



УДК 577.142.6.012.7

РАСЧЕТ СТАБИЛЬНЫХ КОНФОРМАЦИЙ МОЛЕКУЛЫ  
СЫВОРОТОЧНОГО ФАКТОРА ТИМУСАГолубович В. П., Курнарский Л. И., Ахрем А. А.,  
Галактионов С. Г.\*Институт биоорганической химии Академии наук БССР, Минск;  
\*Опорный пункт ВНИИгенетики, Минск

Методами теоретического конформационного анализа в попарно-аддитивном приближении проведен расчет стабильных конформаций молекулы сывoroточного фактора тимуса (СФТ). Совместная интерпретация расчетных результатов и данных о биологической активности конформационно-ограниченных аналогов СФТ позволила выявить вероятную «биологически активную» конформацию молекулы.

Сывороточный фактор тимуса (СФТ) — пептидный биорегулятор, играющий важную роль в процессах управления функциями клеточного иммунитета, — был выделен Бахом с сотр. [1] из плазмы крови свиньи. Этими же авторами было установлено, что пептид состоит из 9 аминокислотных остатков: Glx-Ala-Lys-Ser-Gln-Gly-Gly-Ser-Asn, где Glx — остаток глутамина или пироглутаминовой кислоты. Перспективы использования СФТ для лечения многих заболеваний (волчанка, возрастные нарушения иммунных реакций организма, некоторые онкологические заболевания) стимулировали интенсивные усилия ряда исследовательских групп, направленные на создание различных, в том числе и конформационно-ограниченных, аналогов [2–6]. Данные подобного рода в сочетании с результатами исследования конформационных возможностей молекулы СФТ позволяют ставить задачу о выявлении так называемой биологически активной конформации этого пептида [7], т. е. структуры, характерной для него в составе комплекса со специфическим рецептором.

С этой целью нами методом теоретического конформационного анализа в попарно-аддитивном приближении был осуществлен расчет стабильных конформаций СФТ. Расчет проводился с использованием техники и параметризации, описанных ранее в работах [8, 9]. Все пептидные связи в молекуле полагались в *транс*-конфигурации. Схема расчета СФТ включала в себя пахождение стабильных конформаций трех тетрапептидных, а также три- и пентапептидных фрагментов с последующим использованием этих результатов для поиска стабильных структур всей молекулы с помощью оценки энергии ближних взаимодействий [8].

На первом этапе расчета стабильных конформаций N-концевого модельного фрагмента  $H_3N^+-Glu^1-Ala^2-Lys^3-Ala^4-NH-CH_3$  (1) проводился последовательный перебор комбинаций всех локальных минимумов остатков 1–4 с минимизацией всякий раз внутримолекулярной энергии этого фрагмента. В результате удалось отобрать 101 стабильную структуру фрагмента (1), энергия  $\Delta U$  которых не превышала 5 ккал/моль.

На втором этапе проведен расчет фрагмента  $CH_3-Lys^3-Ser^4-Gln^5-NH-CH_3$  (2), на основании которого выделено 116 наиболее стабильных конформаций ( $\Delta U \leq 5$  ккал/моль).

Центральный фрагмент молекулы СФТ,  $CH_3-CO-Ser^4-Gln^5-Gly^6-Gly^7-NH-CH_3$  (3), отличается высокой конформационной подвижностью. Конформационный анализ этого фрагмента, выполненный на основе полного перебора комбинаций стабильных конформаций всех монопептидов, показал, что величина внутримолекулярной энергии  $\Delta U \leq 5$  ккал/моль характерна для 168 структур.

