 2,80	[30]
			6OBA	3,10	[31]

Таблица 2 (продолжение)

Блокатор	Структура	β -AR, организм	PDB код	Разрешение, Å	Источник
Bucindolol		β_1 -AR, индейка	4AMI	3,20	[32]
Carazolol		β_1 -AR, человек	7BVQ	2,50	[21]
		β_1 -AR, индейка	2YCW	3,00	[33]
		β_2 -AR, человек	2R4R 2R4S	3,40	[34]
			2RH1	2,40	[35]
			4GBR	3,99	[36]
			5D5A 5D5B	2,48 3,80	[37]
			5JQH	3,20	[38]
6PS0	3,40	[30]			
Carvedilol		β_1 -AR, индейка	4AMJ	2,30	[32]
		β_2 -AR, человек	6PS3	2,50	[30]
Cyanopindolol		β_1 -AR, индейка	2VT4	2,70	[39]
			2YCX 2YCY	3,25 3,15	[33]
			4BVN	2,10	[40]
			5F8U	3,35	[41]
			6H7O	2,80	[19]

Таблица 2. (продолжение)

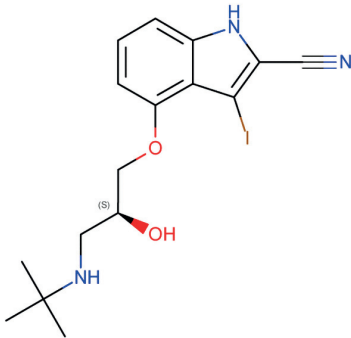
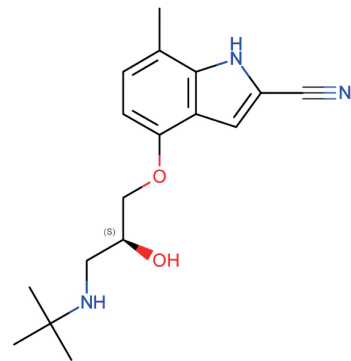
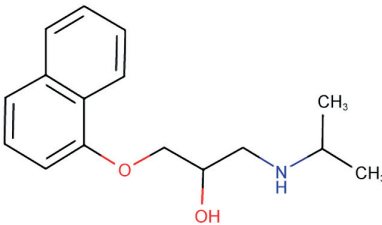
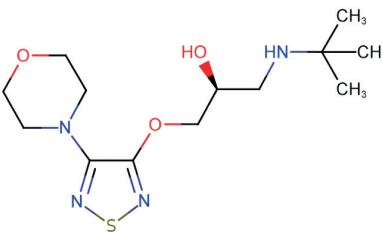
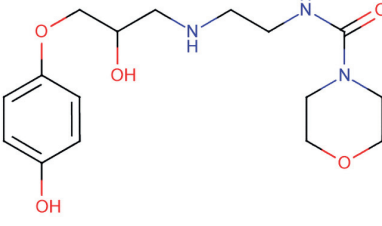
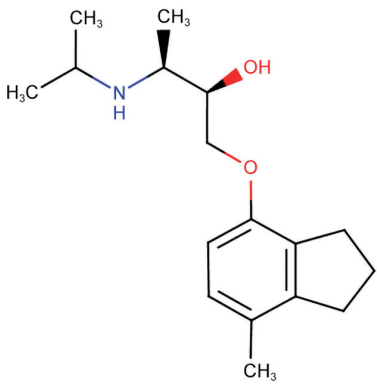
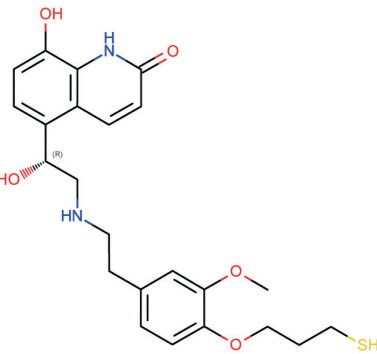
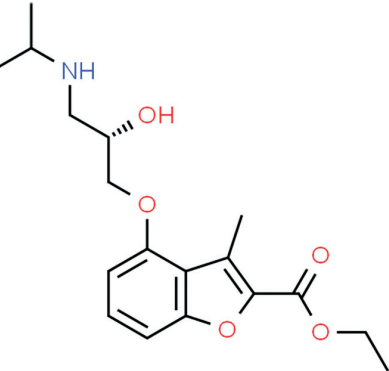
Блокатор	Структура	β -AR, организм	PDB код	Разрешение, Å	Источник
Iодоцианопиндолол		β_1 -AR, индейка	2YCZ	3,65	[33]
7-Methylcyano-pindolol		β_1 -AR, индейка	5A8E	2,40	[42]
Propranolol		β_2 -AR, человек	6PS5	2,90	[30]
Timolol		β_2 -AR, человек	3D4S	2,80	[43]
			6PS1 6PS6	3,20 2,70	[30]
Xamoterol		β_1 -AR, индейка	6H7N	2,50	[19]

Таблица 2 (окончание)

Блокатор	Структура	β -AR, организм	PDB код	Разрешение, Å	Источник
ICI-118,551		β_2 -AR, человек	3NY8	2,84	[29]
			6PS4	2,60	[30]
Q27460040		β_2 -AR, человек	3PDS	3,50	[44]
Q27461782		β_2 -AR, человек	3NY9	2,84	[29]

