



УДК 547.962 : 541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ
БРАДИКИНИН — ПОТЕНЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА
< Glu-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro. I *

Архипова С. Ф., Севастьянова И. И., Липкин Г. М.,
Попов Е. М.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шелякина
Академии наук СССР, Москва

Для исследования пространственного строения брадикининпотенцирующего пептида выполнен конформационный анализ следующих фрагментов молекулы: $C^{\alpha}CO-Trp^2-Pro^3-NHC^{\alpha}$ (I), $<Glu^1-Trp^2-Pro^3-NHC^{\alpha}$ (II), $<Glu^1-Trp^2-Pro^3-Arg^4-Pro^5-NHC^{\alpha}$ (III), $C^{\alpha}CO-Ile^7-Pro^8-Pro^9$ (IV), $C^{\alpha}CO-Pro^5-Gln^6-Ile^7-NHC^{\alpha}$ (V).

Для каждого фрагмента рассмотрены все возможные конформационные состояния, выявлены наиболее предпочтительные из них и оценена роль взаимодействия между соседними остатками в дифференциации форм по энергии. Анализ ограничен рассмотрением оптимальных форм с *транс*-конфигурацией пептидных групп.

Брадикининпотенцирующие пептиды обладают способностью увеличивать депрессорный эффект брадикинина на кровяное давление и усиливать его действие на проницаемость кровеносных сосудов. Кроме того, эти соединения ингибируют превращение неактивного ангиотензина (I) в повышающий кровяное давление ангиотензин (II) [1]. Для понимания механизма функционирования брадикининпотенцирующих пептидов необходимо знать их конформационные возможности. В связи с этим нами было изучено пространственное строение одного из наиболее активных соединений этой серии — нонапептида $<Glu^1-Trp^2-Pro^3-Arg^4-Pro^5-Gln^6-Ile^7-Pro^8-Pro^9$ (БПП₉).

Теоретическое изучение конформационных состояний БПП₉ представляет интерес не только благодаря важным биологическим свойствам этого соединения. Более общее значение конформационного анализа БПП₉ связано с разработкой эффективного метода исследования пространственного строения олигопептидов. Необходимость в создании такого метода диктуется наличием огромного количества сравнительно низкомолекулярных пептидов, обладающих биологической активностью. Возникающие здесь трудности вызваны большим числом оптимальных форм монопептидов большинства природных аминокислот, реализация которых в структуре олигопептидных молекул равновероятна. Это обстоятельство в общем случае делает практически невозможным прямой теоретический конформационный анализ на основе монопептидных форм уже пента- и гексапептидов.

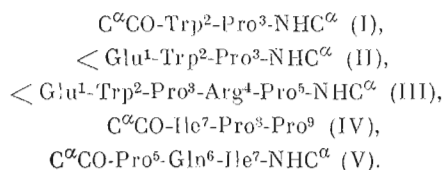
* Все аминокислоты L-ряда, $<Glu$ — пироглутаминовая кислота.

Решение конформационной задачи олигопептидов важно еще и потому, что от этого в значительной степени зависит решение другой, более фундаментальной проблемы молекулярной биологии — проблемы пространственной организации белковых молекул. Изучение конформационных возможностей олигопептидных фрагментов, пожалуй, самый ответственный и сложный этап на пути априорного предсказания стабильных конформаций белка.

Ранее [2—5] были изучены конформационные состояния ряда ди- и трипептидных фрагментов, состоящих из гидрофобных, а также полярных аминокислотных остатков. Показано, что уже на уровне дипептидов имеет место взаимообусловленность конформационных состояний смежных остатков и, как следствие, энергетическая дифференциация оптимальных форм. Среди конформаций дипептидов, предварительно составленных из практически эквивалентных низкоэнергетических форм монопептидов, выделяется лишь сравнительно небольшой набор структур, обладающих низкой энергией. Найденные при независимом анализе низкоэнергетические конформации трипептидов представляют собой сочетания самых предпочтительных дипептидных форм. Переход от дипептидов к трипептидам сопровождается прогрессирующей энергетической дифференциацией конформаций. В результате проведенного анализа был предложен метод априорного расчета стабильных конформаций олигопептидных молекул, основанный на знании конформационных возможностей смежных дипептидных фрагментов. Для апробации фрагментарного подхода представляется важным проверить его на более сложных, чем это было сделано до сих пор, объектах. В этом отношении молекула БПП₉ является удобной моделью, поскольку в ее состав входят четыре остатка пролина. Как известно, пролин не только сам имеет ограниченную конформационную свободу [6, 7], но и значительно уменьшает подвижность предшествующего остатка, обуславливая энергетическую предпочтительность конформации В [8]. Благодаря такой аминокислотной последовательности БПП₉ оказалось реально для этой молекулы выполнить весьма полный конформационный анализ ее фрагментов и на завершающей стадии расчета рассмотреть широкий набор конформационных состояний молекулы.

Характер ближних взаимодействий и оптимальные конформации входящих в БПП₉ остатков в их свободном состоянии были рассмотрены ранее в работах [7, 9—13].

Для оценки роли взаимодействий между соседними по цепи остатками (средние взаимодействия) молекула была разбита на следующие фрагменты:



После анализа фрагментов в порядке (I) → (V) были исследованы конформационные состояния всей молекулы (результаты будут приведены в следующем сообщении). В данной работе для всех пептидных групп предполагалась *транс*-конфигурация на основании того факта, что в олигопептидах, например в брадикиnine [14], и в белках остаток Pro реализуется в данной конфигурации.