Величины двугранных углов (град) основной и боковых цепей, а также энергии ближних взаимодействий  $\Delta U$  (ккал/моль) наиболее стабильных конформаций молекулы сывороточного фактора тимуса

Остаток	Угол	Конформации основной цепи		
		<i>BRBBVHRBB</i> ( $\Delta U=0$ )	<i>BRBBRHRBB</i> ( $\Delta U=2,1$ )	<i>BRBBBHRBB</i> ( $\Delta U=3,8$ )
Gln <sup>1</sup>	$\varphi$	-116	-121	-120
	$\psi$	145	136	139
	$\chi^1$	-129	-138	-144
	$\chi^2$	-76	-73	-69
	$\chi^3$	80	84	99
Ala <sup>2</sup>	$\varphi$	-127	-136	-148
	$\psi$	-54	-51	-53
Lys <sup>3</sup>	$\varphi$	-138	-129	-129
	$\psi$	-61	138	-48
	$\chi^1$	-74	-161	-73
	$\chi^2$	98	-170	178
	$\chi^3$	-175	175	-179
Ser <sup>4</sup>	$\chi^4$	178	-179	180
	$\varphi$	-102	-109	-116
	$\psi$	132	122	155
	$\chi^1$	58	-157	73
	$\chi^2$	91	89	99
Gln <sup>5</sup>	$\varphi$	-59	-110	-102
	$\psi$	131	-19	106
	$\chi^1$	-94	-70	-67
	$\chi^2$	134	100	84
	$\chi^3$	73	83	81
Gly <sup>6</sup>	$\varphi$	86	120	-79
	$\psi$	-62	-69	84
Gly <sup>7</sup>	$\varphi$	-46	-74	87
	$\psi$	-66	-42	-63
Ser <sup>8</sup>	$\varphi$	-133	-120	-124
	$\psi$	128	130	-47
	$\chi^1$	60	58	61
	$\chi^2$	110	97	103
Asn <sup>9</sup>	$\varphi$	-128	-149	-148
	$\psi$	143	139	129
	$\chi^1$	-47	-34	-54
	$\chi^2$	-88	-80	94

C-Концевой тетрапептид СФТ,  $\text{CH}_3\text{-CO-Gly}^6\text{-Gly}^7\text{-Ser}^8\text{-Asn}^9\text{-COO}^-$  (4), оказался наиболее конформационно жестким; для него выявлено 35 стабильных структур.

С целью получения более корректных оценок энергии ближних взаимодействий целой молекулы для наиболее лабильного участка 2—6 был проведен расчет фрагмента  $\text{CH}_3\text{-CO-Ala}^2\text{-Lys}^3\text{-Ser}^4\text{-Glu}^5\text{-Gly}^6\text{-NH-CH}_3$  (5); при этом производился перебор комбинаций всех локальных минимумов отдельных остатков, имевшихся в наборах стабильных структур фрагментов (1) — (3).

В результате оценок энергии ближних взаимодействий на основании данных расчета фрагментов (1) — (5) в различных конформациях целой молекулы СФТ было выделено более 200 структур, для которых эта величина составила  $<10$  ккал/моль. Последующая минимизация полной внутримолекулярной энергии, проведенная в окрестности каждой из этих структур, показала, что наибольшей стабильностью отличаются три типа конформаций остова: *BRBBVHRBB* (I), *BRBBRHRBB* (II) и *BRBBBHRBB* (III) (табл. 1). Для следующей по стабильности конформации величина  $\Delta U > 6$  ккал/моль.

Для наиболее стабильной расчетной структуры (I), представленной на рисунке, характерно наличие двух изгибов: в окрестности остатков 2—3 и 6—7. В этой конформации оказываются пространственно сближен-

ными  $\text{COO}^-$ - и  $\text{NH}_3^+$ -группы (2,6 Å) C-концевого остатка Asn, а также NH-группа остова остатка Lys<sup>3</sup> с O<sup>1</sup>H-группой остатка Ser<sup>8</sup> (2,5 Å), O<sup>1</sup> остатка Ser<sup>4</sup> с NH-группой остатка Ser<sup>8</sup> (2,9 Å) и NH<sub>2</sub>-группы боковых радикалов Gln<sup>1</sup> и Gln<sup>5</sup> (2,9 Å).

В литературе отсутствуют данные об исследованиях конформаций СФТ физико-химическими методами. Напротив, информация о биологической активности аналогов СФТ, как уже упоминалось, довольно обильна; к сожалению, разнообразие тестовых процедур, применяемых различными авторами, не позволяет однозначно интерпретировать эффект той или иной структурной модификации. Тем не менее рассмотрение данных об активности конформационно-ограниченных аналогов [2–4] позволило нам предсказать вероятную конформацию отдельных остатков в составе комплекса молекулы СФТ с рецептором.

