



УДК 547.962 : 541.63

© 1990 г.

*Е. В. Сулейманова, Н. М. Годжаев, Н. А. Ахмедов,
Е. М. Попов**

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ [Met]ЭНКЕФАЛИНА И ЭНДОРФИНОВ

II *. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ α -, γ - И δ -ЭНДОРФИНОВ

*Азербайджанский государственный университет им. С. М. Кирова, Баку;
* Всесоюзный заочный институт пищевой промышленности, Москва*

Исследованы пространственное строение и конформационные свойства нейропептидов α -, γ - и δ -эндорфинов, аминокислотные последовательности которых идентичны соответственно участкам 1—16, 1—17 и 1—19 аминокислотной последовательности молекулы β -эндорфина. Найдены низкоэнергетические конформации гормонов, выявлена преемственность в их пространственной организации и отмечены структурные особенности молекул.

Цель настоящей работы — исследование пространственного строения и конформационных возможностей сложных линейных нейропептидов α -, γ - и δ -эндорфинов на основе их аминокислотных последовательностей (схема), выяснение роли внутри- и межкостаточных взаимодействий в формировании пространственной структуры эндорфинов и стабилизации той или иной конформации. Поставленная задача решена методом теоретического конформационного анализа с использованием поэтапного подхода [2—4]. В рамках этого подхода аминокислотная последовательность была разбита на постепенно усложняющиеся фрагменты, что позволило последовательно рассмотреть их конформационные возможности и приблизиться на завершающих этапах к анализу конформационных свойств самих молекул нейропептидов.

Конформационный анализ эндорфинов выполнен согласно приведенной схеме расчета. Способ разбиения молекулы на отдельные части при наличии согласованности между всеми внутримолекулярными взаимодействиями не имеет принципиального значения, а касается лишь рационального выбора процедуры решения задачи и продиктован интуитивными соображениями, возможностями вычислительной техники и эффективностью используемого метода минимизации.

Ранее нами были рассмотрены конформационные возможности свободной молекулы [Met]энкефалина с заряженными N- и C-концевыми группами N^+H_3 и COO^- [1]. Поскольку аминокислотная последовательность энкефалина (а в дальнейшем анализе и α -, и γ -, и δ -эндорфинов) идентична участку 1—5 (соответственно участкам 1—16, 1—17 и 1—19) эндорфинов, был выполнен дополнительный анализ участка $Tyr^1 - Met^5$ (соответственно $Tyr^1 - Thr^{16}$, $Tyr^1 - Leu^{17}$ и $Tyr^1 - Lys^{19}$) как фрагмента с N-метилированной C-концевой пептидной группой, лишенной отрицательного заряда. Расчет этого фрагмента и отмеченных выше фрагментов не привел к какому-либо существенному энергетическому перераспределению конформаций, полученных для молекулы [Met]энкефалина [1] (α -, γ - и δ -эндорфинов). Для последующего конформационного анализа нами

* Сообщение I см. [1].

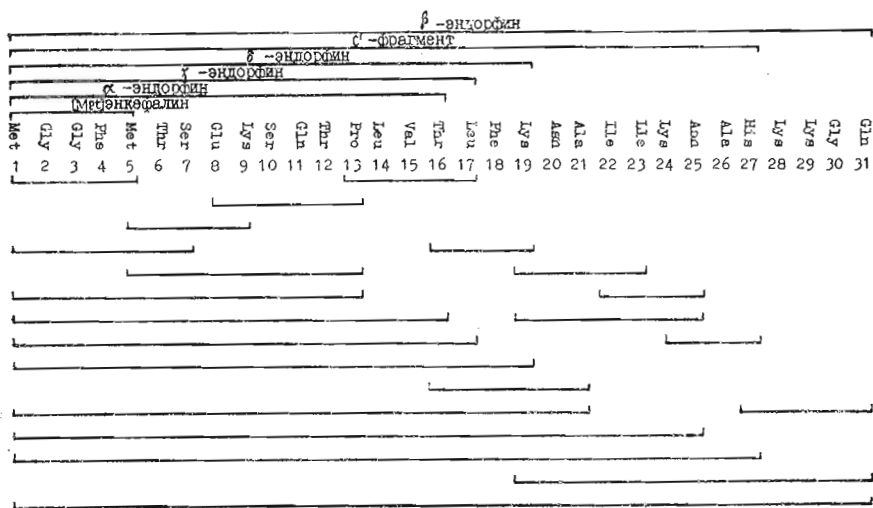


Схема расчета конформаций эндорфинов

были оставлены структурные варианты 12 шейпов пентапептида, относительная энергия которых не превышает 9,0 ккал/моль. Исключенными из дальнейшего рассмотрения, таким образом, оказались структурные типы *eeefe*, *feeee*, *feje* и *jefff*.