Параметры и потенциальные функции. Длины связей в основной цепи БПП₉ приняты равными параметрам Полинга — Кори [15]; валентные углы пептидной группы равны значениям, предложенным в [16]. Геометрические параметры боковых цепей приведены в [6]. Пролиновое кольцо предполагалось плоским; его геометрия дана в [17]. Рассчитанные параметры пироглутаминовой кислоты, отвечающие плоской геометрии кольца, близки данным рентгеноструктурного анализа [18] и расчета [19].

Конформационный анализ БПП₉ выполнен с учетом невалентных и электростатических взаимодействий, водородных связей и торсионного вклада. Невалентные взаимодействия оценивались по потенциалу Леннарда — Джонса с параметрами Скотта и Шераги [20]. Электростатическая энергия рассчитывалась по закону Кулона с использованием зарядов на атомах, предложенных Поландом и Шерагой [21]. Конформационные состояния молекул исследованы применительно к условиям полярной среды. В связи с этим величина диэлектрической проницаемости принята равной 10 [22], а водородные связи, оцениваемые по потенциалу Морзе [16], предполагались ослабленными (максимальная энергия при $r_0 = 1,8 \text{ \AA}$ составляла $-1,5$ ккал/моль [22]). Торсионные потенциалы и величины барьеров взяты такими же, как в работе [6].

Для основной цепи каждого остатка в качестве нулевых приближений учитывались три возможных состояния, находящихся на конформационной карте $\varphi - \psi$ в низкоэнергетических областях R ($\varphi, \psi = -180-0^\circ$), B ($\varphi = -180-0^\circ; \psi = 0-180^\circ$) и L ($\varphi, \psi = 0-180^\circ$); для -Pro- — два состояния (R и B). У боковых цепей нулевыми приближениями служили положения, отвечающие минимумам торсионных потенциалов. Для обозначения структуры молекулы БПП₉ и ее фрагментов конформационные состояния каждого остатка определяются идентификатором X_{ijk}^N , где X характеризует состояние основной цепи остатка (R, B или L), N — номер остатка в последовательности, а $i, j, k, \dots = 1, 1, 1, \dots; 1, 2, 1, \dots 1, 3, 2, \dots$ и т. д. отвечают положениям боковой цепи ($\chi^1, \chi^2, \chi^3, \dots$), индекс 1 соответствует углу $\chi = 60^\circ$, 2 — $\chi = 180^\circ$ и 3 — $\chi = -60^\circ$. В случае торсионных потенциалов типа $U_\chi = \frac{U_0}{2} (1 - \cos 6\chi)$ (например, вращение вокруг связи $C^\beta - C^\gamma$ у -Trp-) индекс 1 соответствует $\chi^2 = 90^\circ$, а 2 — $\chi^2 = -90^\circ$.

Поиск минимума потенциальной энергии осуществлялся по первым производным. Наряду с общей энергией оптимальной формы ($E_{\text{общ}}$) рассматривались энергетические вклады от скелетных взаимодействий ($E_{b_n-b_m}$), от взаимодействий в пределах одного остатка ($E_{\text{ост}}$), от взаимодействий между боковыми цепями ($E_{s_n-s_m}$) и между основными и боковыми цепями ($E_{b_n-s_m}$). Способ разбиения пептидной цепи и нумерацию индексов n, m см. на рис. 1 и 2. Здесь остаток $< \text{Glu}$ помечен r , а концевой карбоксил — S .

Фрагмент $C^\alpha \text{CO-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-NH}C^\alpha$ (I). Нулевые приближения фрагмента (I) формировались исходя из двух возможных конформационных состояний остатка Pro (R и B) и 54 состояний -Trp- (все комбинации трех (R, B и L) форм основной цепи с 18 формами боковой цепи ($\chi^1 = 60, 180, -60^\circ$ и $\chi^2 = 30, 90, 150, -30, -90, -150^\circ$)). Самые предпочтительные конформации основной цепи — $B - B$ и $B - R$; структуры $L - B$ и $L - R$ проигрывают им ~ 4 , а $R - R$ и $R - B$ — более 8 ккал/моль. Значения энергии конформаций $B - B$ и $B - R$ даны в табл. 1, здесь же приведены значения ее составляющих $E_{b_4-s_2}$ и $E_{s_2-s_3}$ (рис. 1); остальные энергетические вклады не включены в таблицу, поскольку они или весьма близки во всех конформациях, или незначительны по величине. Наиболее выгодны в обоих случаях конформации с $\chi^1 = 180^\circ$, в которых осуществляется эффективное взаимодействие боковой цепи -Trp²- с кольцом -Pro³- и участком основной цепи b_4 . При $\chi^1 = 60$ и -60° кольцо триптофана повернуто от -Pro- и взаимодействие $s_2 - s_3$ значительно ослаблено. Из шести возможных оптимальных (в отношении торсионного потенциала) значений угла χ^2 -Trp- предпочтительными во всех случаях оказывались два: 90 и -90° .

В дальнейшем расчете принимались во внимание все конформации, приведенные в табл. 1.