участие во взаимодействии со спиральными участками рецепторов. Таким образом, агонисты GPCR имеют два главных центра полярных взаимодействий с рецептором: с одной стороны, доноры/акцепторы Н-связей «головки», а с другой стороны, доноры/акцепторы и положительно заряженная аминогруппа «хвостика». Возникает вопрос, влияет ли расстояние между этими центрами на специфичность взаимодействия между лигандом и рецептором. Как

видно, длина той части «хвостика», которая расположена между N-атомом аминогруппы и ароматическим кольцом, одинакова во всех агонистах и равна трём ковалентным связям. Другими словами, между атомом N аминогруппы и бензольным кольцом агониста всегда находится два атома углерода. Более того, во всех агонистах с 6-членными ароматическими кольцами O-атомы гидроксильных групп в *para*- и *meta*-положениях «головок» и N-атомы ами-

ногрупп «хвостиков» разделены семью или шестью ковалентными связями соответственно.

Для сравнения в табл. 2 представлены частичные агонисты, антагонисты и обратные агонисты, обозначенные здесь как блокаторы β-адренорецепторов, в соответствии с терминологией, предложенной Emtage et al. [28]. Как видно, они также обладают ароматической «головкой» и «хвостиком с положительно заряженной аминок группой». Однако, в отличие от агонистов, эти лиганды-блокаторы имеют либо более длинные (табл. 2), либо более короткие (например, доксипин или бретилиймтозилат, которые в табл. 2 не представлены) участки «хвостиков» между N-атомом аминок группы и ароматическим кольцом. В блокаторах β-адренорецепторов между N-атомом аминок группы и ароматическим кольцом находятся, как правило, пять ковалентных связей, т.е. 4 атома (во многих случаях один из них – кислород) в отличие от агонистов, у которых в этой части «хвостика» три ковалентных связи, т.е. всего 2 атома углерода. Более того, многие антагонисты и обратные агонисты в ароматических «головках» не имеют доноров или акцепторов N-связей, или они располагаются в положениях, которые не позволяют им взаимодействовать со спиралью ТМ5. Отметим, что NH-группы цианопиндолола и каразолола расположены в *meta*-положениях относительно «хвостиков». Ещё одна особенность β-блокаторов состоит в том, что они, как правило, имеют «головки»

значительно большего размера, состоящие из двух или даже трёх колец в отличие от молекул агонистов.

Два центра полярных взаимодействий между β-адренорецепторами и их лигандами. Связывающий карман лигандов β-адренорецепторов располагается внутри ТМ-участка рецептора

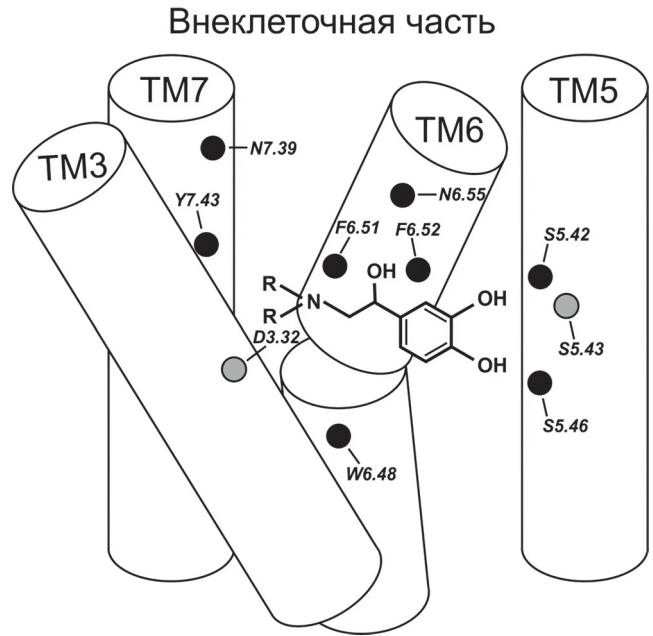


Рис. 1. Схематическое изображение типовой структуры агониста и α-спирали, образующих сайт связывания с ним в β-адренорецепторах. Кружками показаны ключевые аминокислотные остатки, взаимодействующие с лигандом

