



УДК 547.962:541.63

КОНФОРМАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕХАНИЗМА  
ДЕЙСТВИЯ БРАДИКИНИНАII \*. КОНФОРМАЦИИ И СЕЛЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ  
ЦИКЛОАНАЛОГОВ БРАДИКИНИНА*Никифорович Г. В., Подишви Л. У., Розенблит С. А.,  
Чипенс Г. И.**Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига*

Методами теоретического конформационного анализа осуществлен поиск наборов низкоэнергетических структур двух циклоаналогов брадикинина: *cyclo*[ $\epsilon$ -лизин<sup>1</sup>, глицин<sup>6</sup>]брадикинина и *cyclo*- $\epsilon$ -каллидина. Показано, что в наборах низкоэнергетических структур брадикинина и циклобрадикинина нет пространственно сходных конформаций, между тем как в наборе низкоэнергетических структур циклокаллидина содержатся конформации, пространственно сходные с «биологически активными» структурами брадикинина для рецепторов типа  $V_1$  и  $V_2$ .

В серии работ [2–7] было убедительно показано, что рецепторы известного пептидного биорегулятора брадикинина являются гетерогенными. Так, оказалось, что рецепторы брадикинина, вовлеченные в инициацию мнотропной реакции на различных изолированных органах — на аорте кролика, с одной стороны, и на подвздошной кишке морской свинки и кошки и матке крысы — с другой, фармакологически различны. Эти типы рецепторов брадикинина получили название  $V_1$  и  $V_2$  соответственно [7]. В нашей работе [4] средствами теоретического конформационного анализа были выявлены «биологически активные» конформации пептидного остова, характерные для молекулы брадикинина при связывании с рецепторами типа  $V_1$  и  $V_2$ . Оказалось, что каждому типу рецепторов соответствует своя «биологически активная» конформация брадикинина. Таким образом, конформационные факторы, определяющие взаимодействие брадикинина с рецепторами, могут воздействовать на селективность биологического эффекта конформационно ограниченных аналогов брадикинина, в которых фиксирован тот или иной тип «биологически активной» конформации. Целый ряд таких циклоаналогов брадикинина синтезирован в последние годы в Институте органического синтеза АН ЛатвССР (см. работы [8–10]): среди них выделяются *cyclo*[( $\epsilon$ -лизин<sup>1</sup>, глицин<sup>6</sup>)]брадикинин (циклобрадикинин) и *cyclo*- $\epsilon$ -каллидин (циклокаллидин), результаты биологического тестирования которых приведены в табл. 1 [10]. Оба аналога активны при тестировании *in vivo*, но лишь циклокаллидин активен на изолированной матке крысы, уступая по величине средства ( $pD_2$ ) брадикинину  $\sim 2$  порядка. Авторы работы [10] объясняют наблюдаемую селективность действия аналогов наличием либо отсутствием в составе молекул обеих гуанидиновых групп; не отвергая этой гипотезы, попытаемся показать, что конформационные различия также могут послужить причиной указанной селективности.

С этой целью в настоящей работе был проведен расчетный поиск наборов низкоэнергетических структур остова молекул циклобрадикинина и циклокаллидина; основные этапы расчетов описаны в табл. 2. В работе использовалась модель «жесткой» валентной геометрии (недеформируемые длины валентных связей и значения валентных углов) и потенциальные функции, не отличающиеся от приведенных в работе [11]. В качестве потенциально возможных конформаций пептидного остова для обеих

\* Сообщение I см. [4].

Результаты биологического тестирования брадикинина, циклобрадикинина и циклокаллидина [10]

Соединение	Последовательность	Депрессорная реакция in vivo *	Многотропная реакция **
Брадикинин	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	0,5/50	1,00/9,07
Циклобрадикинин	Lys-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg -	5/50 (>120)	Неактивен
Циклокаллидин	Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg -	5/50 (>120)	1,00/7,56

\* Тестирование на крысах; указаны величины пороговой/эффективной дозы в мкг/кг. В скобках приведена продолжительность действия в минутах.