Фрагмент $< \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-NH}C^\alpha$ (II). Конформационное состояние

Энергетические параметры фрагмента $C^{\alpha}CO-Trp^2-Pro^3-NHC^{\alpha}$ (I)

Конформация $B_{ij}^2 - B^3$	$E_{общ}^{отн}$	$E_{b_4-s_2}$	$E_{s_2-s_3}$	Конформация $B_{ij}^2 - R^3$	$E_{общ}^{отн}$	$E_{b_4-s_2}$	$E_{s_2-s_3}$
11	1,4	-2,6	-1,3	11	2,1	-1,4	-1,0
12	2,6	-1,4	-0,9	12	1,1	-1,6	-0,9
21	1,6	-1,8	-2,5	21	0	-2,9	-2,3
22	0,4	-3,0	-2,1	22	0,7	-3,0	-1,5
31	2,9	-0,2	-0,4	31	2,3	-0,4	-1,0
32	3,1	-0,2	-1,8	32	2,3	-0,5	-1,9

Таблица 2

Энергетические параметры фрагмента $<Glu^1-Trp^2-Pro^3-NHC^{\alpha}$ (II)

Конформация $X^1 - B_{ij}^2 - B^3$	$E_{общ}^{отн}$	E_{r-s_2}	Конформация $X^1 - B_{ij}^2 - R^3$	$E_{общ}^{отн}$	E_{r-s_2}		
<i>B</i>	11	2,4	-0,4	<i>B</i>	11	3,2	-0,5
<i>R</i>	11	0,8	-1,4	<i>R</i>	11	1,5	-1,6
<i>B</i>	12	2,8	-1,6	<i>B</i>	12	1,5	-1,6
<i>R</i>	12	0,8	-2,9	<i>R</i>	12	0	-3,1
<i>B</i>	21	2,9	-0,3	<i>B</i>	21	1,3	-0,3
<i>R</i>	21	2,1	-0,5	<i>R</i>	21	0,6	-0,5
<i>B</i>	22	1,6	-0,3	<i>B</i>	22	1,9	-0,3
<i>R</i>	22	0,9	-0,4	<i>R</i>	22	1,2	-0,4
<i>B</i>	31	2,3	-2,4	<i>B</i>	31	1,9	-2,6
<i>R</i>	31	0,9	-4,0	<i>R</i>	31	1,8	-2,6
<i>B</i>	32	4,1	-0,8	<i>B</i>	32	3,3	-0,8
<i>R</i>	32	2,9	-1,3	<i>R</i>	32	2,2	-1,2

R^5), различающиеся конформационным состоянием остатка Pro^3 . Замена конформации R на B у концевой остатка Pro^5 , как и следовало ожидать, практически не сказывается на результатах. Расчетные значения энергии всех конформаций указанных типов приведены в табл. 3. Наглядное представление о распределении конформаций по энергии дает табл. 4. Прежде всего обращает на себя внимание резкая энергетическая дифференциация форм пептида. Из 648 рассчитанных вариантов структуры (III), включающих только самые предпочтительные оптимальные формы как монопептидов, так и фрагментов (I) и (II), лишь 10 конформаций ($\sim 1,7\%$) попадают в интервал $0-2$ ккал/моль и только 57 ($\sim 9\%$) — в широкий интервал $0-5$ ккал/моль. В то же время у рассмотренного ранее трипептидного фрагмента (II) 14 конформаций из 24 возможных низкоэнергетических форм имеют энергию от 0 до 2 ккал/моль (табл. 2). Уже из общих соображений можно заключить, что значительно большее детерминирование конформационных состояний фрагмента (III) по сравнению с (II) является следствием в основном взаимодействия боковых цепей $-Trp^2-$ и $-Arg^4-$.

Рассмотрим сначала структуры пептида типа $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$. Как было показано выше, у фрагмента (II) все три положения боковой цепи триптофана по углу χ^1 практически изоэнергетичны. У фрагмента (III) состояние $-Trp^2-$ с $\chi^1 = -60^\circ$ как при $\chi^2 = 90^\circ$, так и при -90° становится малореальным (табл. 3), поскольку в этом случае не возникают стабилизирующие взаимодействия между $-Trp^2-$ и $-Arg^4-$. Взаимодействия $s_2 - s_4$ отсутствуют также при $\chi^1 = 180^\circ$, $\chi^2 = 90^\circ$ и малы при $\chi^1 = 180^\circ$, $\chi^2 = -90^\circ$ боковой цепи триптофана. В табл. 5 приведены наиболее интересные энергетические составляющие конформаций фрагмента (III), зна-

Конформационная энергия $E_{\text{общ}}^{\text{орг}}$ (ккал/моль) фрагмента $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-NH}^{\alpha} \rangle$ (III)