**Остаток Glx<sup>1</sup>.** Остаток Glp<sup>1</sup> (Gln<sup>1</sup>) не существует для проявления активности — аналог des-Glp<sup>1</sup>-СФТ активен. В то же время неактивны аналоги [*D*-Glp<sup>1</sup>]СФТ и [*D*-Gln<sup>1</sup>]СФТ. Поскольку такая модификация в первом положении не изменяет заметным образом конформационные возможности остова, эффект следует отнести на счет изменения взаимной ориентации бокового радикала и аминогруппы N-концевого остатка Glx.

**Остаток Ala<sup>2</sup>.** Аналоги [*D*-Ala<sup>2</sup>]СФТ и des-Glp<sup>1</sup>, *D*-Ala<sup>2</sup>-СФТ активны. Общими разрешенными конформациями остова для остатков Ala и *D*-Ala являются формы типа *R* и *L*; именно одна из них, по-видимому, и реализуется в составе комплекса молекулы с рецептором.

**Остаток Lys<sup>3</sup>.** Активен аналог [*D*-Lys<sup>3</sup>]СФТ, неактивен [Me-Ser<sup>4</sup>]СФТ. Первое обстоятельство, как и в предыдущем случае, указывает на возможность конформаций типа *R* и *L*, однако форма *L* разрешена и у второго аналога; таким образом, для остатка Lys<sup>3</sup> наиболее вероятна конформация типа *R*.

**Остаток Ser<sup>4</sup>.** Отсутствие активности у аналога [*D*-Ser<sup>4</sup>]СФТ свидетельствует о форме *B* как возможной конформации остатка.

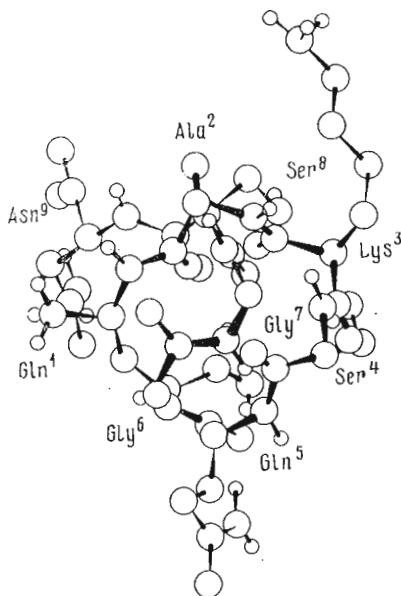
**Остаток Gln<sup>5</sup>.** Подобным же образом отсутствие активности у аналога [*D*-Gln<sup>5</sup>]СФТ позволяет предположить, что для этого остатка наиболее вероятна форма *B*.

**Остаток Gly<sup>6</sup>.** Активны аналоги [*D*-Ala<sup>6</sup>]СФТ (разрешенные конформации остова — *H*, *R*, *L*) и [*D*-Ala<sup>6</sup>, Ser<sup>7</sup>]СФТ (разрешенные конформации — *H*, *R*). Это обстоятельство, а также отсутствие активности у аналога [Ala<sup>6</sup>]СФТ позволяют однозначно указать конформацию остатка Gly<sup>6</sup> в «биологически активной» структуре — форму *H*.

**Остаток Gly<sup>7</sup>.** Аналоги [*D*-Ala<sup>7</sup>]СФТ и [Ala<sup>7</sup>]СФТ неактивны. Объяснить утрату активности изменениями конформационных возможностей остова в обоих случаях сразу нельзя, поскольку каждая из четырех основных форм (*B*, *R*, *L*, *H*) может реализоваться либо в одном, либо в другом аналоге.

**Остаток Ser<sup>8</sup>.** Аналог [*D*-Ser<sup>8</sup>]СФТ неактивен; вероятная конформация остова, необходимая для проявления биологической активности, — *B*.