\*\* Тестирование на матке крысы; указаны значения  $\alpha/pD_2$ .

Таблица 2

Схема поиска низкоэнергетических структур пептидного остова молекул циклобрадикинина и циклокаллидина \*

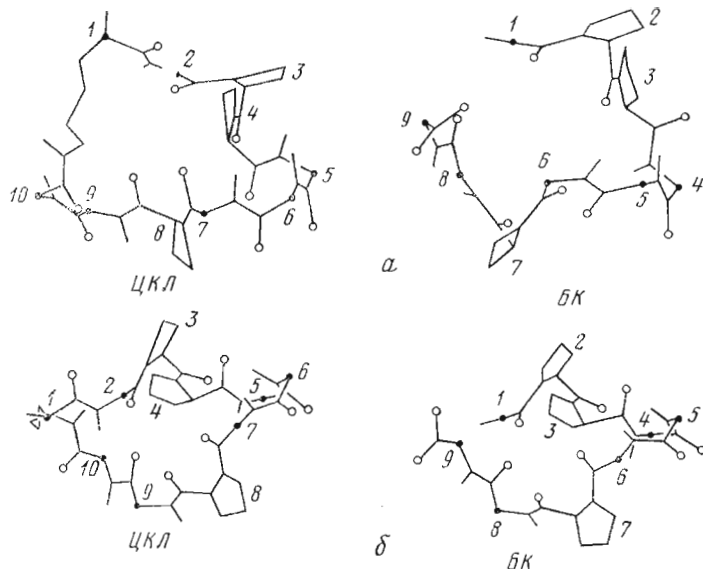
Этап	Объект расчета **	Содержание этапа	Количество рассмотренных структур	Критерий отбора, ккал/моль	Количество отобранных структур остова
1	$\left. \begin{array}{l} \text{KPPGAGPAA} \\ \text{(KAPPGAAPAA)} \end{array} \right\}$	Оценка возможности замыкания цикла ( $r_{C^{\alpha}-C^{\epsilon}} \leq 4,5 \text{ \AA}$ ) без существенного увеличения энергии ближних взаимодействий в остове. $E^{\text{ост}}$ . Алгоритм оценки аналогичен описанному в [14]	1728 (2592)	$\Delta E^{\text{ост}} \leq 10$	69 (172)
2	$\left. \begin{array}{l} \text{KPPGAGPAA} \\ \text{(KAPPGAAPAA)} \end{array} \right\}$	Расчет конформационной энергии $U$ и нахождение оптимального способа замыкания цикла (т. е., значений углов $\chi_1$ и $\chi_2$ остатка Lys) для каждой конформации остова	115 (409)	$\Delta U \leq 20 (25)$	27 (69)
3	$\left. \begin{array}{l} \text{KPPGFGPFR} \\ \text{(KRPPGFSPFR)} \end{array} \right\}$	Расчет конформационной энергии $U$ и нахождение оптимального расположения боковых цепей остатков Phe, Arg, Ser. Алгоритм описан в [15]	27 (69)	$\Delta U \leq 10$	7 (10)

\* Данные для циклокаллидина приведены в скобках.

\*\* Однобуквенные обозначения аминокислот: K — Lys, R — Arg, P — Pro, G — Gly, F — Phe, S — Ser.

молекул рассматривались все допустимые сочетания локальных минимумов потенциальных карт аминокислотных остатков [12]:  $B - \varphi \sim -140^\circ$ ,  $\psi \sim 140^\circ$ ;  $R - \varphi, \psi \sim -60^\circ$ ;  $L - \varphi, \psi \sim 60^\circ$  и  $H$  (для остатка глицина) —  $\varphi \sim 80^\circ$ ,  $\psi \sim -80^\circ$ . Электростатические взаимодействия учитывались в монополь-монопольном приближении со значением макроскопической диэлектрической постоянной  $\epsilon$  3,5. Замыкание циклов осуществлялось с помощью параболических потенциалов типа описанных в работе [13]; фиктивной «замыкаемой» валентной связью служила связь  $C^{\alpha}-C^{\epsilon}$  остатка лизина, поэтому единственными независимыми переменными для боковой цепи лизина оказались углы  $\chi_1$  и  $\chi_2$ .