B_{ijkl}^4	$R^1 - B_{ij}^2 - R^2 - B_{ijkl}^4 - R^5$					$R^1 - B_{ij}^2 - R^3 - B_{ijkl}^4 - R^5$					
	B_{ij}^2										
	11	12	21	22	31	32	11	12	21	31	32
1111	12,8	15,6	16,4	9,1	18,2	16,2	—	—	13,5	15,4	15,8
1112	9,0	13,6	16,2	13,6	18,2	15,4	—	10,4	—	13,0	13,7
1121	3,7	7,5	9,1	4,9	10,3	8,2	12,6	—	—	14,0	6,4
1122	5,9	6,6	7,4	7,8	12,6	10,4	8,6	—	—	6,7	6,0
1131	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8,0	—
1132	—	—	—	—	—	12,3	—	—	16,0	7,7	—
1211	8,6	7,4	8,4	4,1	9,0	10,1	12,2	—	—	7,4	7,2
1212	8,1	5,3	9,9	6,6	11,2	11,7	14,4	11,1	—	10,9	11,7
1221	5,0	9,0	10,8	6,7	12,2	10,1	11,6	8,5	8,4	5,3	7,5
1222	4,1	5,5	11,2	7,0	12,6	10,4	12,6	9,3	9,0	5,0	7,1
1231	8,2	14,5	15,1	7,7	17,5	15,3	14,9	11,6	11,2	14,6	15,0
1232	8,6	8,9	10,7	6,2	12,1	9,9	10,7	8,0	8,9	7,0	9,4
1311	6,1	8,1	9,8	7,8	10,6	8,7	—	—	—	—	—
1312	20,8	—	9,8	—	—	—	—	—	—	—	—
1321	5,4	9,6	11,3	8,2	12,6	10,5	—	8,2	—	7,0	7,1
1322	2,4	6,2	7,9	5,3	9,1	9,2	1,0	3,2	—	0,7	0,5
1331	14,1	13,4	11,5	15,7	—	—	13,8	14,7	11,1	14,7	15,7
1332	5,4	1,9	11,7	4,7	13,7	13,6	—	13,1	13,0	7,3	7,8
2111	5,6	5,3	10,9	5,2	12,3	10,0	12,3	11,7	10,0	3,8	10,3
2112	1,9	1,6	9,6	7,6	12,4	8,8	13,9	11,9	14,2	10,1	12,3
2121	4,6	6,6	11,0	6,4	12,3	10,0	11,1	8,4	9,3	9,3	10,3
2122	5,8	6,9	11,5	6,6	12,8	10,5	11,9	9,3	10,2	5,2	10,2
2131	—	14,4	12,1	11,8	12,0	9,0	—	10,4	12,6	12,4	13,3
2132	6,9	11,0	9,8	7,5	12,2	10,5	11,0	8,0	10,5	9,7	11,2
2211	2,6	4,8	9,0	3,7	10,3	8,3	10,8	6,1	7,0	7,6	8,6
2212	3,4	4,6	11,5	6,3	13,0	10,8	12,7	8,5	10,4	10,0	11,1
2221	4,7	7,8	10,8	5,3	12,3	10,0	12,6	8,2	9,4	8,0	10,2
2222	3,1	6,2	9,5	5,0	11,0	8,9	8,9	6,4	8,2	6,9	9,1
2231	3,9	8,2	12,0	5,3	13,5	11,3	13,2	9,4	11,4	10,7	11,7
2232	4,6	8,2	10,7	3,9	12,1	9,8	12,5	7,4	11,6	7,9	10,0
2311	8,2	7,4	10,0	8,0	12,2	11,5	7,6	9,9	6,1	5,4	7,9
2312	9,7	—	—	—	13,6	15,7	13,2	10,7	—	—	—
2321	4,3	5,2	10,2	5,3	11,5	9,2	12,1	6,9	10,7	6,1	8,4
2322	3,1	4,9	9,6	4,3	9,5	10,5	10,4	—	—	4,1	8,0
2331	4,4	11,4	13,0	12,7	14,4	12,2	13,8	9,8	10,2	9,5	11,9
2332	4,2	5,5	10,2	2,9	11,8	8,5	8,0	—	7,1	5,7	9,9
3111	4,0	4,7	8,7	6,8	11,9	9,8	11,8	8,4	—	6,2	7,5
3112	13,4	7,9	—	—	11,3	16,9	—	—	—	11,9	13,8
3121	4,7	6,0	8,4	6,0	9,2	7,7	11,6	8,1	—	8,2	10,4
3122	6,5	5,7	10,6	9,0	11,3	11,2	12,6	—	—	8,5	9,7
3131	8,6	8,1	10,8	5,5	13,5	12,3	—	—	—	—	—
3132	3,9	—	—	—	12,1	9,4	12,6	—	—	8,9	—
3211	5,3	7,5	11,0	5,6	12,4	10,2	13,6	9,2	10,4	4,9	10,8
3212	6,6	7,8	12,2	7,2	13,7	11,4	13,7	9,8	10,1	6,1	12,0
3221	2,8	1,6	8,0	3,0	9,3	7,8	13,8	9,2	9,8	4,5	9,0
3222	4,8	6,5	9,1	9,1	10,0	9,9	14,1	9,9	11,2	5,6	7,9
3231	6,5	6,3	11,9	7,2	13,9	11,7	13,9	11,0	13,5	11,7	12,1
3232	3,1	0,3	6,4	2,5	8,3	7,6	13,0	7,2	—	7,6	6,6
3311	—	—	9,3	—	9,2	7,9	10,3	4,6	7,7	8,0	8,5
3312	—	12,2	14,5	9,5	15,2	15,1	14,3	10,1	—	12,4	13,1
3321	0,4	1,6	6,3	7,1	9,6	7,4	13,7	7,8	8,1	4,7	9,7
3322	—	—	7,5	3,7	9,0	—	11,3	5,9	10,9	2,5	7,8
3331	8,0	8,2	11,8	8,3	15,1	12,7	11,4	10,6	—	14,7	8,0
3332	3,8	3,6	9,5	7,6	10,4	8,2	10,0	7,9	6,5	7,5	9,1

Примечания. 1. Прочерк означает, что энергия конформации превышает 20 ккал/моль. 2. Все конформации типа $R^1 - B_{ij}^2 - R^3 - B_{ijkl}^4 - R^5$ с B_{22}^2 имеют энергию более 20 ккал/моль и в таблицу не включены.