	TM3	TM5	TM6	TM7				
	D3.32 T3.37	S5.42 S5.43 S5.46	W6.48 F6.50 F6.51 F6.52	N7.39 Y7.43 N7.49				
SP P06598 ADRB1_HUMAN	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	320-349	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	355-377
SP P47899 ADRB1_MACMU	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	323-352	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	358-380
SP Q9T196 ADRB1_BOVIN	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	GYAITSSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	307-336	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	342-364
SP Q28998 ADRB1_PIG	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-247	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	310-339	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	345-367
SP Q28927 ADRB1_SHEEP	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	GYAITSSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	307-336	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	342-364
SP P79148 ADRB1_CANLF	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	317-346	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	352-374
SP Q9T576 ADRB1_FELCA	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	316-345	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	351-373
SP P07700 ADRB1_MELGA	CWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAI	116-137	AYAIASSIISFYPLLLIMFVYLRVY	206-231	HKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLVNIVNF	286-315	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	321-343
SP P18090 ADRB1_RAT	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	309-338	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	344-366
SP P34971 ADRB1_MOUSE	LWTSVDVLCVTSASIEITLCVIAL	133-154	AYAIASSVVSFYPLCIMAFVYLRVF	223-248	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLANVVKAF	309-338	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	344-366
SP Q42574 ADRB1_XENLA	EFWTSVDVLCVTSASIEITLCVIST	110-131	AYAIASSIISFYPLLLIMFVYLRVY	201-226	QKALKTLGIMGVFTLCWLPFFLVNIVNF	260-297	PDRLVFFVNWLGANSFNPFLIYCRS	303-325
SP P07550 ADRB2_HUMAN	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QAYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q28509 ADRB2_MACMU	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QAYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q28044 ADRB2_BOVIN	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q28997 ADRB2_PIG	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHGI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP P54833 ADRB2_CANLF	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q9T575 ADRB2_FELCA	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q81424 ADRB2_CAVPO	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIA	108-128	AYAIASSIVSFYPLVIMVVFVY	198-218	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVY	275-295	YVILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	307-327
SP P04274 ADRB2_MESAU	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP P10608 ADRB2_RAT	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP P18762 ADRB2_MOUSE	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q70431 ADRB2_MERUN	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	33-55	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	123-146	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHAI	201-224	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	232-251
SP Q4KWL2 ADRB2_TSCYR	EFWTSIDVLCVTSASIEITLCVIAV	107-129	QYAIASSIVSFYPLVIMVVFVYS	197-220	LGIMGTFTLCWLPFFLVNIVHVI	275-298	EVYILLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	306-329
SP Q8U078 ADRB2_ONCMY	EFWTAADVLCVTSASIEITLCVIAL	110-132	AYAVASSVVSFYPLVIMVVFVYS	200-223	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVNIVVTI	283-306	LNWLGVNSGFNPFLIYCRS	319-337
SP P13945 ADRB3_HUMAN	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YVLLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANVL	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP Q28524 ADRB3_MACMU	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YVLLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANVL	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP P46626 ADRB3_BOVIN	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP Q9S252 ADRB3_PIG	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP Q9XT58 ADRB3_SHEEP	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP Q9XT57 ADRB3_CAPHI	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP Q02262 ADRB3_CANLF	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	112-133	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	204-225	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	293-314	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	327-347
SP Q9T574 ADRB3_FELCA	ELWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	111-133	IFVALSSVVSFYPLVIMVVFVY	202-225	LGMLMGFTFTLCWLPFFLVANV	294-317	AFALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	326-349
SP Q60493 ADRB3_CAVPO	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	109-130	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	201-222	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	291-312	VLLNWLGVNSGFNPFLIYCRS	325-345
SP P26255 ADRB3_RAT	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	109-130	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	201-222	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	290-311	VFTALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	324-344
SP P25962 ADRB3_MOUSE	LWTSVDVLCVTSASIEITLCALAV	109-130	YALLSSVVSFYPLVIMVVFVY	201-222	TLGLMGFTFTLCWLPFFLVANV	290-311	VFTALNWLGVNSGFNPFLIYCRS	324-344

Рис. 2. Множественное выравнивание последовательностей ТМ-спиралей 3, 5, 6 и 7 β-адренорецепторов различных видов животных. Последовательности собраны из базы Swiss-ProtUniProt (35 белков) [14]. Ключевые аминокислотные остатки в последовательностях выделены серым фоном

и главным образом состоит из внеклеточных частей ТМ-спиралей 3, 5, 6 и 7 (рис. 1). Многочисленные биохимические и генетические исследования, а также анализ кристаллических структур аминокергических рецепторов позволил установить ключевые аминокислотные остатки в этих спиралях [45], взаимодействующие с лигандами. Мы предлагаем сгруппировать их в два центра полярных взаимодействий. Во всех β -адренорецепторах заряженные амины лигандов взаимодействуют с консервативным остатком аспарагиновой кислоты D3.32. Во взаимодействии с аминокислотными группами, а также с другими полярными группами «хвостиков» принимают участие консервативные остатки тирозина Y7.43 и остатки аспарагина N7.39. Таким образом, эти ключевые аминокислотные остатки образуют полярный центр связывания аминокислотных групп и других полярных групп «хвостиков» лигандов.

В другом центре полярных взаимодействий все β -адренорецепторы имеют остатки серина S5.42 и S5.46, и большинство из них имеют серин в положении 5.43. Таким образом, комплементарно расположенные доноры или акцепторы ароматической «головки» лиганда могут образовывать Н-связи с указанными аминокислотными остатками серинов. Недавние исследования [10] указывают, что треонин T3.37 также может взаимодействовать с полярными группами «головки» лигандов.

На рисунке 2 приведено выравнивание аминокислотных последовательностей ТМ-спиралей 3, 5, 6 и 7 подтипов β_1 -, β_2 - и β_3 -адренорецепторов различных видов животных. Оно показывает, что все ключевые аминокислотные остатки, упомянутые выше, являются высоко консервативными во всех подтипах β -адренорецепторов, последовательности которых установлены к настоящему времени.

Сравнение конформации агонистов, антагонистов и обратных агонистов, связанных с β -адренорецепторами. Рис. 3 демонстрирует в качестве примера кристаллические структуры агониста изопреналина (рис. 3, а) и антагониста цианопиндолола (рис. 3, б) в комплексе с адренергическим β_1 -рецептором в главном связывающем кармане [18, 33]. На рисунке хорошо видны боковые цепи остатков, образующих два центра полярных взаимодействий, а также конформации лигандов. На рис. 3, б чётко видно, что группа атомов О-С-С-С «хвостика» цианопиндолола находится в *gash*-конформации, т.е. наблюдается излом «хвостика», в то время как группа атомов С-С-С-Н «хвостика» изопреналина имеет *транс*-конформацию (рис. 3, а).

