



УДК 547.962:541.63

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ РИМОРФИНА И ЕГО СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ

© 1995 г. Н. А. Ахмедов, Т. А. Махмудова, Р. И. Халилов, Н. М. Зейналова

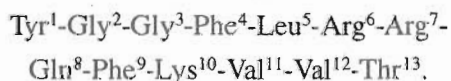
*Бакинский государственный университет им. М.Э. Расулзаде, Баку*

Поступила в редакцию 04.07.94 г. После доработки 12.01.95 г.

Методом теоретического конформационного анализа исследованы структура и конформационные возможности риморфина. Показано, что пространственная организация может быть представлена 11 низкоэнергетическими состояниями основной цепи. Из решения обратной структурной задачи найдены модифицированные аминокислотные последовательности ([Ala<sup>2</sup>], [Ala<sup>3</sup>], [MePhe<sup>9</sup>], [MeLys<sup>10</sup>], [MeVal<sup>11</sup>], [MeVal<sup>12</sup>]-аналоги), пространственные структуры которых отвечают набору низкоэнергетических, потенциально физиологически активных конформаций.

*Ключевые слова: теоретический конформационный анализ; опиоидные пептиды, структура и функции пептидов, риморфин.*

Из экстрактов задней доли гипофиза быка выделен тридекапептид риморфин и установлена его аминокислотная последовательность:



Риморфин был основным пептидом, включающим последовательность [Leu]энкефалина во всех исследованных тканях, в которых обнаруживали динорфин и  $\alpha$ -неоэндорфин [1]. Риморфин,  $\alpha$ -неоэндорфин и динорфин найдены в одном и том же нейроне в мозге крысы и гипоталамусе человека. Риморфин обладает опиоидной активностью. Предполагается, что он оказывает модулирующее действие на анальгетические эффекты морфина и других эндогенных опиоидов [2].

Цель настоящей работы заключалась в изучении структурной организации молекулы риморфина и определении всех его предпочтительных по энергии и, следовательно, потенциально физиологически активных конформационных состояний. Полученные данные использованы для конструирования синтетических аналогов, глобальные конформации которых отвечали бы одному из низкоэнергетических активных состояний природной молекулы. Набор таких аналогов должен воспроизводить весь функциональный спектр молекулы. Иными словами, для молекулы риморфина требовалось решение прямой и обратной структурных задач [3]. Настоящая работа продолжает серию наших исследований структурно-

функциональной организации опиоидных гормонов [4 - 6].

При изложении результатов расчета структуры риморфина использована предложенная ранее [3, 7 - 8] классификация пептидных структур по конформациям, формам основной цепи и шейкам пептидного скелета. Для обозначения конформаций применена система идентификаторов, описанная в тех же сообщениях. Использованные в расчете потенциальные функции и полуэмпирические параметры для оценки невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и водородных связей указаны в работах [7, 8].

Пространственная структура молекулы риморфина исследована фрагментарно. Стабильные конформации N-концевого пентапептида взяты из расчета структуры [Leu]энкефалина [9]. Конформации тетрапептидных фрагментов Arg<sup>6</sup>-Phe<sup>9</sup>, Gln<sup>8</sup>-Val<sup>11</sup> и Lys<sup>10</sup>-Thr<sup>13</sup> получены на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. Конформационные возможности нонапептида Tyr<sup>1</sup>-Phe<sup>9</sup> изучены при использовании результатов расчета фрагментов Tyr<sup>1</sup>-Leu<sup>5</sup>, Arg<sup>6</sup>-Phe<sup>9</sup> и Gln<sup>8</sup>-Val<sup>11</sup>. На последнем этапе пространственное строение риморфина исследовано на основе энергетически выгодных состояний фрагментов Tyr<sup>1</sup>-Phe<sup>9</sup>, Gln<sup>8</sup>-Val<sup>11</sup> и Lys<sup>10</sup>-Thr<sup>13</sup>.

В первом приближении рассчитаны 88 конформаций нонапептида Tyr<sup>1</sup>-Phe<sup>9</sup>, существенно энергетически отличных друг от друга в зависимости от формы основной цепи. В широкий энергетический интервал 0 - 10 ккал/моль попадают 18 форм основной цепи. Эти конформации являются комбинациями трех одинаковых форм

Сокращения: MePhe, MeLys, MeVal - N<sup>α</sup>-метилпроизводные соответствующих аминокислот.