Фрагменты $Met^5 - Lys^9$, $Glu^8 - Pro^{13}$, $Pro^{13} - Leu^{17}$ и $Thr^{16} - Lys^{19}$. Исходные для минимизации приближения фрагментов $Met^5 - Lys^9$, $Glu^8 - Pro^{13}$, $Pro^{13} - Leu^{17}$ и $Thr^{16} - Lys^{19}$ были сформированы при предварительном исследовании конформационных возможностей перекрывающихся ди- и трипептидных участков, анализ которых в свою очередь выполнен при учете низкоэнергетических оптимальных конформационных состояний свободных остатков. Для пентапептидов 5—9 и 13—17 были составлены наборы нулевых приближений, включающие соответственно 136 и 125 структурных вариантов всех шейпов пептидного скелета, 24 форм основной цепи. Минимизация энергии исходных конформаций обоих пентапептидов свидетельствует об отсутствии очевидного преимущества какой-либо формы или шейпа пептидного скелета, т. е. последовательности пентапептидов 5—9 и 13—17 в свободном состоянии обладают внутренней подвижностью. Отсутствие заметной дифференциации по энергии потребовало в последующем расчете проверки перспективности конформационных состояний этих фрагментов всех шейпов.

Из 32 в принципе возможных для гексапептида типов структур у фрагмента $Glu^8 - Pro^{13}$ может реализоваться лишь половина, поскольку для остатка, предшествующего пролину, практически запрещена (если этот остаток не глицин) форма *R* [5—8]. Поэтому дипептид $Thr^{12} - Pro^{13}$ в состоянии принимать только развернутые формы шейпа *e*. Исходный набор с учетом различных ориентаций боковых цепей включал 189 структурных вариантов гексапептида 8—13, имеющих 23 формы основной цепи. Решающую роль в стабилизации структур, как следует из энергетического распределения конформеров, играет энергия дисперсионных взаимодействий. Поскольку этот вид взаимодействий эффективен лишь на коротких расстояниях и при большом числе контактов, самые выгодные структуры обладают плотнейшей упаковкой. Все оптимальные конформации гексапептида с относительными энергиями до 5,0 ккал моль принадлежат всего шести шейпам (*eeefe*, *eeeee*, *efife*, *feeee*, *ffffe* и *ffife*) и в дальнейшем были привлечены к конформационному анализу больших фрагментов.

Минимизация энергии при вариации всех двугранных углов основной и боковых цепей 115 исходных структурных вариантов 12 различных форм основной цепи тетрапептида $Thr^{16} - Lys^{19}$ выявила резкую энергетическую дифференциацию конформации. В энергетический интервал 0—4,0 ккал/моль попали 17 конформаций пяти шейпов основной цепи пентапептида. Все они, а также по одному лучшему представителю трех остав-

шихся шейпов большей энергии были выбраны для последующего конформационного анализа.

Фрагменты Tyr¹ — Ser⁷ и Met⁵ — Pro¹³. Для расчета конформационных возможностей N-концевого гептапептидного участка эндорфинов использованы конформации 12 шейпов участка последовательности энкефалина с $\Delta E \leq 9,0$ ккал/моль и данные анализа пентапептида Met⁵ — Lys⁹, включающие из-за значительной конформационной лабильности последнего в изолированном состоянии все типы структур различных форм основной цепи. Минимизации подвергалось 286 структурных вариантов 83 форм основной цепи, подразделяющихся на 48 шейпов. Поэтому в энергетический интервал 0—90 ккал/моль попали конформации 34 типов. Из структур пяти предпочтительных у молекулы [Met]энкефалина [1] шейпов все пять остаются самыми выгодными и для гептапептида, причем их энергия сравнительно мало зависит от конформационного состояния концевой трипептида Met⁵ — Ser⁷. Расчет выявил 4 большие группы шейпов, каждая из которых имеет строение энкефалинового пентапептида, отвечающее самым выгодным структурам свободной молекулы [Met]энкефалина.

Наиболее интересный результат анализа гептапептида 1—7 заключается в присутствии в составе низкоэнергетических вариантов фрагмента конформаций с развернутыми типами форм основной цепи энкефалинового участка (*eeee*, *eeef*). Для свободного фрагмента 1—5 они значительно уступали свернутым структурам [1].

Исходный набор структурных вариантов нонапептидного участка Met⁵ — Pro¹³ был сформирован на основе оптимальных конформаций Met⁵ — Lys⁹ всех шейпов и оптимальных конформаций Gly⁸ — Pro¹³, шести отмеченных выше шейпов с $\Delta E = 5,0$ ккал/моль. Конформационная лабильность пентапептида 5—9 подразумевала реализацию в качестве начальных уже только за счет всех возможных для присоединяемого трипептида 5—7 ситуаций (*ee*, *ef*, *fe* и *ff*) большого количества вероятных структурных вариантов нонапептида 5—13. Их было 130 и принадлежали они 48 шейпам пептидного скелета. Лишь 9 структурных вариантов в результате минимизации конформационной энергии оказались с $\Delta E \leq 5,0$ ккал/моль. Низкоэнергетические конформации 5—13 довольно четко делятся на две наиболее представительные группы, в одной из которых гексапептидный участок 8—13 имеет структуру типа *efffe*, а в другой — *ffffe*; и та, и другая принадлежат к самым предпочтительным у свободного фрагмента.