Результаты расчетов — найденные наборы низкоэнергетических структур пептидного остова (критерий отбора по энергии  $\Delta U \leq 10$  ккал/моль) при оптимальном способе упаковки боковых цепей и замыкания циклов — приведены в табл. 3 и 4. Сопоставление данных табл. 3 и 4 с расчетным набором низкоэнергетических структур молекулы брадикинина (табл. 3, работа [1]) проведено в табл. 5. Представленные в табл. 5 конформации брадикинина разделены на группы со сходным пространственным строением. Внутри каждой такой группы структуры могут различаться лишь



Структуры остова молекул циклокаллидина (ЦКЛ) и брадикинина (БК) (значения углов внутреннего вращения см. табл. 6), характерные для «биологически активных» конформаций при связывании с рецепторами типа  $V_1$  (а) и  $V_2$  (б)

Таблица 3

Низкоэнергетические структуры молекулы циклобрадикинина

Остаток	Угол	Тип структуры пептидного остова *						
		BBRRRRRB	BBRRRRRB	BBBLBHRBB	BBBLBRRBB	BBRRRRBL	BBRRBHRBL	BBRRRRBR
Lys	$\varphi$	-130	-130	-145	-144	-128	-130	-130
	$\psi$	132	121	140	138	128	140	136
	$\chi_1$	177	-152	52	45	-173	-148	-158
	$\chi_2$	175	100	-176	94	-173	171	173
	$\psi$	132	146	117	113	148	151	127
Pro	$\psi$	-41	-34	127	127	-28	-39	-41
Gly	$\varphi$	-72	-78	58	58	-84	-69	-66
	$\psi$	-52	85	62	68	-49	-23	-82
Phe	$\varphi$	-81	-65	-80	-134	-78	-115	-152
	$\psi$	6	-31	-34	144	-4	174	134
	$\chi_1$	-140	180	-160	-120	-100	-60	-160
	$\chi_2$	-100	80	-100	80	-81	-100	-100
Gly	$\varphi$	-54	-61	104	-81	-53	129	-107
	$\psi$	-64	-63	-89	-61	-72	-66	87
Pro	$\psi$	-38	-50	-29	-35	-41	-32	-50
Phe	$\varphi$	-66	-138	-126	-123	-106	-140	-86
	$\psi$	-66	133	144	139	102	105	-50
	$\chi_1$	-80	-60	-160	-61	180	180	-60
	$\chi_2$	100	100	-100	-80	-100	-100	100
Arg	$\varphi$	-164	-80	-126	-123	49	38	-141
	$\psi$	124	-40	134	130	98	78	140
	$\chi_1$	-100	-80	-80	-60	-61	-60	-80
	$\chi_2$	140	80	80	100	180	180	100
	$\chi_3$	-80	-160	180	-160	180	180	-120
	$\chi_4$	140	160	-140	-100	-100	140	140
$\Delta U$ , ккал/моль		0,0	0,7	1,9	3,0	3,6	7,6	10,1

\* Буквой Q обозначен район «перешейка» между минимумами B и R на потенциальной карте монопептида.