Рисунок 4 показывает, как эти структуры выглядят при наложении друг на друга. Здесь также хорошо видно, что группа атомов О-С-С-С образует излом «хвостика» цианопиндолола, а «хвостик» изопреналина имеет вытянутую конформацию. Как показывает анализ, такая

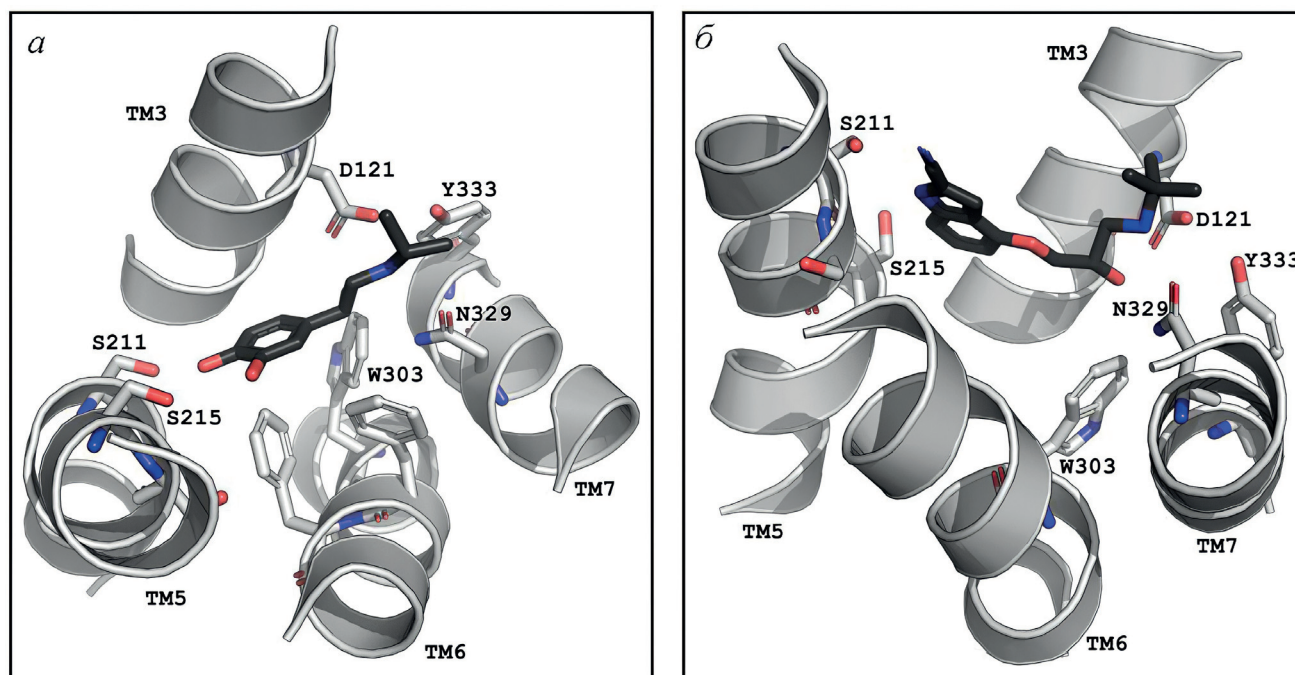


Рис. 3. Главный связывающий карман аминокергического β_1 -адренорецептора в комплексе с агонистом (изопреналин PDB ID, 2Y03) (а) и антагонистом (цианопиндолол PDB ID, 2YCY) (б). Изображение получено с использованием Программы молекулярной графики PyMOL

же картина наблюдается и в других комплексах агонистов и антагонистов с рецепторами (табл. 1 и 2). Аминогруппы обоих лигандов располагаются в центре связывания аминов (D3.32, N7.39 и Y7.43), тогда как гидроксильные группы «головки» катехола изопреналина так же, как аминогруппа и цианогруппа «головки» цианопиндолола, располагаются в другом центре полярных взаимодействий (S5.42, S5.43, S5.46). Однако общая геометрия агониста и антагониста сильно различается. В изопреналине «хвостик» имеет вытянутую *транс*-конформацию, и в целом молекула выглядит как «натянутая струна», которая стабилизирует активированное состояние рецептора. «Хвостик» цианопиндолола имеет излом между N-атомом аминогруппы и ароматическим кольцом, в результате чего создаётся зигзагообразная конформация (рис. 3 и 4). В других условиях (например, в нативной мембране, а не в кристаллической структуре) «хвостик» антагониста может перейти в вытянутую конформацию и обратно, т.е. в комплексах рецепторов с антагонистами TM-спирали могут иметь большую динамическую подвижность, чем в комплексах с агонистами [6].

Мы исследовали другие агонисты, связанные с соответствующими β -адренорецепторами, и обнаружили, что части «хвостиков» между N-атомами аминогрупп и ароматическими кольцами имеют вытянутые конформации во всех случаях (см., например, PDB ID: 2Y00, 2Y02, 2Y04, 3P0G, 3PDS, 3SN6, а также другие структуры, представленные в табл. 1). С другой стороны, показано, что антагонисты имеют изломы в частях «хвостиков» между N-атомами аминогрупп и ароматическими кольцами (см., например, PDB ID: 2VT4, 2YCW, 2RH1,

3D4S, 3NY8, 3NY9, 3NYA, 3PBL, 3RZE и другие структуры, представленные в табл. 2). Эти данные дают нам основания считать, что вытянутая конформация «хвостика» агонистов играет одну из ключевых ролей в активации β -адренорецепторов, а также может иметь значение и для других типов аминокергических рецепторов. Мы также предполагаем, что расстояние между двумя центрами полярных взаимодействий молекулы агониста должно быть равным (или близким) расстоянию между соответствующими центрами активированного рецептора.