чения $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$ которых попадают в интервал 0—5 ккал/моль. Из этой таблицы видно, что только в случае $\chi^1 = 60^\circ$ ($\chi^2 = 90$ и -90°) имеет место максимальное стабилизирующее взаимодействие между боковыми цепями -Trp^2 - и -Arg^4 -; у лучших конформаций пентапептида при форме $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$ основной цепи значения $E_{s_2-s_4}$ составляют около -7 ккал/моль.

Не менее ярко дифференциация энергии зависит от состояния боковой цепи -Arg^4 -. Конформационная стабильность этого остатка определяется прежде всего его взаимодействиями с боковой цепью -Trp^2 - ($E_{s_2-s_4}$) и с участком основной цепи b_3 ($E_{b_3-s_4}$), общий эффект этих взаимодействий в конечном счете и определяет предпочтительность конформаций всего пентапептида с формой основной цепи $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$. В самых выгодных вариантах ($R^1 - B_{11}^{12} - B^3 - B_{321}^4 - R^5$ и $R^1 - B_2^{12} - B^3 - B_{322}^4 - R^5$) суммарная энергия взаимодействий $s_2 - s_4$ и $b_3 - s_4$ достигает -11 ккал/моль.

При другой форме пентапептида ($R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - R^5$) основная цепь не растянута, как в случае $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$, а образует изгиб, при котором пептидные группы между остатками Trp^2 - Pro^3 и Arg^4 - Pro^5 обращены друг к другу (рис. 3). Дифференциация положений боковой цепи -Trp^2 - по-прежнему существенна, но преимущество получают другие конформации. Так, если при форме основной цепи $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$ положения -Trp^2 - с $\chi^1 = -60^\circ$ были нереальными, то теперь из-за стабилизирующего взаимодействия с остатком Arg^4 они становятся самыми предпочтительными. Наиболее эффективны взаимодействия $s_2 - s_4$ ($E_{s_2-s_4} = -6 \div -7$ ккал/моль) в структурах $R^1 - B_{32}^2 - R^3 - B_{1322}^4 - R^5$ и $R^1 - B_{31}^2 - R^3 - B_{1322}^4 - R^5$ (табл. 5). Максимальную величину $E_{s_2-s_4} = -8$ ккал/моль имеет свернутая форма пентапептида при состоянии аргинина B_{1222}^4 . Однако в этом случае боковая цепь -Arg^4 - не образует значительных стабилизирующих взаимодействий с другими остатками и, кроме того, такое состояние не выгодно в отношении взаимодействий атомов в пределах самого остатка. Эффективные взаимодействия боковой цепи -Arg^4 - с остальной частью пентапептида (III) при значениях χ^1 -Trp^2 -, равных 180 и 60° , за очень редким исключением

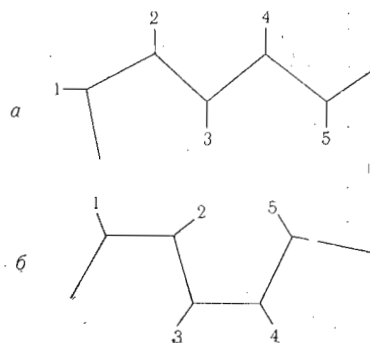


Рис. 3. Схема форм основной цепи фрагмента $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-NHCO} \rangle$: а — $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$, б — $R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - R^5$

Таблица 4

Распределение конформаций фрагмента $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-NHCO} \rangle$ в интервалах энергии $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$

Интервал энергии $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$, ккал/моль	Число конформаций в интервале $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$		Интервал энергии $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$, ккал/моль	Число конформаций в интервале $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$	
	$R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$	$R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - R^5$		$R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5$	$R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - R^5$
0—1	2	2	8—10	66	50
1—2	5	1	10—12	54	36
2—3	6	1	12—14	40	36
3—4	13	2	14—16	14	12
4—5	19	6	16—18	2	3
5—6	19	6	18—8	38	110
6—8	46	39			

Конформационная энергия $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$ фрагмента $C^{\alpha}CO\text{-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$ (IV)

χ_{ij}^7	Форма основной цепи фрагмента (IV)					
	$B_{ij}^7 - B^8 - B^9$	$R_{ij}^7 - B^8 - B^9$	$B_{ij}^7 - R^8 - R^9$	$R_{ij}^7 - R^8 - R^9$	$L_{ij}^7 - B^8 - B^9$	$L_{ij}^7 - R^8 - B^9$
11	2,4	—	9,3	—	12,7	17,0
12	0,6	—	2,8	—	6,0	10,6
13	6,7	—	10,0	—	10,2	14,8
21	2,7	—	6,8	—	9,6	12,3
22	2,2	—	6,3	—	9,9	13,5
23	6,2	—	—	—	18,6	—
31	1,1	7,1	4,5	11,4	3,8	8,2
32	0,4	7,7	3,5	12,6	2,4	6,9
33	0	7,4	3,2	12,0	2,1	6,1

Примечание. Прочерк означает, что энергия конформации превышает 20 ккал/моль.

(табл. 5), отсутствуют. При углах боковой цепи триптофана $\chi^1, \chi^2 = 180, -90^\circ$ индолное кольцо наталкивается на пептидную цепь между -Arg^4 - и -Pro^5 -.

В последующем расчете молекулы БПП₉ приняты во внимание все конформации, представленные в табл. 5 (0—5 ккал/моль).