Фрагмент Tyr¹ — Pro¹³. Начальные структурные варианты тридекапептида 1—13 составлены из оптимальных конформаций перекрывающихся на трипептидном участке Met⁵ — Ser⁷ фрагментов Tyr¹ — Ser⁷ (выбраны 22 структуры разных типов с $\Delta E = 6,0$ ккал/моль) и Met⁵ — Pro¹³ (18 структур с $\Delta E = 7,0$ ккал/моль). Минимизация энергии 151 структуры 110 шейпов выявила из резкое различие в стабильности. В энергетический интервал 0—5,0 ккал/моль попадают относительные энергии только двух структур, а в интервал 0—8,0 ккал/моль — шести. C-Концевой участок 8—13 тридекапептида реализуется всего в двух состояниях: *ffffe* и *efffe*. Первое из них, идентичное глобальной структуре свободного гексапептида 8—13, принимают 12 оптимальных конформаций тридекапептида; второе, также одно из самых низкоэнергетических для пептида 8—13, — три остальные конформации фрагмента 1—13.

Самая лучшая конформация тридекапептида состоит из оказавшихся комплементарными друг другу глобальных конформаций [Met]энкефалина (*efff*) и фрагмента Met⁵ — Pro¹³ (*effffffe*). Следующая по энергии структура Tyr¹ — Pro¹³ ($\Delta E = 3,2$ ккал/моль) отличается от нее лишь состоянием N-концевого пентапептида, которое также входит в число самых предпочтительных конформаций [Met]энкефалина. Во всех случаях низкоэнергетические конформации Tyr¹ — Pro¹³ представляют собой суперпозиции наиболее выгодных состояний фрагментов Tyr¹ — Met⁵ и Met⁵ — Pro¹³. Однако далеко не каждое конформационное сочетание этих фрагментов оказывается комплементарным и приводит к структурам тридекапептида низкой энергии.

Шейпы пептидного скелета низкоэнергетических оптимальных конформаций фрагмента $\text{Tyr}^1 - \text{Pro}^{13}$

№ п/п	Ш Е Я П										E, ккал/моль	
	1	5	6							13		
1	e	f	f	f								0
2	e	f	f	e								3,2
3	f	f	f	f								7,7
4	f	f	e	f	e	f	f	f	f	f	e	8,3
5	e	e	e	f								8,4
6	e	e	e	e								9,8
7	f	f	f	f	f	f	f	f	f	f	e	5,1
8	e	f	f	e								5,7
9	f	f	f	e	f	e	e	f	f	f	e	8,5
10	f	f	f	f	e	f	e	e	f	f	e	7,8
11	e	f	f	e								9,0
12	f	f	f	e	e	e	f	f	f	f	e	9,5
13	e	f	f	e	e	e	f	e	f	f	e	9,2
14	f	f	f	e	f	e	f	f	f	f	e	9,9
15	f	f	f	e	f	e	f	e	f	f	e	9,9

Не включенные в табл. 1 136 конформаций $\text{Tyr}^1 - \text{Pro}^{13}$ из 151 рассчитанных имеют высокую энергию и являются нереальными, хотя они также составлены из выгодных структурных вариантов фрагментов.

Комплементарными оказываются те сравнительно редкие конформационные состояния фрагментов, которые при их объединении приводят к образованию новых стабилизирующих взаимодействий дальнего порядка, не разрушающих взаимодействия, сложившиеся у свободных фрагментов. Критерием комплементарности, таким образом, является согласованность ближних, средних и дальних взаимодействий.

Для выявления стереоспецифичности взаимодействий между состояниями различных участков достаточно длинной последовательности простой минимизации энергии при вариации двугранных углов основных и боковых цепей недостаточно. Для получения необходимой информации об особенностях потенциальной поверхности требуется дополнительная кропотливая процедура: изучение поверхности и поиск новых локальных минимумов путем построения конформационных карт $\phi - \psi$ и $\chi_i - \chi_{i+1}$, попытки устранить возникающие в ряде случаев при объединении фрагментов дестабилизирующие взаимодействия, минимизация энергии при вариации ограниченного числа переменных. Весьма полезен анализ атомных моделей с непрерывным последующим обращением к расчету. Такая процедура использована нами в конформационном анализе $\text{Tyr}^1 - \text{Pro}^{13}$ и рассматриваемых ниже эндорфинов.

α -Эндорфин ($\text{Tyr}^1 - \text{Thr}^{16}$). Конформационные возможности гормона были выяснены при поиске наилучших ориентаций тетрапептидного фрагмента $\text{Pro}^{13} - \text{Thr}^{16}$ с отрицательно заряженной С-концевой карбоксильной группой, исходя из конформационных состояний, отвечающих отображенным оптимальным структурам $\text{Pro}^{13} - \text{Leu}^{17}$ относительно всех низкоэнергетических вариантов $\text{Tyr}^1 - \text{Pro}^{13}$ (табл. 1). Исключенными у $\text{Pro}^{13} - \text{Thr}^{16}$ оказались только конформации типа *eef*, приводящие у фрагмента $\text{Pro}^{13} - \text{Leu}^{17}$ к структурам высокой энергии.