Роль «натянутой струны» агониста в активации β -адренорецепторов. Стереохимический анализ пространственных структур, описанный выше, позволяет предположить, что молекула агониста может действовать как натянутая струна, которая стабилизирует взаимное расположение TM-спиралей 3, 5, 6 и 7, соответствующее активному состоянию рецептора (рис. 1). Выглядит так, как будто спираль TM5 с одной стороны и спирали TM3 и TM7 с другой стороны сблизилась в результате взаимодействия с агонистом. Важно отметить, эта «натянутая струна» взаимодействует с триптофаном W6.48, а также с ароматическими остатками фенилаланина F6.51 и F6.52. Эти взаимодействия, вероятно, являются ответственными за изменение пространственного расположения спирали TM6 в активном состоянии рецептора, т.е. за её вращение и/или вертикальное движение вокруг точки вращения, расположенной в середине мембраны, что приводит к открытию внутриклеточной части рецептора, которое необходимо для связывания G-белка [46–48]. Взаимодействие с триптофаном W6.48 вызывает небольшое вращение спирали TM6 во внеклеточной части рецептора, что

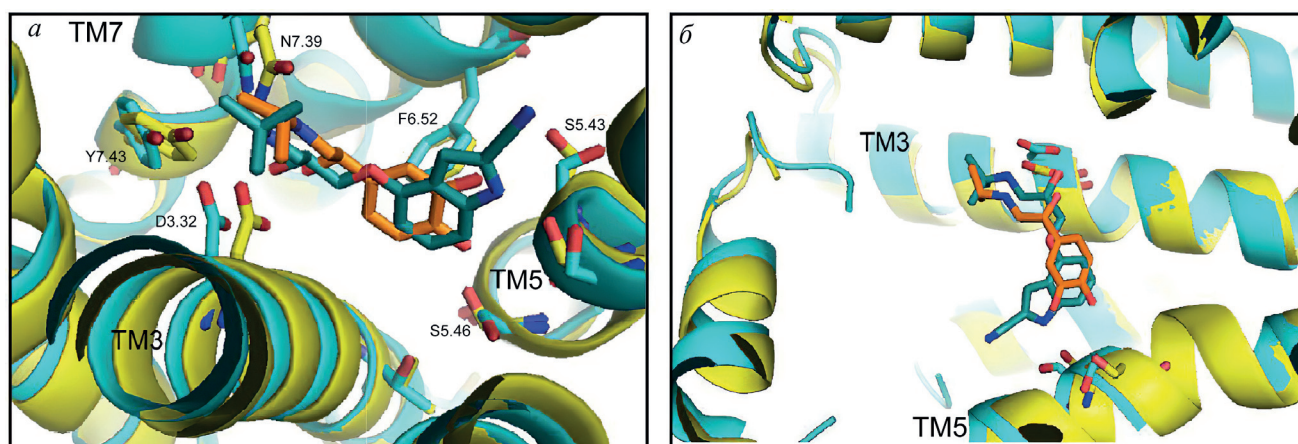


Рис. 4. Сравнение структуры агониста (изопреналин, оранжевый) в комплексе с β_1 -адренорецептором (PDB ID 2Y03, жёлтый) и структуры антагониста (цианопиндолол, сине-зелёный) в комплексе с β_1 -адренорецептором (PDB ID 2YCY, голубой). *а* – Вид с внеклеточной стороны рецептора; ключевые остатки аминокислот помечены в соответствии с нomenclатурой Ballesteros и Weinstein [17]. *б* – Сравнение конформации связанных лигандов при наложении пространственных структур комплексов. Изображение получено с использованием Программы молекулярной графики PyMOL

из-за характерного изгиба спирали, вызванного остатком пролина Р6.50, приводит к значительному увеличению амплитуды вращения в цитоплазматической части [11]. В отличие от агониста, антагонист или обратный агонист имеет более длинный фрагмент «хвостика», его гибкую конформацию и изгиб в середине «хвостика», а также слабые полярные взаимодействия «головки» со спиралью ТМ5. В связи с этим такие молекулы не могут действовать как «натянутая струна», несмотря на то что они занимают тот же самый активный центр рецептора, в результате их полярных и гидрофобных взаимодействий. Таким образом, взаимодействия этих молекул с рецепторами не могут существенно изменить взаимное расположение спирали ТМ6 относительно других спиралей и, следовательно, открыть сайт связывания с G-белком.

Основываясь на результатах нашего анализа, мы делаем несколько выводов о том, каким образом минимальные различия в структуре лигандов могут влиять на их функциональные характеристики.

1. Удлинение фрагмента «хвостика» агониста между N-атомом аминокислотной группы и его ароматическим кольцом скорее всего будет приводить к превращению агониста в антагониста.

2. Укорочение фрагмента «хвостика» антагониста или обратного агониста, имеющих полярные заместители в соответствующих позициях их ароматических «головок», до трёх ко-

валентных связей может привести к превращению их в агонистов или частичных агонистов.