Фрагмент $C^{\alpha}CO\text{-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$ (IV). Исследование конформаций (IV) (рис. 2) до расчета фрагмента (V), стоящего в молекуле БПП₉ за только что рассмотренным пентапептидом (III), целесообразно по той причине, что конформационная свобода -Ile^7 - в большей степени ограничивается последующим остатком Pro^8 , чем предшествующим -Gln^6 -. Энергия возможных структур (IV) дана в табл. 6. В тех случаях, когда остатки Ile^7 и Pro^8 имеют состояние R, энергия фрагмента (IV) существенно выше. Самой выгодной формой основной цепи фрагмента является $B^7 - B^8 - B^9$; что же касается положения боковой цепи -Ile^7 -, то преимущественными для него оказываются следующие значения углов χ^1, χ^2 : $-60, -60^\circ$; $-60, 180$ и $60, 180^\circ$; наборы $60, -60$ и $180, -60^\circ$ отвечают высокоэнергетическим конформациям. Можно заметить, что структура фрагмента (IV) определяется двумя факторами: взаимодействиями атомов в пределах каждого остатка и неблагоприятными контактами между соседними остатками. Стабилизирующие взаимодействия здесь не играют существенной роли и малы даже между соседними остатками. Так, энергия взаимодействия боковых цепей -Ile^7 - с -Pro^8 - составляет $-0,7$ ккал/моль, а -Pro^8 - с -Pro^9 - равна $-0,4$ ккал/моль; во всех низкоэнергетических конформациях эти величины приблизительно одинаковы. В расчете фрагмента (V) остаток Ile^7 принимался в форме B основной цепи при всех возможных положениях боковой цепи, за исключением $\chi^1, \chi^2 = 60, -60$ и $180, -60^\circ$ (13 и 23; табл. 6).

Фрагмент $C^{\alpha}CO\text{-Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Ile}^7\text{-NHCO}$ (V). При расчете этого фрагмента -Ile^7 - фиксировался, как мы только что отметили, в форме B, а дипептидный участок $\text{-Pro}^5\text{-Gln}^6$ - — в форме $R^5 - R^6, R^5 - B^6, B^5 - B^6$ и $B^5 - R^6$. Энергии рассмотренных конформаций (V) приведены в табл. 7. Для форм $R^5 - B^6 - B^7, B^5 - B^6 - B^7$ и $B^5 - R^6 - B^7$ даны результаты только по четырем состояниям боковой цепи -Ile^7 -; в остальных случаях энергия превышает 10 ккал/моль. При всех рассмотренных формах основной цепи низкоэнергетические конформации фрагмента (V) имеют остаток Ile^7 с $\chi^1 = -60^\circ$ и с таким же соотношением энергии конформеров по углу χ^2 , как и у свободного монопептида [7]. Распределение энергии конформационных состояний -Gln^6 - определяется, во-первых, близкими взаимодействиями [13] и, во-вторых, взаимодействиями боковых цепей s_6 с s_5, s_7 и с пептидным остовом (рис. 2). Как и в случае свободного монопеп-

Конформационная энергия $E_{\text{Общ}}^{\text{Очн}}$ фрагмента $\text{C}^{\alpha}\text{CO-Pr}^{\delta}\text{-Gln}^{\delta}\text{-Ile}^{\gamma}\text{-NH}^{\alpha}$

X_{ijk}^6	$R^6 - R_{ijk}^6 - B_{ij}^7$					$R^6 - R_{ijk}^6 - B_{ij}^7$					$B^6 - B_{ijk}^6 - B_{ij}^7$					$R^5 - R_{ijk}^6 - B_{ij}^7$				
	11	12	21	22	31	32	33	12	31	32	33	12	31	32	33	12	31	32	33	
111	5,2	8,3	9,5	10,4	8,4	6,6	5,9	11,6	10	9,4	9,8	5,9	5,0	4,9	6,1	5,4	4,7	4,7	3,5	
112	10,1	5,3	11,0	4,3	5,3	7,7	2,5	10,5	14,1	8,7	6,5	6,6	6,5	6,1	8,2	5,6	5,0	4,3	3,2	
121	7,0	4,8	10,8	6,9	8,9	3,1	3,7	8,2	10,0	6,0	6,4	7,5	8,0	6,3	6,0	6,9	5,9	5,4	4,7	
122	7,5	4,6	10,0	7,2	8,6	3,8	4,1	7,6	9,4	6,5	6,5	7,3	8,4	6,6	6,3	7,0	6,1	5,6	4,8	
131	4,4	3,7	6,7	6,0	7,2	2,3	2,3	7,3	9,0	5,9	5,7	6,6	5,6	5,4	4,0	4,1	3,1	2,8	1,7	
132	12,8	4,5	—	8,6	8,9	—	—	8	10,7	7,5	7,3	7,2	6,0	6,0	4,7	5,5	4,0	2,7	2,6	
211	6,4	3,4	10,1	4,8	2,7	1,4	0,1	5,4	5,3	4,2	2,9	5,1	3,9	4,2	3,4	3,9	2,5	2,5	1,5	
212	7,9	4,6	11,4	6,4	4,3	2,8	1,7	6,7	6,7	5,4	4,3	5,1	4,0	4,2	3,4	4,2	4,5	3,1	1,7	
221	8,9	4,7	11,9	6,6	4,1	2,4	1,7	6,7	6,5	5,2	4,2	7,4	5,8	6,3	5,3	6,1	4,5	4,2	3,6	
222	8,4	4,6	11,8	6,3	4,1	2,2	1,3	6,3	6,6	4,9	4,1	7,4	5,9	6,2	5,3	6,1	4,3	4,1	3,5	
231	8,9	6,1	9,9	8,1	4,3	3,0	3,4	8,7	8,1	5,2	5,8	5,3	3,9	3,7	2,8	3,7	3,2	2,5	1,6	
232	8,6	5,6	9,2	8,0	4,1	2,9	2,6	8,3	8,1	5,3	5,3	4,7	3,3	2,2	4,3	2,8	6,5	3,1	1,8	
311	4,6	2,1	8,9	4,1	1,1	0,8	0	5,3	5,0	4,4	3,8	5,1	5,7	3,4	3,5	3,3	3,0	2,7	1,3	
312	6,4	3,6	9,4	5,4	2,8	2,1	1,4	6,7	6,2	5,5	4,9	4,8	7,0	4,7	4,9	3,8	2,9	2,9	2,4	
321	8,7	4,8	11,6	6,7	4,3	3,2	2,6	5,7	6,3	5,5	4,9	5,7	5,2	4,7	4,0	4,2	4,2	3,8	3,1	
322	8,8	4,8	11,7	6,7	4,3	3,2	2,5	6,9	6,4	5,6	5,0	5,8	5,3	4,8	4,0	4,3	4,3	3,9	3,2	
331	6,7	3,7	8,0	5,7	3,6	2,3	1,6	6,8	5,4	4,5	3,9	6,1	4,1	5,0	4,2	3,2	3,2	2,9	2,0	
332	6,1	3,1	8,9	5,1	2,8	1,8	1,0	4,2	3,7	3,1	2,3	4,8	3,4	3,4	2,5	4,0	2,4	2,0	1,3	