Минимизации подверглось около 400 структурных вариантов α -эндор-

фина, многие из которых были дополнительно проанализированы с помощью описанной выше процедуры. Полученные в результате оптимальные конформации гормона чрезвычайно резко дифференцированы по энергии в отношении как шейпов, так и форм основной цепи и конформационных состояний. В табл. 2 приведены 16 конформаций α -эндорфина, относительная энергия которых не превышает 10 ккал/моль. Они разделены нами на группы А, В и С. Общим элементом в каждой группе является шейп пептидного остова центрального фрагмента Met⁵ — Pro¹³. Его шейп в группе А (effffffe) отличается от шейпа в группе В (ffffffe) только дипептидным участком Met⁵ — Thr⁶, структура которого в первом случае относится к развернутому типу (e), а во втором — к свернутому (f). Различия шейпа С (eefefffe) более серьезны.

Наиболее представительна по числу низкоэнергетических конформаций группа А. Среди них находится глобальная структура α -эндорфина (A₁), а также незначительно уступающие ей по энергии структуры A₄ ($\Delta E = 1,0$ ккал/моль), A₅ (1,7), A₂, A₆ (4,4) и A₈ (4,7). Все конформации этой группы в центре, на участке Thr⁶ — Thr¹⁶, содержат α -спираль протяженностью около двух витков. По обе стороны спирали основные цепи дипептидов Met⁵ — Thr⁶ и Thr¹² — Pro¹³ имеют развернутые формы. Конформации А отличаются друг от друга ориентациями N-концевого участка Tyr¹ — Met⁵, для которого выгодными оказываются почти все предпочтительные конформации молекулы [Met]энкефалина, и положениями С-концевого участка. Таким образом, характерной особенностью структурных вариантов группы А является наличие достаточно жесткого конформационного ядра в центральной части молекулы при сравнительно лабильных N- и С-концевых фрагментах.

Энкефалиновый участок последовательности, сохраняя все свои выгодные внутренние контакты, эффективно взаимодействует с остальной частью молекулы ($-18,0$ ккал/моль). То же относится и к фрагменту Leu¹⁴ — Val¹⁵ — Thr¹⁶, энергия взаимодействий которого с Tyr¹ — Pro¹³ составляет около $-8,0$ ккал/моль. Существенную роль в стабилизации пространственной структуры α -эндорфина играют боковые цепи остатков Glu⁸ и Lys⁹, находящиеся в середине последовательности и взаимодействующие одновременно с удаленными остатками на обоих концах цепи. Гидрофобная часть боковой цепи Glu⁸ эффективно взаимодействует как с предшествующими остатками — Tyr¹ ($-3,2$ ккал/моль), Phe⁴ ($-1,5$), Met⁵ ($-3,0$), так и с последующими: Gln¹¹ ($-4,5$), Thr¹² ($-1,6$), Val¹⁵ ($-3,3$). Сближенной с обоими концами последовательности оказывается также боковая цепь Lys⁹, вызывающая, как и Glu⁸, сравнительно незначительную дестабилизацию за счет взаимодействия с одноименно заряженным остатком Tyr¹.

Большая протяженность, высокая лабильность и наличие противоположных зарядов у боковых цепей позволяют остаткам Glu⁸ и Lys⁹ с приблизительно равным успехом играть стабилизирующую роль при различных конформационных состояниях N- и С-концевых участков. Наилучшие условия для реализации остатками Glu⁸ и Lys⁹ дальних стабилизирующих взаимодействий предоставляет шейп пептидного скелета effffffe в центральной части последовательности.

Конформации группы В существенно отличаются от А, несмотря на, казалось бы, незначительные изменения шейпа одного дипептидного участка (Met⁵ — Thr⁶). Сравнительно низкоэнергетические структуры в этом случае возможны только при одном, а именно полностью свернутом (ffff), конформационном состоянии энкефалиновой последовательности. Пространственное строение всех представителей этой группы характеризуется непрерывной спиральной формой основной цепи у додекапептидного фрагмента Tyr¹ — Tyr¹², которая на участке Gly³ — Thr¹² представляет собой α -спираль. N-Концевая часть последовательности в конформациях В удалена от остатков Glu⁸ и Lys⁹. Доминирующее значение в стабилизации структур имеют здесь средние взаимодействия, особенно между остатками в положениях 1—4—5. Относительная энергия лучшей конформации этой группы (B₁) выше глобальной (A₁) на 3,0 ккал/моль.