Адрес для переписки: 370133, Баку, пос. Гюняшли, ж/м "В", д. 7, кв. 61, Ахмедову Н.А.

Относительная энергия (ккал/моль) предпочтительных конформаций риморфина и его аналогов

Номер структуры	Конформация	Риморфин	Ala <sup>2</sup>	Ala <sup>3</sup>	MePhe <sup>9</sup>	MeLys <sup>10</sup>	MeVal <sup>11</sup>	MeVal <sup>12</sup>
1	$B_2^1 B_2^2 P^3 B_2^4 B_{21}^5 B_{3222}^6 R_{2222}^7 R_{311}^8 R_3^9 B_{2222}^{10} B_2^{11} R_2^{12} R_1^{13}$	0	0	2.5	-	0	0	0
2	$B_3 B_{2222} B_2 R_2 R_1$	0.7	0.2	4.4	-	-	0.9	6.9
3	$B_2 P R R_2 B_{21} B_{3222} R_{2222} R_{311} R_3 B_{2222} B_2 R_2 R_1$	2.3	2.1	5.0	-	2.5	-	-
4	$B_3 R_{2222} R_2 B_2 B_1$	5.3	4.7	7.9	8.7	-	-	-
5	$B_1 P R B_3 B_{21} B_{3222} R_{2222} R_{311} B_3 R_{2222} B_2 R_2 R_1$	3.9	5.1	8.2	0	-	-	-
6	$R_3 B_{2222} B_2 R_2 R_1$	6.1	-	0	-	-	4.7	7.2
7	$B_2 B P B_2 B_{21} B_{3222} R_{2222} B_{211} R_3 B_{2122} R_2 B_2 B_1$	4.8	-	-	-	-	-	-
8	$B_3 B_{1222} R_2 R_2 R_2$	5.4	-	-	-	-	-	-
9	$B_2 P R R_2 B_{21} B_{3222} R_{2222} B_{211} R_3 B_{2122} R_2 B_2 B_1$	5.4	-	3.1	0.8	-	-	-
10	$B_2 B_{1222} R_2 R_2 R_2$	6.1	-	1.5	-	-	-	-
11	$B_2 B P B_2 B_{21} R_{2222} B_{2222} R_{211} R_3 B_{1222} R_2 R_2 R_3$	2.0	-	-	-	-	6.8	7.3

основной цепи Tyr<sup>1</sup>-Leu<sup>5</sup> (*BBPBB*, *BPRRB* и *BPRBB*) и шести форм фрагмента Arg<sup>6</sup>-Phe<sup>9</sup> (*BBBB*, *BBRR*, *BRBB*, *BRRR*, *RBBB* и *RBRR*). Они были выбраны для расчета риморфина.

Пространственная структура риморфина исследована на основе стабильных конформаций фрагментов Tyr<sup>1</sup>-Phe<sup>9</sup>, Gln<sup>8</sup>-Val<sup>11</sup> и Lys<sup>10</sup>-Thr<sup>13</sup>. Начальные приближения составлены из 36 конформаций фрагмента Tyr<sup>1</sup>-Phe<sup>9</sup> и 8 форм основной цепи фрагмента Lys<sup>10</sup>-Thr<sup>13</sup>; таким образом, в первом приближении были рассчитаны 288 конформаций риморфина. Расчет показал, что возникает сильная энергетическая дифференциация между конформациями, формами основной цепи и шейпами пептидного скелета. В энергетический интервал 0 - 7 ккал/моль попадают 11 структур молекулы, которые приведены в таблице. Энергетически предпочтительные конформации риморфина представляют собой комбинации трех шейпов фрагмента Tyr<sup>1</sup>-Leu<sup>5</sup> (*effe*, *ffff*, *fffe*), трех шейпов фрагмента Leu<sup>5</sup>-Phe<sup>9</sup> (*eeff*, *eeef*, *efef*) и семи шейпов фрагмента Lys<sup>10</sup>-Thr<sup>13</sup> (*feef*, *eeef*, *efef*, *fefe*, *eeff*, *feff* и *effe*). N-Концевой нонапептидный фрагмент риморфина является конформационно-жестким, а C-концевой тетрапептид Lys<sup>10</sup>-Thr<sup>13</sup> - конформационно-лабильным участком.