3. Удаление гидроксильных групп катехола или соответствующих полярных заместителей в других ароматических «головках» может уменьшать активность агониста. Модификация этих полярных заместителей алифатическими или ароматическими группами, по всей вероятности, будет иметь тот же самый эффект.

4. Модификации молекул крупными заместителями в аминокислотных группах могут уменьшать или даже предотвращать связывание с рецепторами как агонистов, так и антагонистов.

5. Транс-конформация (вытянутая конформация) фрагмента «хвостика» агониста может быть превращена в *гош*- или *цис*-конформацию посредством химической модификации, что может привести к уменьшению активности агониста или даже превращению его в антагониста.

Финансирование. Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 20-04-00453).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой и иных сферах.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Drews, J. (2000) Drug discovery: a historical perspective, *Science*, **287**, 1960-1964, doi: 10.1126/science.287.5460.1960.
2. Eiger, D. S., Pham, U., Gardner, J., Hicks, C., and Rajagopal, S. (2022) GPCR systems pharmacology: a different perspective on the development of biased therapeutics, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **322**, 887-895, doi: 10.1152/ajpcell.00449.2021.
3. Costanzi, S., Siegel, J., Tikhonova, I. G., and Jacobson, K. A. (2009) Rhodopsin and the others: a historical perspective on structural studies of G protein-coupled receptors, *Curr. Pharm. Des.*, **15**, 3994-4002, doi: 10.2174/138161209789824795.
4. Kahsai, A. W., Xiao, K., Rajagopal, S., Ahn, S., Shukla, A. K., et al. (2011) Multiple ligand-specific conformations of the β_2 -adrenergic receptor, *Nat. Chem. Biol.*, **7**, 692-700, doi: 10.1038/nchembio.634.
5. Katritch, V., Cherezov, V., and Stevens, R. C. (2012) Diversity and modularity of G protein-coupled receptor structures, *Trends Pharmacol. Sci.*, **33**, 17-27, doi: 10.1016/j.tips.2011.09.003.
6. Nygaard, R., Zou, Y., Dror, R. O., Mildorf, T. J., Arlow, D. H., et al. (2013) The dynamic process of $\beta(2)$ -adrenergic receptor activation, *Cell*, **152**, 532-542, doi: 10.1016/j.cell.2013.01.008.
7. Weis, W. I., and Kobilka, B. K. (2018) The molecular basis of G protein-coupled receptor activation, *Annu. Rev. Biochem.*, **87**, 897-919, doi: 10.1146/annurev-biochem-060614-033910.
8. Frei, J. N., Broadhurst, R. W., Bostock, M. J., Solt, A., Jones, A. J. Y., et al. (2020) Conformational plasticity of ligand-bound and ternary GPCR complexes studied by ^{19}F NMR of the β_1 -adrenergic receptor, *Nat. Commun.*, **11**, 669, doi: 10.1038/s41467-020-14526-3.
9. Lebon, G., Warne, T., and Tate, C. G. (2012) Agonist-bound structures of G protein-coupled receptors, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **22**, 482-490, doi: 10.1016/j.sbi.2012.03.007.
10. Wang, C., Jiang, Y., Ma, J., Wu, H., Wacker, D., et al. (2013) Structural basis for molecular recognition at serotonin receptors, *Science*, **340**, 610-614, doi: 10.1126/science.1232807.
11. Standfuss, J., Edwards, P. C., D'Antona, A., Fransen, M., Xie, G., et al. (2011) The structural basis of agonist-induced activation in constitutively active rhodopsin, *Nature*, **471**, 656-660, doi: 10.1038/nature09795.