Конформация	Шеяп	Конформация	Энергетические вклады, ккал/моль			
			ΔE	$E_{н.в.}$	$E_{эл.}$	$E_{торс.}$
A ₁	-fef	B ₂₂ R ₂ R ₃₃	0	-91,6	7,2	13,6
A ₂	-feff	B ₂₁₂ BPR ₂₃ B ₂₁₂ R ₃₂ R ₁₂ R ₂₂₁ R ₃₁₂₂ R ₂₂ R ₁₂₃ B ₃₂	4,4	-89,9	8,9	14,7
A ₃	-eff	R ₂₁ R ₂ R ₃₂	9,2	-87,0	11,4	14,1
A ₄	-eef	B ₂₁₂ BBR ₃₁ B ₁₂₂₂	1,0	-96,8	5,5	11,5
A ₅	-fffe	B ₂₁₂ PRB ₂₁ B ₂₁₂	1,7	-85,9	6,3	10,7
A ₆	-ffff	B ₂₃₂ PRB ₂₃ I ₃₂₂	4,4	-86,8	7,8	12,7
A ₇	-eff	R ₂₁ R ₂ R ₃₂	6,1	-86,0	8,9	12,5
A ₈	-effe	B ₁₃₃ BPB ₁₁ B ₂₁₂	4,7	-87,1	8,9	12,2
A ₉	-ffe	R ₂₁ B ₂ R ₁₂	6,7	-85,2	9,6	11,5
B ₁	-fef	B ₂₂ R ₂ R ₃₂	3,0	-87,3	8,3	11,3
B ₂	-fee	B ₂₂ B ₂ B ₃₂	5,4	-86,9	9,3	12,3
B ₃	-ffff-ffffe-efe	B ₂₁₂ PRR ₂₁ R ₂₂₂ R ₃₂ R ₂₁ R ₂₂₁ R ₃₁₂₂ R ₂₂ R ₁₂₃ B ₃₂ B	8,8	-83,6	10,6	11,1
B ₄	-ffe	R ₂₁ B ₂ R ₁₂	9,6	-84,1	10,9	12,1
B ₅	-eff	R ₂₁ R ₂ B ₃₂	9,7	-84,1	11,8	11,2
C ₁	-ffe	B ₂₁₃ PRB ₂₁ B ₂₁₂ B ₁₂ R ₁₂ B ₂₁₁ R ₃₁₂₂ R ₂₂ R ₁₂₃ B ₃₂	4,3	-82,3	4,7	11,2
C ₂	-eeee	B ₂₁₂ BBB ₁₁ B ₂₁₂ B ₁₂ P ₁₂ B ₂₁₁ R ₃₁₂₂ R ₂₂ R ₁₂₃ B ₃₂ B-R ₂₁ B ₂ R ₃₂	7,2	-81,2	8,5	9,3

Двугранные углы (град) в оптимальных конформациях А₁, В₁ и С₁ (табл. 2)
α-эндорфина

Остаток	Основная цепь			Боковая цепь				
	φ	ψ	ω	χ ¹	χ ²	χ ³	χ ⁴	χ ⁵
Tyr ¹	-59	141	-176	-169	91	180		
	-3	156	179	-173	83	180		
	-173	155	177	-177	75	180		
Gly ²	-150	81	173					
	73	-85	179					
	81	-83	-178					
Gly ³	82	-76	-175					
	-67	-46	178					
	-67	-44	176					
Phe ⁴	-91	-49	-162	178	-112			
	-70	-40	-179	177	86			
	-145	149	-175	178	79			
Met ⁵	-157	160	176	-169	58	-178	60	
	-57	-36	-175	-178	175	180	180	
	-117	140	-175	-174	64	177	180	
Thr ⁶	-93	-54	-172	-59	178	179		
	-87	-44	-173	-59	178	179		
	-96	155	177	62	180	178		
Ser ⁷	-58	-31	-178	62	180			
	-65	-33	-177	62	180			
	-87	-68	172	53	180			
Glu ⁸	-59	-43	179	180	176	91		
	-59	-43	179	180	176	91		
	-100	131	-170	180	59	89		
Lys ⁹	-79	-32	-174	-79	68	167	-177	176
	-79	-33	-174	-79	68	167	-177	176
	-84	-36	-170	-75	67	169	-177	175
Ser ¹⁰	-64	-41	-178	-179	180			
	-64	-41	-178	-179	180			
	-61	-44	-177	-179	180			
Gln ¹¹	-80	-40	179	71	-173	-90		
	-80	-39	179	71	-173	-91		
	-81	-38	-179	68	-179	-94		
Thr ¹²	-133	116	-171	-60	180	179		
	-132	119	-169	-60	180	179		
	-130	106	-174	-60	180	180		
Pro ¹³	-60	-46	-175					
	-60	-45	-176					
	-60	139	-179					
Leu ¹⁴	-113	130	171	-162	176	-169	180	
	-116	105	173	-162	176	-163	180	
	-61	-20	175	175	63	179	180	
Val ¹⁵	-127	-71	-176	176	179	172		
	-125	-71	-179	178	180	177		
	-50	-36	-177	170	-179	176		
Thr ¹⁶	-101	-62	-	-56	179	175		
	-92	-55	-	-55	177	175		
	-62	-56	-	-57	178	178		

Группа С представлена всего двумя структурными вариантами с величинами $\Delta E = 4,3$ и $7,2$ ккал/моль. Их особенность состоит в наибольшей сближенности и вследствие этого в наличии весьма эффективных электростатических и дисперсионных взаимодействий остатков на противоположных концах последовательности. Боковая цепь Lys⁹, однако, не образует здесь столь же многочисленных контактов, как в конформациях А, а ориентирована преимущественно в среду.