Таблица 8

Энергетические параметры конформаций фрагмента $C^{\alpha}CO_2-Pro^{\delta}Gln^{\epsilon}-Ile^{\zeta}-NH^{\eta}$ с формами основной цепи $B^5 - B^6 - B^7$ и $B^5 - B^6 - B^7$

X_{ijk}^6	$R^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33}$						$B^5 - B^6_{ijk} - B^7_{33}$					
	$E_{b_6}^{отн}$	$E_{b_6-b_7}$	$E_{b_5-b_8}$	$E_{b_5-s_8}$	$E_{s_5-s_6}$	$E_{s_5-s_7}$	$E_{отн}$ общ	$E_{b_5-s_6}$	$E_{b_5-s_7}$	$E_{b_5-s_8}$	$E_{s_5-s_6}$	$E_{отн}$ общ
111	4,6	-1,3	-1,5	-1,3	-1,1	-2,2	5,9	-1,1	-0,5	-2,0	-0,1	6,1
112	2,4	-1,1	-1,4	-1,1	-1,4	-3,0	2,5	-1,4	-0,8	-0,3	-0,3	8,2
121	3,0	-1,2	-1,6	-0,5	-0,2	-2,2	3,7	-0,2	-0,6	-1,0	0	6,0
122	3,0	-1,0	-1,4	-0,5	-0,2	-1,8	4,1	-0,8	-0,7	-0,6	0	6,2
131	2,7	-1,0	-1,3	-1,4	-2,4	-1,1	2,3	-2,2	-0,6	-0,4	-0,1	4,0
132	--	-0,8	-1,4	-1,9	2,8	-0,4	--	-0,8	-1,5	-0,5	-0,2	4,7
211	0	-1,2	-1,6	-0,3	-0,2	-2,2	0,1	-0,4	-0,9	-2,0	-0,3	3,4
212	1,3	-1,1	-1,6	-0,3	-0,2	-1,9	1,7	-0,5	-0,9	-1,1	-0,2	3,4
221	1,6	-1,1	-1,6	-0,3	-0,2	-2,4	1,7	-0,5	-1,0	-0,8	-0,3	5,3
222	1,7	-1,2	-1,5	-0,3	-0,2	-2,7	1,3	-0,4	-1,0	-0,8	-0,3	5,3
231	1,2	-1,1	-1,3	-0,3	-0,3	-3,2	3,4	-0,4	-1,4	-1,8	-1,0	2,8
232	0,7	-1,3	-1,4	-0,3	-0,2	-1,2	2,6	-0,3	-1,4	-0,4	-1,1	4,3
311	0,9	-1,4	-1,5	-1,2	-2,4	-0,9	0	-2,0	-1,5	-0,2	-0,8	3,5
312	1,1	-1,0	-1,6	-0,8	-1,9	-0,9	1,4	-2,4	-1,1	-0,2	-0,5	4,9
321	1,5	-1,2	-1,6	-0,4	-0,6	-0,9	2,6	-1,0	-1,5	-0,2	-1,1	4,0
322	1,5	-1,2	-1,6	-0,4	-0,6	-0,9	2,5	-0,9	-1,5	-0,2	-1,1	4,1
331	1,2	-1,0	-1,5	-0,6	-1,0	-0,8	1,6	-1,6	-0,9	-0,2	-0,3	4,2
332	0,4	-1,1	-1,6	-0,6	-1,0	-0,8	1,0	-3,0	-0,9	-0,2	-0,3	2,5

тида -Gln-, для формы R значение угла $\chi^1 = 60^\circ$ менее реально, чем -60 и 180° ; для формы B столь резкой дифференциации по χ^1 нет. Свернутая конформация фрагмента (V) по топологии основной цепи ($R^5 - R^6 - B^7$) является самой предпочтительной; ее энергия на ~ 3 ккал/моль ниже энергии лучшей развернутой конформации $B^5 - B^6 - B^7$ (табл. 7). Как следует из табл. 8, где представлены энергетические составляющие взаимодействий $b_5 - b_7$, $b_5 - b_8$, $b_5 - s_6$, $s_5 - s_6$ и $s_6 - s_7$ (рис. 2), для свернутой формы характерны взаимодействия между боковыми цепями. В сумме они максимальны, когда боковая цепь $^2\text{Gln}^6$ принимает значения $\chi^1 = -60^\circ$ и $\chi^2, \chi^3 = 60^\circ$; отвечающая этому состоянию конформация фрагмента (V) глобальна. Предпочтительность свернутой формы (V) перед развернутой обусловлена главным образом дисперсионными взаимодействиями между участками пептидной цепи $b_5 - b_7$ и $b_5 - b_8$ [3].