## Низкоэнергетические структуры молекулы циклокаллидина

Оста- ток	Угол	Тип структуры остова									
		BBBBLBBBL	BBBBHBBLE	BBBBHBBB	BBBBRRBBB	BLBBHBBBR	BBBBRBLBR	BBBBRRRBL	BBBBLLBBBL	BBBBRBLRBB	BBBBRRBBR
Lys	φ	-145	-145	-145	-145	-145	-145	-115	-145	-145	-145
	ψ	153	152	150	150	149	149	-49	139	153	140
	χ <sub>1</sub>	-120	-123	-139	-140	-160	-135	176	-141	-91	-102
	χ <sub>2</sub>	-100	175	178	69	-119	-145	-159	-85	-80	-177
Arg	φ	-131	-118	-128	-132	49	-140	-164	-143	-131	-145
	ψ	136	145	148	136	81	158	149	127	141	120
	χ <sub>1</sub>	180	-79	-140	-140	180	-100	-140	-160	-80	-160
	χ <sub>2</sub>	180	160	-160	-160	180	180	180	180	180	-100
	χ <sub>3</sub>	180	83	160	180	180	160	180	180	60	140
Pro	φ	124	111	145	118	145	152	143	119	140	118
	ψ	-18	148	156	-22	143	-26	-31	117	-18	138
Gly	φ	-46	94	95	-45	94	-56	-65	51	-63	-59
	ψ	-53	-52	-60	-56	-81	-52	-50	55	79	-36
Phe	φ	-129	-92	-78	-75	-135	-131	-76	38	45	-62
	ψ	128	-31	-18	-51	135	136	-48	94	90	-60
	χ <sub>1</sub>	20	-60	-60	180	160	-160	-80	-60	-160	-60
	χ <sub>2</sub>	80	100	100	-100	-100	-100	-80	-80	-100	100
Ser	φ	33	-136	-129	-145	-139	49	-136	-132	-144	-146
	ψ	75	135	137	140	122	91	113	141	134	133
	χ <sub>1</sub>	60	-80	60	60	60	-60	180	40	160	60
	χ <sub>2</sub>	180	80	160	180	80	180	180	-100	-140	180
Pro	φ	121	161	-35	110	-37	124	-52	124	-42	138
	ψ	-145	67	-125	-148	-129	-145	-142	38	-135	-137
Phe	φ	124	128	145	152	150	152	156	90	130	145
	χ <sub>1</sub>	-160	-60	80	-100	40	-80	40	-60	-60	-100
	χ <sub>2</sub>	80	100	100	100	80	120	80	100	100	80
	ψ	31	-86	-115	-122	-67	-66	56	-147	-124	-74
Arg	φ	86	152	140	122	-33	-37	99	140	139	-38
	χ <sub>1</sub>	-60	-80	60	-80	-80	-160	-60	-120	-40	-80
	χ <sub>2</sub>	180	180	180	180	180	180	180	100	180	180
	χ <sub>3</sub>	180	180	180	180	-80	180	180	-100	180	180
	χ <sub>4</sub>	-100	-100	-100	100	-100	100	100	-100	100	-100
	ΔU, ккал/моль		0,0	0,1	3,8	4,1	4,9	6,9	7,0	7,2	7,9

поворотом (на  $\sim 180^\circ$ ) плоскостей некоторых амидных связей (см. также работу [11]).

Из сопоставления данных табл. 3 и 5 видно, что для брадикинина и циклобрадикинина не только не существует идентичных низкоэнергетических конформаций пептидного остова, но среди набора низкоэнергетических конформаций обоих пептидов нет даже пространственно сходных. Иная картина наблюдается для циклокаллидина: пять низкоэнергетических структур (2-4, 6, 7) фрагмента 2-10 циклокаллидина идентичны низкоэнергетическим конформациям брадикинина (табл. 5). Структуры 5 и 8 циклокаллидина (табл. 4) также пространственно сходны со структурами брадикинина из первой группы (*BBBBHBBRBB* и *BBBBHBBRRL*).