Шейпы пептидного скелета низкоэнергетических оптимальных конформаций γ -эндорфина

Конформация	Шейп	E, ккал/моль
A ₁	f e e e f	0
A ₂	f e f f	9,5
A ₃	f e f e	1,0
A ₄	e f f f	5,3
A ₅	f e e e	7,8
A ₆	e f f f f f f f e	10,8
A ₇	f e f e	3,1
A ₈	e f f f	6,5
A ₉	f e f e	4,5
A ₁₀	f f e f	9,3
A ₁₁	f e f e	5,2
B ₁	f e f e	3,0
B ₂	f f f f — f f f f f f f f	7,0
B ₃	f e e e	8,6
C ₁	e e e e — e e f e f f f e	5,2
C ₂	f f f e — e e f e f f f e	5,2

В табл. 2 приведены энергетические вклады от невалентных (включающих водородные связи), электростатических и торсионных взаимодействий в низкоэнергетических конформациях α -эндорфина. Из сопоставления этих данных следует, что решающее значение в стабилизации пространственной структуры имеют невалентные, главным образом дисперсионные, взаимодействия или, иными словами, плотность упаковки гетерогенной аминокислотной последовательности. Между величинами ΔE и $E_{гв}$ четкой корреляции нет, хотя общая тенденция аналогична. Конформации А в среднем компактнее В и тем более С, в таком же порядке возрастает относительная энергия. В табл. 3 приведены значения двугранных углов ϕ , ψ , ω и χ , однозначно описывающие геометрию самых низкоэнергетических структур трех групп (A₁, B₁, C₁).

Какого-либо полезного сопоставления полученных нами данных о пространственной организации α -эндорфина с экспериментом сделать трудно. В работе [9] исследованы спектры ЯМР и сделано заключение о существовании в растворе целого ряда взаимопревращающихся конформеров α -эндорфина, что вполне согласуется с рассмотренными результатами теоретического анализа.

γ -Эндорфин (Tyr¹ — Leu¹⁷). Из общих соображений можно было полагать, что увеличение длины пептидной цепи α -эндорфина всего лишь на один остаток Leu¹⁷, т. е. переход к γ -эндорфину, вряд ли приведет к существенным изменениям конформационных свойств молекулы. Тем не менее получить количественные характеристики пространственной организации γ -эндорфина представлялось целесообразным, тем более что конечной целью нашего исследования является β -эндорфин. Во-первых, последовательности Tyr¹ — Thr¹⁶ и Tyr¹ — Leu¹⁷ физиологически испытываются параллельно, и поэтому в будущем может возникнуть необходи-

Шейпы пептидного скелета низкоэнергетических оптимальных конформаций δ -эндорфина

Кон- форма- ция	Шейп	E, ккал/ моль
A ₁		0
A ₂		4,7
A ₃	e f f f	5,5
A ₄		4,6
A ₅		6,8
A ₆		2,7
A ₇	f f f f	6,6
A ₈	e f f f f f f f e	7,6
A ₉		6,4
A ₁₀	e f f e	7,5
A ₁₁		9,8
A ₁₂	e e e f	6,9
A ₁₃		7,6
A ₁₄	f f f e	8,5
B ₁		1,6
B ₂	f f f f — f f f f f f f e	6,0
B ₃		6,5
B ₄		8,5
B ₅		10,0
B ₆		9,9

мость в строгом соотношении функциональных спектров двух гормонов с достаточно полным набором их низкоэнергетических конформаций. Во-вторых, обнаруженные теоретически, пусть даже небольшие, различия в пространственном строении α - и γ -эндорфинов могут быть целенаправленно использованы для экспериментальной проверки результатов расчета.

В анализе γ -эндорфина взяты все конформации α -эндорфина с относительной энергией до 20,0 ккал/моль и конформационные состояния Leu¹⁷ в структурах фрагмента Pro¹³ — Leu¹⁷ с ΔE до 5,0 ккал/моль. Предпочтительные оптимальные конформации гормона с энергией в интервале 0—10,0 ккал/моль представлены в обозначениях шейпов в табл. 4. Действительно, радикальных изменений с появлением Leu¹⁷ не произошло. Как и у α -эндорфина, имеются три группы конформаций А, В и С, энтальпийно и энтропийно неравноценных. По-прежнему шейп центрального фрагмента Met⁵ — Pro¹³ *efffffe* предоставляет наибольшие возможности для комплементарной упаковки большого числа низкоэнергетических конформационных состояний энкефалинового и С-концевого участков. Так же как и ранее, большую роль в стабилизации структур этой группы играют остатки Glu⁸ и Lys⁹.