Для низкоэнергетических структур риморфина были рассмотрены конформационные возможности боковых цепей остатков Arg<sup>6</sup>, Arg<sup>7</sup> и Lys<sup>10</sup> путем построения конформационных карт с последующей минимизацией энергии. Низкоэнергетическим состояниям в свободных фрагментах и

в молекуле риморфина отвечали одни и те же положения боковых цепей остатков. В предпочтительных структурах боковые цепи остатков Arg<sup>6</sup>, Arg<sup>7</sup> и Lys<sup>10</sup> экспонированы в среду.

**Искусственные аналоги риморфина.** Низкоэнергетические конформации риморфина использованы в качестве исходных структурных вариантов для исследования конформационных возможностей его аналогов. Выбор определялся исключительно стерическими соображениями. Остатки Gly<sup>2</sup>, Gly<sup>3</sup> последовательно заменялись на более объемный остаток Ala, а остатки Phe<sup>9</sup>, Lys<sup>10</sup>, Val<sup>11</sup> и Val<sup>12</sup> - на их N-метилпроизводные. Мы исходили из предположения, что эти замены приведут к заметному ограничению конформационной свободы при сохранении функциональных групп и даже запрещению ряда конформаций молекулы, но не вызовут образования новых низкоэнергетических состояний. В таблице показаны относительные энергии риморфина и его [Ala<sup>2</sup>], [Ala<sup>3</sup>], [MePhe<sup>9</sup>], [MeLys<sup>10</sup>], [MeVal<sup>11</sup>], [MeVal<sup>12</sup>]-аналогов. Конформации с большой относительной энергией в таблице отмечены прочерком.

Из ряда конформаций, предпочтительных для риморфина, для искусственных аналогов реализуется только одна, разная для разных аналогов. Если за полифункциональность риморфина ответствен набор низкоэнергетических конформаций, взаимодействующих с соответствующими рецепторами, то аналоги, имеющие лишь по одной низкоэнергетической конформации, будут монофункциональны.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Klipatrick D.L., Wahlstron A., Lahm H.W., Blacher R., Udenfreund S.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Biol. Sci. 1982. V. 79. P. 6480 - 6483.
2. *Скрябин К.Г.* // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева. 1984. Т. 29. С. 195 - 204.
3. *Роров Е.М.* // Int. J. Quant. Chem. 1979. V. 16. P. 707 - 737.
4. *Попов Е.М., Ахмедов Н.А., Махмудова Т.А.* // Био-орган. химия. 1992. Т. 18. С. 1454 - 1463.
5. *Ахмедов Н.А., Ахмедов Н.Ф., Аббаслы Р.М., Попов Е.М.* // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. С. 1464 - 1472.
6. *Ахмедов Н.А., Махмудова Т.А., Попов Е.М.* // Био-орган. химия. 1993. Т. 19. С. 623 - 628.
7. *Попов Е.М.* Структурная организация белков. М.: Наука, 1989.
8. *Akhmedov N.A., Akhverdieva G.A., Godjaev N.M., Rorov E.M.* // Int. J. Peptide Protein Res. 1986. V. 27. P. 95 - 111.
9. *Ахмедов Н.А., Шевченко А.А.* Молекулярные процессы в биологических системах. Баку, 1987. С. 3 - 6.

## Structural Organization of Rimorphin and Its Synthetic Analogs

N. A. Akhmedov<sup>1</sup>, T. A. Makhmudova, R. I. Khalilov, and N. M. Zeinalova

*Rasul-zade State University, Baku, Azerbaijan*

**Abstract** – The spatial structure and conformations of rimorphin were investigated using theoretical conformational analysis. The spatial organization of the peptide can be described by a set of 11 low-energy conformations of the backbone. By solving the reverse conformational problem, a number of modified amino acid sequences ([Ala<sup>2</sup>], [Ala<sup>3</sup>], [MePhe<sup>9</sup>], [MeLys<sup>10</sup>], [MeVal<sup>11</sup>], and [MeVal<sup>12</sup>]-analogs of rimorphin) were determined that have spatial structures corresponding to the set of low-energy conformations and should, therefore, possess physiological activity.

*Key words: theoretical conformational analysis, opioid peptides, peptide structure and functions, rimorphin.*

<sup>1</sup> To whom correspondence should be addressed: kv. 61, dom 7, zh/m "V", pos. Gyunyashli, Baku, 370133 Azerbaijan.