Таким образом, в конформационном отношении молекула циклокаллидина оказывается гораздо более близкой молекуле брадикинина, чем молекула циклобрадикинина. Так, в частности, в наборе низкоэнергетических структур циклокаллидина есть конформации, идентичные «биологически активной» конформации брадикинина для рецепторов типа  $B_1$  и пространственно сходные с «биологически активной» структурой для рецепторов типа  $B_2$  (см. табл. 5 и рисунок). Это обстоятельство может объяснить

Сопоставление набора низкоэнергетических структур остова брадикинина, циклокаллидина и циклобрадикинина

Брадикинин *	Циклокаллидин	Циклобрадикинин
<i>BBBHBBR BB</i>	—	—
<i>BBBHBBR RL</i>	—	—
<i>BB BH RBR RB **</i>	—	—
<i>BB BH RBR BL</i>	—	—
<i>BB RR RBR BL</i>	<i>RBBRRRBRBL</i>	—
<i>BBBHBBRRB</i>	—	—
<i>BB RR BL RBB</i>	—	—
<i>BB BH RB RB B</i>	<i>BBBBHRBRBB</i>	—
<i>BB BH RB BL B ***</i>	<i>BBBBHRBBLB</i>	—
<i>BBRR RB BBB</i>	<i>BBBRRRBBBB</i>	—
<i>BBRR BL BBB</i>	<i>BBBRRBLBBR</i>	—
<i>BBRLRBBBB</i>	—	—

\* Подчеркнуты расположенные одна под другой пространственно-эквивалентные конформации дипептидов.

\*\* «Биологически активная» конформация для рецептора типа В<sub>1</sub>.

\*\*\* «Биологически активная» конформация для рецептора типа В<sub>2</sub>.

Таблица 6

Сопоставление углов внутреннего вращения «биологически активных» конформаций брадикинина и пространственно сходных с ними структур циклокаллидина

Тип рецептора	Соединение	Тип структуры остова	Lys		Arg		Pro
			φ	ψ	φ	ψ	ψ
В <sub>1</sub>	Брадикинин	<i>BBBBHRBBLB</i>	-145	152	-118	148	112
	Циклокаллидин	<i>BBBBHRBBLB</i>			-118	145	111
В <sub>2</sub>	Брадикинин	<i>BB BH RBR RB</i>	-115	-49	-121	157	142
	Циклокаллидин	<i>RBB RR RBR BL</i>			-164	149	143

Тип рецептора	Соединение	Тип структуры остова	Pro	Gly		Phe		Ser
			ψ	φ	ψ	φ	ψ	φ
В <sub>1</sub>	Брадикинин	<i>BBBBHRBBLB</i>	145	95	-49	-92	-40	-143
	Циклокаллидин	<i>BBBBHRBBLB</i>	148	94	-52	-92	-31	-136
В <sub>2</sub>	Брадикинин	<i>BB BH RBR RB</i>	144	96	-46	-87	-26	-117
	Циклокаллидин	<i>RBB RR RBR BL</i>	-31	-65	-50	-76	-48	-136

Тип рецептора	Соединение	Тип структуры остова	Ser	Pro	Phe		Arg	
			ψ	ψ	φ	ψ	φ	ψ
В <sub>1</sub>	Брадикинин	<i>BBBBHRBBLB</i>	124	158	60	133	-86	146
	Циклокаллидин	<i>BBBBHRBBLB</i>	135	-161	67	128	-86	152
В <sub>2</sub>	Брадикинин	<i>BB BH RBR RB</i>	133	-44	-155	-42	-143	108
	Циклокаллидин	<i>RBB RR RBR BL</i>	113	-52	-142	156	56	99

Примечание. Подчеркнуты расположенные одна под другой пространственно эквивалентные конформации дипептидов.

отсутствие миотропного эффекта на матке крысы (рецепторы типа В<sub>2</sub>) для молекулы циклобрадикинина и наличие его для молекулы циклокаллидина. Некоторое уменьшение величины рD<sub>2</sub> может быть объяснено не-

обходимостью более точной «подгонки» значений углов внутреннего вращения остова молекулы циклокаллидина к значениям, характерным для соответствующей структуры молекулы брадикинина (табл. 6).