12. Venkatakrisnan, A. J., Deupi, X., Lebon, G., Tate, C. G., Schertler, G. F., et al. (2013) Molecular signatures of G-protein-coupled receptors, *Nature*, **494**, 185-194, doi: 10.1038/nature11896.
13. Granier, S., and Kobilka, B. (2012) A new era of GPCR structural and chemical biology, *Nat. Chem. Biol.*, **8**, 670-673, doi: 10.1038/nchembio.1025.
14. The UniProt Consortium (2021) UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021, *Nucleic Acids Res.*, **49**, D480-D489, doi: 10.1093/nar/gkaa1100.
15. Berman, H. M., Westbrook, J., Feng Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., et al. (2000) The protein data bank, *Nucleic Acids Res.*, **28**, 235-242, doi: 10.1093/nar/28.1.235.
16. Sayle, R. A., and Milner-White, E. J. (1995) RASMOL: biomolecular graphics for all, *Trends Biochem. Sci.*, **20**, 374, doi: 10.1016/s0968-0004(00)89080-5.
17. Ballesteros, J. A., and Weinstein, H. (1995) Integrated methods for the construction of three-dimensional models and computational probing of structure-function relations in G protein-coupled receptors, in *Methods in Neurosciences* (Sealfon S. C., ed.) Academic Press, USA, pp. 366-428.
18. Warne, T., Moukhametzianov, R., Baker, J. G., Nehmé, R., Edwards, P. C., et al. (2011) The structural basis for agonist and partial agonist action on a $\beta(1)$ -adrenergic receptor, *Nature*, **469**, 241-244, doi: 10.1038/nature09746.
19. Warne, T., Edwards, P. C., Doré, A. S., Leslie, A. G. W., and Tate, C. G. (2019) Molecular basis for high-affinity agonist binding in GPCRs, *Science*, **364**, 775-778, doi: 10.1126/science.aau5595.
20. Ring, A. M., Manglik, A., Kruse, A. C., Enos, M. D., Weis, W. I., et al. (2013) Adrenaline-activated structure of $\beta(2)$ -adrenoceptor stabilized by an engineered nanobody, *Nature*, **502**, 575-579, doi: 10.1038/nature12572.
21. Xu, X., Kaindl, J., Clark, M. J., Hübner, H., Hirata, K., et al. (2021) Binding pathway determines norepinephrine selectivity for the human $\beta(1)$ AR over $\beta(2)$ AR, *Cell Res.*, **31**, 569-579, doi: 10.1038/s41422-020-00424-2.
22. Lee, Y., Warne, T., Nehmé, R., Pandey, S., Dwivedi-Agnihotri, H., et al. (2020) Molecular basis of β -arrestin coupling to formoterol-bound $\beta(1)$ -adrenoceptor, *Nature*, **583**, 862-866, doi: 10.1038/s41586-020-2419-1.
23. Zhang, Y., Yang, F., Ling, S., Lv, P., Zhou, Y., et al. (2020) Single-particle cryo-EM structural studies of the $\beta(2)$ AR-Gs complex bound with a full agonist formoterol, *Cell Discov.*, **6**, 4, doi: 10.1038/s41421-020-0176-9.
24. Yang, F., Ling, S. L., Zhou, Y. X., Zhang, Y. N., Lv, P., et al. (2021) Different conformational responses of the beta2-adrenergic receptor-Gs complex upon binding of the partial agonist salbutamol or the full agonist isoprenaline, *Natl. Sci. Rev.*, **8**, nwaa284, doi: 10.1093/nsr/nwaa284.
25. Masureel, M., Zou Y., Picard, L. P., Van der Westhuizen, E., Mahoney, J. P., et al. (2018) Structural insights into binding specificity, efficacy and bias of a $\beta(2)$ AR partial agonist, *Nat. Chem. Biol.*, **14**, 1059-1066, doi: 10.1038/s41589-018-0145-x.
26. Rasmussen, S. G., DeVree, B. T., Zou, Y., Kruse, A. C., Chung, K. Y., et al. (2011) Crystal structure of the $\beta(2)$ adrenergic receptor-Gs protein complex, *Nature*, **477**, 549-555, doi: 10.1038/nature10361.
27. Liu, X., Masoudi, A., Kahsai, A. W., Huang, L. Y., Pani, B., et al. (2019) Mechanism of $\beta(2)$ AR regulation by an intracellular positive allosteric modulator, *Science*, **364**, 1283-1287, doi: 10.1126/science.aaw8981.
28. Emtage, A. L., Mistry, S. N., Fischer, P. M., Kellam, B., and Laughton, C. A. (2017) GPCRs through the keyhole: the role of protein flexibility in ligand binding to β -adrenoceptors, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **35**, 2604-2619, doi: 10.1080/07391102.2016.1226197.
29. Wacker, D., Fenalti, G., Brown, M. A., Katritch, V., Abagyan, R., et al. (2010) Conserved binding mode of human beta2 adrenergic receptor inverse agonists and antagonist revealed by X-ray crystallography, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 11443-11445, doi: 10.1021/ja105108q.
30. Ishchenko, A., Stauch, B., Han, G. W., Batyuk, A., Shiriaeva, A., et al. (2019) Toward G protein-coupled receptor structure-based drug design using X-ray lasers, *IUCrJ*, **24** (Pt 6), 1106-1119, doi: 10.1107/S2052252519013137.
31. Liu, X., Kaindl, J., Korczynska, M., Stöbel, A., Dengler, D., Stanek, M., et al. (2020) An allosteric modulator binds to a conformational hub in the $\beta(2)$ adrenergic receptor, *Nat. Chem. Biol.*, **16**, 749-755, doi: 10.1038/s41589-020-0549-2.
32. Warne, T., Edwards, P. C., Leslie, A. G., and Tate, C. G. (2012) Crystal structures of a stabilized $\beta(1)$ -adrenoceptor bound to the biased agonists bucindolol and carvedilol, *Structure*, **20**, 841-849, doi: 10.1016/j.str.2012.03.014.
33. Moukhametzianov, R., Warne, T., Edwards, P. C., Serrano-Vega, M. J., Leslie, A. G., et al. (2011) Two distinct conformations of helix 6 observed in antagonist-bound structures of a beta1-adrenergic receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 8228-8232, doi: 10.1073/pnas.1100185108.
34. Rasmussen, S. G., Choi, H. J., Rosenbaum, D. M., Kobilka, T. S., Thian, F. S., et al. (2007) Crystal structure of the human beta2 adrenergic G-protein-coupled receptor, *Nature*, **450**, 383-387, doi: 10.1038/nature06325.
35. Cherezov, V., Rosenbaum, D. M., Hanson, M. A., Rasmussen, S. G., Thian, F. S., et al. (2007) High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor, *Science*, **23**, 1258-1265, doi: 10.1126/science.1150577.
36. Zou, Y., Weis, W. I., and Kobilka, B. K. (2012) N-terminal T4 lysozyme fusion facilitates crystallization of a G protein coupled receptor, *PLoS One*, **7**, e46039, doi: 10.1371/journal.pone.0046039.
37. Huang, C. Y., Olieric, V., Ma, P., Howe, N., Vogeley, L., et al. (2016) In meso *in situ* serial X-ray crystallography of soluble and membrane proteins at cryogenic temperatures, *Acta Crystallogr. D Struct. Biol.*, **72** (Pt 1), 93-112, doi: 10.1107/S2059798315021683.