В анализе структуры всей молекулы БПП₉ приняты во внимание конформации фрагмента (V) с основной цепью $R^5 - R^6 - B^7$ (при состояниях боковой цепи -Gln⁶- (χ^1, χ^2, χ^3) 211, 222, 311, 312 и 332 и -Phe⁷- (χ^1, χ^2) 33) и $R^5 - B^6 - B^7$ (для -Gln⁶- те же наборы χ^1, χ^2, χ^3 и 131, для -Phe⁷- 33). Эти конформации наиболее предпочтительны для свободного трипептида (V). Кроме того, они обеспечивают сближенность концевых участков молекулы БПП₉ и, следовательно, появление дополнительной стабилизации за счет средних и дальних взаимодействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chushman D. W., Pluščec J., Williams N. J., Weaver E. R., Sabo E. F., Kosy O., Cheung H. S. and Ondetti M. A. (1973) *Experientia*, **29**, 1032—1035.
2. Попов Е. М., Ахмедов Н. А., Липкинд Г. М. (1975) *Биоорганич. химия*, **1**, 1268—1279.
3. Липкинд Г. М., Ахмедов Н. А., Попов Е. М. (1975) *Биоорганич. химия*, **1**, 1280—1290.
4. Мельников П. Н., Ахмедов Н. А., Липкинд Г. М., Попов Е. М. (1976) *Биоорганич. химия*, **2**, 28—42.
5. Ахмедов Н. А., Липкинд Г. М., Мельников П. Н., Попов Е. М. (1976) *Биоорганич. химия*, **2**, 746—761.
6. Scheraga H. A. (1968) *Adv. Phys. Org. Chem.*, **6**, 103—184.
7. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Дашевский В. Г. (1968) *Молекулярн. биология*, **2**, 622—630.
8. Schimmel P. R., Flory P. J. (1968) *J. Mol. Biol.*, **34**, 105—120.
9. Belle J., Montagut M., Bellocq A. M. (1972) *C. R. Acad. Sci. Paris, Serie C*, **275**, 472—476.
10. Burgess A. W., Momany F. A., Scheraga H. A. (1973) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **70**, 1456—1460.
11. Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Попов Е. М. (1970) *Ж. структурн. химии*, **11**, 121—126.
12. Жоров Б. С., Попов Е. М., Говыркин В. А. (1975) *Молекулярн. биология*, **9**, 710—715.
13. Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Будковская В. Н., Попов Е. М. (1974) *Молекулярн. биология*, **8**, 902—912.
14. Reutova T. O., Filatova M. P., Raissman Z., Pashkov B. S., Efremov A. S., Kogan G. A., Chekhlyayeva N. M., Grygoryan G. L., Bystrov V. F., Ivanov B. T. (1975) *Soviet-French symposium on the physical chemistry of protein and peptides. Abstracts*, p. 60.
15. Pauling L. (1960) *The Nature of the Chemical Bond*. 3rd ed., Cornell Univ., Press, N. Y.
16. Попов Е. М., Дашевский В. Г., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф. (1968) *Молекулярн. биология*, **2**, 612—621.
17. Ponnuswamy P. K., McGuire R. F., Scheraga H. A. (1973) *Int. J. Pept. Prot. Res.*, **5**, 73—80.
18. Molin-Case J. A., Fleischer E., Urry D. W. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 4728—4730.
19. Warschel A., Levitt M., Lifson S. (1970) *J. Mol. Spectr.*, **33**, 84—99.
20. Scott R. A., Scheraga H. A. (1966) *J. Chem. Phys.*, **45**, 2091—2101.
21. Poland D., Scheraga H. A. (1967) *Biochemistry*, **6**, 3791—3800.
22. Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Попов Е. М. (1970) *Ж. структурн. химии*, **11**, 121—126.
23. Попов Е. М. (1975) *Молекулярн. биология*, **9**, 578—593.

Поступила в редакцию
7.IX.1976

THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF BRADYKININ-POTENTIATING PEPTIDE \langle Glu-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro. I.

ARKHIPOVA S. F., SEVASTIJANOVA N. N., LIPKIND G. M.,
POPOV E. M.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

With the purpose of studying the spatial structure of the bradykinin-potentiating peptide, a conformational analysis has been performed for the following fragments: $C^\alpha\text{CO-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-NHC}^\alpha$ (I), \langle Glu¹-Trp²-Pro³-NHC^z (II), \langle Glu¹-Trp²-Pro³-Arg⁴-Pro⁵-NHC^z (III), $C^\alpha\text{CO-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$ (IV), $C^\alpha\text{CO-Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Ile}^7\text{-NHC}^\alpha$ (V). For each fragment all possible conformational states were analyzed, the most preferred ones being revealed. The role of near-neighbour interactions in energetical differentiation of states was assessed.