Результаты настоящей работы можно использовать при планировании дальнейших исследований молекулярных механизмов действия брадикинина и его циклоаналогов. Так, в соответствии с выводами работы [6] можно считать, что депрессорная реакция *in vivo*, характерная для брадикинина, циклобрадикинина и циклокаллидина, вызывается не только взаимодействием с рецепторами типа  $B_1$  и  $B_2$ , но и иными путями; при этом в случае циклобрадикинина эффект *in vivo* может быть вообще не связан с рецепторами, специфическими для брадикинина в конформационном отношении. Кроме того, можно ожидать, что циклокаллидин будет иметь выраженную миотропную реакцию на аорте кролика (рецепторы типа  $B_1$ ), ингибируемую агентами типа [дез-Arg<sup>9</sup>, Leu-O-Me<sup>8</sup>]брадикинин [2].

Авторы выражают глубокую благодарность Ф. К. Мугулису за интерес к работе и плодотворное обсуждение результатов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Никифорович Г. В., Подиш Л. У. Биорган. химия, 1982, т. 8, № 4, с. 453—461.
2. Regoli D., Barabé J., Park W. K. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1977, v. 55, № 4, p. 855—867.
3. Barabé J., Drouin J.-N., Regoli D., Park W. K. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1977, v. 55, № 6, p. 1270—1285.
4. Regoli D., Marceau F., Barabé J. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1978, v. 56, № 4, p. 674—677.
5. Drouin J.-N., Gaudreau P., St.-Pierre S., Regoli D. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1979, v. 57, № 6, p. 562—566.
6. Barabé J., Marceau F., Thériault B., Drouin J.-N., Regoli D. Can. J. Physiol. and Pharmacol., 1979, v. 57, № 1, p. 78—91.
7. Regoli D., Barabé J. Pharmacol. Rev., 1980, v. 32, № 1, p. 1—46.
8. Chipens G., Mutulis F., Galaktionov S. In: Frontiers of bioorganic chemistry and molecular biology / Ed. Ananchenko S. N. N. Y.: Pergamon Press, 1980, p. 99—103.
9. Chipens G. I., Mutulis F. K., Kalayev B. S., Klusha V. E., Misina I. P., Myshlyakova N. V. Int. J. Pept. and Prot. Res., 1981, v. 18, № 3, p. 302—311.
10. Chipens G., Mutulis F., Mishlyakova N. In: Chemistry of peptides and proteins, v. 1 / Eds Voelter W., Wunsch E., Ovchinnikov J., Ivanov V. Walter de Gruyter & Co, 1982, p. 269—273.
11. Nikiforovich G. V., Leonova V. I., Galaktionov S. G., Chipens G. I. Int. J. Pept. and Prot. Res., 1979, v. 13, № 4, p. 363—373.
12. Ахрем А. А., Голубович В. П., Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Шерман С. А. Изв. АН БССР. Сер. хим., 1976, № 5, с. 83—92.
13. Motany F. A., McGuire R. F., Burgess A. W., Scheraga H. A. J. Phys. Chem., 1975, v. 79, № 22, p. 2361—2381.
14. Nikiforovich G. V., Betinsh J. R., Podinsh L. U., Chipens G. I. Stud. biophys., 1981, v. 85, № 2, p. 107—113.
15. Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Балодис Ю. Ю. Биорган. химия, 1981, т. 7, № 2, с. 179—188.

Поступила в редакцию  
8.VI.1983

#### CONFORMATIONAL ASPECTS OF MOLECULAR ACTION MECHANISM FOR BRADYKININ.

II. CYCLOANALOGUES OF BRADYKININ: CONFORMATIONS AND SELECTIVITY OF ACT ON  
NIKIFOROVICH G. V., PODINSH L. U., ROZENBLIT S. A., CHIPENS G. I.

*Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences of the Latvian SSR, Riga*

Conformation energy calculations performed for *cyclo*[( $\epsilon$ -lysine<sup>1</sup>, glycine<sup>6</sup>)]bradykinin and *cyclo*- $\epsilon$ -kallidin indicate the absence of spatially equivalent low-energy structures for bradykinin and cyclobradykinin molecules, whereas cyclokallidin has conformations similar to the «biologically active» ones for bradykinin that are implicated in binding to both  $B_1$  and  $B_2$  type receptors.