Между конформациями А α - и γ -эндорфинов имеются некоторые различия, очевидно, поддающиеся экспериментальной проверке методами ЯМР и КД-спектроскопии. У α -эндорфина в глобальной конформации А₁ фрагмент Tyr¹ — Met⁵ имеет свернутую структуру типа *efff*; конфор-

мация A_1 с развернутой формой *eeef* этого же фрагмента уступает A_1 1,0 ккал/моль (табл. 2). У γ -эндорфина имеет место обратная картина: в глобальной конформации A_1 энкефалиновый участок развернут (*eeef*), а в A_3 с величиной $\Delta E = 1,0$ ккал/моль свернут (*efff*; табл. 4).

Экспериментально может быть замечен и другой, обнаруженный в расчете факт. У γ -эндорфина конформационное равновесие должно быть в большей мере смещено в сторону представителей группы А, чем у α -эндорфина, вследствие энтропийного фактора. Из табл. 2 и 4 видно, что при переходе от α -эндорфина к γ -эндорфину количество низкоэнергетических конформаций группы А увеличивается, а В — уменьшается: последние становятся менее вероятными.

δ -Эндорфин ($Tyr^1 - Lys^{19}$). В основу расчета легли 16 конформаций γ -эндорфина (табл. 4) и отмеченные выше конформации С-концевого тетрапептида (16—19). Всего с учетом согласованности состояний двух общих у фрагментов $Tyr^1 - Leu^{17}$ и $Thr^{16} - Lys^{19}$ остатков было сформировано 130 структурных вариантов δ -эндорфина, принадлежащих 37 шейпам. После минимизации энергии и большой дополнительной работы по уточнению в интервал 0—10,0 ккал/моль попали 20 вариантов, приведенных в табл. 5. Из них 14 составляют группу А со структурой центрального фрагмента $Met^5 - Pro^{13}$ (*efffffe*) и 6 — группу В (*ffffffe*). Все структурные варианты группы С у δ -эндорфина стерически несостоятельны из-за наталкиваний основных и боковых цепей С-концевых остатков на срединный участок последовательности. Все попытки устранить наталкивания, не изменяя при этом структурный тип фрагмента $Met^5 - Pro^{13}$, т. е. не выходя за рамки данной группы, оказались тщетными.

При увеличении длины цепи от α - к γ - и далее к δ -эндорфину наблюдается определенная преемственность в пространственной организации гормонов. Во всех случаях, например, предпочтительными оказываются структуры группы А, а приемлемые состояния N-концевых участков трех эндорфинов отвечают лучшим состояниям свободной молекулы [Met]энкефалина. Между тем имеются и различия, которые, быть может, сказываются на функциональных свойствах гормонов. Мы уже отмечали, что в глобальной конформации α -эндорфина энкефалиновый участок имеет структуру *efff*, а у γ -эндорфина — *eeef*. В лучшей структуре δ -эндорфина (A_1 ; табл. 5) этот участок опять приобретает структуру *efff*. Относительная энергия самой низкоэнергетической конформации этого гормона с *eeef*-структурой фрагмента $Tyr^1 - Met^5$ (A_{12} ; табл. 5) составляет 6,9 ккал/моль. Иными словами, в ряду конформаций А, расположенных в порядке увеличения значений ΔE , переход от α - к γ - и δ -эндорфинам сопровождается перераспределением конформационных состояний энкефалиновых фрагментов:

α -эндорфин — *efff eeef fffe ffff effe*,
 γ -эндорфин — *eeef efff ffff effe fffe*,
 δ -эндорфин — *efff ffff efff eeef fffe*.

Одновременно происходит изменение конформационных состояний общего у трех гормонов участка, примыкающего к противоположному концу α -спирального центрального фрагмента $Met^5 - Pro^{13}$. Так, глобальные конформации α - и δ -эндорфинов практически совпадают на участке $Tyr^1 - Thr^{12}$, но существенно различаются на участке $Pro^{13} - Thr^{16}$; у первого пептида он имеет форму *RBR* (*fef*), а у второго *BRR* (*eff*). Относительная энергия структуры δ -эндорфина с идентичной глобальной конформации α -эндорфина геометрией гексадекапептидного участка составляет около 5 ккал/моль, а энергия конформации α -эндорфина со структурой С-концевого тетрапептида типа *eff* — 9,2 ккал/моль. Таким образом, удлинение цепи, во всяком случае до размера δ -эндорфина, ведет к конформационной перестройке N- и С-концевых фрагментов.