**Остаток Asn<sup>9</sup>.** По-видимому, остаток Asn<sup>9</sup> мало существует для проявления биологической активности СФТ: аналоги des-Asn<sup>9</sup>-СФТ, [*D*-Asn<sup>9</sup>]СФТ, [ $\beta$ Ala<sup>9</sup>-NH<sub>2</sub>]СФТ активны.



Наиболее стабильная расчетная конформация молекулы сычворочного фактора тимуса

## Выявление вероятной «биологически активной» конформации молекулы сыровоточного фактора тимуса

Положение	Аналог	Активность* [2—4]	Возможные конформации аналога	Возможная конформация на рецепторе	Расчетные структуры**		
					I	II	III
2	D-Ala <sup>2</sup>	+	H, R, L	R, L	R	R	R
3	D-Lys <sup>3</sup>	+	H, R, L	R	R	B	R
	Me-Ser <sup>4</sup>	-	B, L				
4	D-Ser <sup>4</sup>	-	H, R, L	B	B	B	B
5	D-Gln <sup>5</sup>	-	H, R, L	B	B	B	B
	D-Ala <sup>6</sup>	+	H, R, L				
6	D-Ala <sup>6</sup> , Ser <sup>7</sup>	+	H, R	H	H	H	B
	Ala <sup>6</sup>	-	B, R, L				
7	D-Ala <sup>7</sup>	-	H, R, L	?	R	R	H
	Ala <sup>7</sup>	-	B, R, L				
8	D-Ser <sup>8</sup>	-	H, R, L	B	B	B	R

\* Плюс означает наличие, а минус — отсутствие биологической активности.

\*\* Параметры структур I, II и III приведены в табл. 1.

В табл. 2 данные анализа конформационных возможностей перечисленных аналогов сопоставляются с результатами расчета; можно указать в качестве наиболее вероятной «биологически активной» конформации остова молекулы СФТ наиболее стабильную расчетную структуру I, в которой конформации остова всех остатков соответствуют приведенным выше оценкам, вытекающим из данных о биологической активности отдельных аналогов СФТ.

Фиксация сближенности отмеченных выше групп путем введения ковалентных сшивок представляет интерес как способ получения активных циклических аналогов СФТ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bach J.-M., Dardenne M., Pleau J.-M., Rosa J. C. r. Acad. sci., 1976, v. 283, Ser. D, № 14, p. 1605—1607.
2. Bach J.-M., Dardenne M., Pleau J.-M., Hamburger J., Bricas E., Martinez J., Blanot D., Auger G. Патент Франции, № 2423481, 1979.
3. Bach J.-M., Dardenne M., Pleau J.-M., Hamburger J., Bricas E., Martinez J., Blanot D., Auger G. Патент Голландии, № NL7805—747, 1978.
4. Veber D. E. Патент Франции, № 2390419, 1978.
5. Goldstein G. Патент Бельгии, № 872608, 1979.
6. Goldstein G., Heavner G. Патент США, № 4215112, 1980.
7. Голубович В. П., Кирнарский Л. И., Ахрем А. А., Галактионов С. Г. Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 6, с. 819—831.
8. Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Перельман Т. Л. Диффузия в сложных молекулярных структурах. Минск: Наука и техника, 1974, с. 82—106.
9. Ахрем А. А., Голубович В. П., Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Шерман С. А. Изв. АН БССР. Сер. хим. наук, 1976, № 5, с. 83—92.

Поступила в редакцию  
5.IV.1984

## CALCULATION OF «FACTEUR THIMIQUE SÉRIQUE» STABLE CONFORMATIONS

GOLUBOVICH V. P., KIRNARSKY L. I., AKHREM A. A., GALAKTIONOV S. G. \*

*Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences  
of the Byelorussian SSR, Minsk; \* Minsk Branch of VNIIGenetica, Minsk*

Stable conformations of «facteur thimique sérique» (FTS) were determined by semi-empirical conformational analysis. The interpretation of the calculation results in combination with data on biological activity of the conformationally restricted FTS analogues enabled the delineation of a possible «biologically active» conformation.