38. Staus, D. P., Strachan, R. T., Manglik, A., Pani, B., Kahsai, A. W., et al. (2016) Allosteric nanobodies reveal the dynamic range and diverse mechanisms of G-protein-coupled receptor activation, *Nature*, **535**, 448-452, doi: 10.1038/nature18636.
39. Warne, T., Serrano-Vega, M. J., Baker, J. G., Moukhametdzianov, R., Edwards, P. C., et al. (2008) Structure of a beta1-adrenergic G-protein-coupled receptor, *Nature*, **454**, 486-491, doi: 10.1038/nature07101.
40. Miller-Gallacher, J. L., Nehmé, R., Warne, T., Edwards, P. C., Schertler, G. F., et al. (2014) The 2.1 Å resolution structure of cyanopindolol-bound β 1-adrenoceptor identifies an intramembrane Na⁺ ion that stabilises the ligand-free receptor, *PLoS One*, **9**, e92727, doi: 10.1371/journal.pone.0092727.
41. Leslie, A. G., Warne, T., and Tate, C. G. (2015) Ligand occupancy in crystal structure of β 1-adrenergic G protein-coupled receptor, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 941-942, doi: 10.1038/nsmb.3130.
42. Sato, T., Baker, J., Warne, T., Brown, G. A., Leslie, A. G., et al. (2015) Pharmacological analysis and structure determination of 7-methylcyanopindolol-bound β 1-adrenergic receptor, *Mol. Pharmacol.*, **88**, 1024-1034, doi: 10.1124/mol.115.101030.
43. Hanson, M. A., Cherezov, V., Griffith, M. T., Roth, C. B., Jaakola, V. P., et al. (2008) A specific cholesterol binding site is established by the 2.8 Å structure of the human beta2-adrenergic receptor, *Structure*, **16**, 897-905, doi: 10.1016/j.str.2008.05.001.
44. Rosenbaum, D. M., Zhang, C., Lyons, J. A., Holl, R., Aragao, D., et al. (2011) Structure and function of an irreversible agonist- β (2) adrenoceptor complex, *Nature*, **469**, 236-240, doi: 10.1038/nature09665.
45. Conner, A. C., Barwell, J., Poyner, D. R., and Wheatley, M. (2011) The use of site-directed mutagenesis to study GPCRs, *Methods Mol. Biol.*, **746**, 85-98, doi: 10.1007/978-1-61779-126-0_5.
46. Rasmussen, S. G., Choi, H. J., Fung, J. J., Pardon, E., Casarosa, P., et al. (2011) Structure of a nanobody-stabilized active state of the β (2) adrenoceptor, *Nature*, **469**, 175-180, doi: 10.1038/nature09648.
47. Chung, K. Y. (2013) Structural aspects of GPCR-G protein coupling, *Toxicol. Res.*, **29**, 149-155, doi: 10.5487/TR.2013.29.3.149.
48. Wu, Y., Zeng, L., and Zhao, S. (2021) Ligands of adrenergic receptors: a structural point of view, *Biomolecules*, **11**, 936, doi: 10.3390/biom11070936.

AGONISTS IN THE EXTENDED CONFORMATION STABILIZE THE ACTIVE STATE OF β -ADRENOCEPTORS

A.V. Efimov^{1*}, O.V. Meshcheryakova², and A.G. Ryazanov³

¹ *Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences,
142290 Pushchino, Moscow Region, Russia, efimov@prores.ru*

² *Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences,
185910 Petrozavodsk, Russia*

³ *Department of Pharmacology, Rutgers Robert Wood Johnson Medical School,
Piscataway, 08854 New Jersey, USA*

In the present study, a comparative analysis of the structures of agonists and antagonists, their interactions with transmembrane (TM) β -adrenoceptors were performed, and the mechanism of activation of these receptors was proposed. A characteristic feature of the agonist and antagonist molecule is that it has a hydrophobic “head” (most often one or two aromatic rings) and a “tail” with a positively charged amino group. In all β -adrenergic agonists, there are two carbon atoms between the aromatic ring of the “head” and the nitrogen atom of the amino group. In antagonist molecules, this length is increased to four atoms due to additional carbon and oxygen atoms or reduced. The “head” of the agonist, as a rule, has two H-bond donors or acceptors in the *para*- and *meta*-positions of the aromatic rings. There are no such donors/acceptors in the “head” of the antagonist or they are in inapplicable positions. Analysis of the known three-dimensional structures of complexes of agonists and β -adrenergic receptors shows that the “head” of the agonist forms two H-bonds with the TM5 helix, and the “tail” forms an ionic bond with the D3.32 residue of the TM3 helix and one or two H-bonds with the TM7 helix. The “tail” of the antagonist can form similar bonds, but its “head” and the TM5 helix interact much weaker. As a result of these interactions, the agonist molecule acquires an extended conformation in the form of a “stretched string”, in contrast to the antagonist molecule, which has a longer, bended and flexible “tail”. The “stretched string” of the agonist interacts with the TM6 helix (primarily with the W6.48 residue) and turns it, which leads to the opening of the G-protein binding site on the intracellular side of the receptor. The flexible and larger antagonist molecule has no such effect.

Keywords: β -adrenoceptor, GPCR, agonist, antagonist, activation mechanism