Сказанное выше в отношении С-концевых частей молекул относится к конформациям группы В. Лучшая среди них структура B_1 , очень близкая у δ -эндорфина по энергии глобальной A_1 , имеет состояния фрагментов $Pro^{13} - Thr^{16}$ и $Pro^{13} - Leu^{17}$ *eff* и *efff*, которые соответственно у α - и γ -эндорфинов приводят к структурам с $\Delta E = 9,7$ ккал/моль (B_4 ; табл. 2)

Двугранные углы (град) в оптимальных конформациях A₁ и B₁ (табл. 5) δ-эндорфина

Оста- ток	Основная цепь			Боковая цепь				
	φ	ψ	ω	χ ¹	χ ²	χ ³	χ ⁴	χ ⁵
Tyr ¹	-59 -3	140 156	-176 179	-169 -177	91 83	180 180		
Gly ²	-161 73	81 -84	173 179					
Gly ³	82 -67	-75 -45	-174 179					
Phc ⁴	-91 -70	50 -40	-162 -179	179 177	-113 86			
Met ⁵	-159 -57	160 -36	175 -175	-169 -179	58 174	-178 180	60 180	
Thr ⁶	-93 -86	-54 -44	-173 -173	-59 -59	178 178	178 179		
Ser ⁷	-58 -65	-32 -32	-179 -177	62 62	180 180			
Glu ⁸	-59 -59	-43 -43	179 179	180 180	176 176	91 91		
Lys ⁹	-79 -79	-32 -32	-174 -174	-79 -79	67 68	167 167	-177 -177	176 176
Ser ¹⁰	-64 -64	-40 -41	-178 -178	-178 -179	180 180			
Gln ¹¹	-80 -80	-39 -39	179 179	71 71	-173 -173	-90 -91		
Thr ¹²	-132 -132	121 121	-169 -165	-60 -60	180 180	179 179		
Pro ¹³	-60 -60	143 143	180 180					
Leu ¹⁴	-56 -56	-29 -29	-177 -178	178 178	60 60	180 180	177 177	
Val ¹⁵	-65 -66	-38 -38	179 180	175 175	-178 -178	178 178		
Thr ¹⁶	-68 -68	-41 -41	-171 -173	-58 -58	180 180	179 179		
Leu ¹⁷	-73 -76	-55 -57	180 -177	-55 -52	176 176	-174 -175	-179 -179	
Phe ¹⁸	-121 -112	142 139	-177 -177	-68 179	86 90			
Lys ¹⁹	-107 -109	98 98	-	-69 -69	78 77	165 166	178 177	180 180

и 7,0 ккал/моль (B₂; табл. 4). В то же время относительная энергия конформаций B₄ и B₅ с состояниями этих фрагментов, такими же, как в самых предпочтительных структурах этой группы у α- и γ-гормонов, равна 8,5 и 10,0 ккал/моль.

Для конформаций A₁ и B₁ δ-эндорфина в табл. 6 приведены значения двугранных углов φ, ψ, ω и χ (соответственно первая и вторая строки).

Набор оптимальных конформаций δ-эндорфина с относительной энергией 0—10,0 ккал/моль (табл. 5) использован нами в расчете конформационных возможностей β-эндорфина, аминокислотная последовательность которого состоит из 31 остатка. Его результаты рассматриваются в следующем сообщении.

1. Попов Е. М., Годжаев Н. М., Ахмедов Н. А., Сулейманова Е. В. // Биоорг. химия. 1990. Т. 16. № 4. С. 482—491.
2. Попов Е. М. // Int. J. Quant. Chem. 1979. V. 16. № 4. P. 707—737.
3. Попов Е. М. // Физика молекул. Т. 8. Киев: Наук. думка, 1980. С. 69—113.
4. Попов Е. М., Ахмедов Н. А., Липкин Г. М. // Биоорг. химия. 1975. Т. 1. № 6. С. 1268—1290.
5. Schimmel P. R., Flory P. J. // J. Mol. Biol. 1968. V. 34. № 1. P. 105—120.
6. Damiani A., Santis P. E., Pizzi A. // Nature. 1970. V. 226. № 3, P. 542—543.
7. Scheraga H. A. // Adv. Phys. and Org. Chem. 1968. V. 6. № 1. P. 103—184.
8. Попов Е. М., Липкин Г. М., Архипова С. Ф. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1971. № 2, С. 312—319.
9. Deslauriers R., Tancrede P., McGregor W. H., Sarantakis D., Somorjia R. L., Smyth J. C. P. // Nucl. Magn. Resonans Spectroscopy. Mol. Biol. Proc., 11th Jerusalem Symp. 1978. P. 285—295.

Поступила в редакцию

12.IV.1989

После доработки

19.VII.1989

E. V. SULEIMANOVA, N. M. GOD'JAEV, N. A. AKHMEDOV, E. M. POPOV *

STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE [Met]ENKEPHALIN
AND ENDORPHINS MOLECULES. II. THEORETICAL CONFORMATIONAL
ANALYSIS OF α -, γ - AND δ -ENDORPHINS

S. M. Kirov Azerbaijan State University, Baku;

**All-Union Institute for Food Industry, Moscow*

Conformational energy calculations were carried out for neuropeptides α -, γ - and δ -endorphins, which are 1—16, 1—17 and 1—19 fragments respectively, of β -endorphin. The proposed computational scheme yielded all possible low-energy conformational sets for these hormones. Specific features of spatial organization of each compound and similarities of their structures are discussed.