



УДК 547.962:541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ
БРАДИКИНИНПОТЕНЦИРУЮЩИХ ПЕПТИДОВ

VIII. СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ

*Попов Е. М., Севастьянова Н. Н.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Сопоставлены пространственные структуры и конформационные возможности ряда брадикининпотенцирующих пентапептидов с имеющимися экспериментальными данными об их биологической активности. Обсуждено влияние аминокислотных замен на конформационное состояние природного соединения и выявлены его низкоэнергетические формы, актуальные для проявления ингибирующего и потенцирующего эффектов. Сделан вывод, что полифункциональность исследованных пептидов обусловлена наличием соответствующего числа низкоэнергетических конформаций и возможностью смещения равновесия между ними под влиянием внешних условий.

Конформационные свойства гормонов — один из наиболее существенных факторов, определяющих их специфическое взаимодействие с рецепторами и биологическую активность. Учитывая это обстоятельство, сопоставим полученные нами результаты исследования пространственного строения брадикининпотенцирующих пентапептидов (БПП) [1–7] с имеющимися опытными данными об активности природного соединения и его синтетических аналогов [8–11]. Следует, однако, иметь в виду, что в настоящее время сопоставление теории и эксперимента может привести лишь к ориентировочным оценкам. Получить более детальную и обоснованную корреляцию между структурой и функцией довольно трудно. Во-первых, выполненная модификация природных БПП носит в значительной степени случайный характер. Выбор объектов синтеза искусственных аналогов БПП и определение их активности проведены вне связи с пространственной организацией молекул, которая во всех случаях оставалась неизвестной. Во-вторых, имеющийся на сегодняшний день экспериментальный материал по брадикининпотенцирующим пептидам неполон в отношении набора изученных соединений и данных о физиологических свойствах каждого из них (ингибирующей и потенцирующей способностях, устойчивости к действию аминоклотаза и др.). В-третьих, сообщаемые результаты измерений активности в ряде случаев противоречивы. Например, согласно работе [9] ингибирующая активность Voc^1 -БПП, по отношению к ангиотензинпревращающему ферменту (I_{50}) равна 5,2 мкг/мл, а согласно работе [11] — 0,9 мкг/мл.

По характеру модификации природных молекул исследованные аналоги БПП могут быть разделены на соединения с замещенными функциональными группами боковых цепей, с измененным аминокислотным составом и с укороченной или удлиненной аминокислотной последователь-

Активность ингибирования ангиотензинпревращающего фермента природным и синтетическими брадикининпотенцирующими пептидами

Соединение	Аминокислотная последовательность					I_{50} , мкг/мл [8, 9]
1 *	<Glu ¹	Lys ²	Trp ³	Ala ⁴	Pro ⁵	0,05
2	<Glu	Lys	Phe	Ala	Pro	0,05
3	Cpc	Lys	Trp	Ala	Pro	0,06
4	<Glu	Lys	Trp	Lac	Pro	0,06
5	<Glu	Lys	Phe	Ala	Ala	0,06
6	<Glu	Lys	Trp	Gly	Pro	0,1
7	<Glu	Nle	Trp	Ala	Pro	0,2
8 *	<Glu	Gln	Trp	Ala	Pro	0,4
9 *	<Glu	Lys	Pro	Ala	Pro	1,1
10	-	Lys	Trp	Ala	Pro	4,2
11	<Glu	Lys	Ile	Ala	Pro	1,6
12	<Glu	Lys	Ser	Ala	Pro	2,4
13	<Glu	Glu	Trp	Ala	Pro	3,0
14 *	<Glu	Lys	Trp	Pro	Pro	3,3
15	Boc	Lys	Phe	Ala	Pro	5,2
16	<Glu	Thr	Trp	Ala	Pro	5,5
17 *	<Glu	Ala	Pro	Ala	Pro	31,0
18	<Glu	Lys	D-Trp	Ala	Pro	72,0
19	<Glu	Lys	Phe	Ala	Pup	>200

Примечание. Cpc — остаток циклопентилкарбонила, Boc — бутилоксикарбонила, Lac — молочной кислоты, Pup — пирролидонила, Nle — норлейцина. Конформационные возможности молекул, отмеченных звездочками (1, 8, 9, 14, 17), рассмотрены в работах [1, 5—7].

ностью [12]. Однако такую классификацию синтетических аналогов нельзя положить в основу анализа их поведения. Зависимость между химическим строением и пространственной структурой молекулы, с одной стороны, и эффективностью ее биологического действия — с другой, весьма сложна и неоднозначна. Она не поддается выявлению путем «пасьянсного» сопоставления последовательностей, различным образом замещенных, с известными величинами активности. Даже замена в пептиде только одного аминокислотного остатка может одновременно привести и к изменению природы функционально важной группы, и к частичной или полной перестройке всей трехмерной структуры молекулы, и к изменению устойчивости по отношению к аминопептидазам, т. е. многими различными способами сказаться на измеряемых характеристиках соединений. Для оценки влияния электронного и стерического аспектов молекулярного строения на эффективность специфического взаимодействия необходимо прежде всего знать пространственную организацию и конформационные свойства БПП и их аналогов. Ниже предпринята попытка использовать полученные результаты теоретического конформационного анализа ряда молекул БПП [1—7] для интерпретации известных опытных фактов, касающихся их ингибирующей и потенцирующей активности.

Имеющиеся в литературе экспериментальные данные об ингибирующей активности БПП₅ и его синтетических аналогов представлены в табл. 1. Молекула природного БПП₅ является наиболее активным ингибитором ангиотензинпревращающего фермента. Расчет трехмерной структуры БПП₅ показал, что N-концевой остаток <Glu¹ обладает во всех низкоэнергетических конформациях значительной подвижностью и не вносит существенного вклада в их формирование и стабильность. Энергия взаимодействий <Glu¹ с остальной частью молекулы в глобальной структуре $R^1-B_{1221}^{2,3}-B_{21}^{3,3}-L^4-R^5$ около $-0,5$ ккал/моль, а в лучшей конформации другого типа,

$R-R_{3223}-R_{11}-B-R$ ($U_{\text{общ}}$ 2,0 ккал/моль), $\sim -2,0$ ккал/моль (табл. 8 в [1]). Поэтому можно предположить, что этот остаток играет определенную роль на стадии образования продуктивного комплекса гормона с рецептором, устанавливая эффективные невалентные взаимодействия с активным центром последнего. Он может также повышать устойчивость БПП₅ к действию аминопептидаз. Вполне вероятно, остаток $\langle \text{Glu}^1 \rangle$, находящийся на N-конце всех природных БПП, реализует обе отмеченные функции. И в том и другом случае следует ожидать, что модификация последовательности БПП₅ в первом положении заметно не повлияет на конформационное состояние всей молекулы, но тем не менее может изменить ее взаимоотношение с рецептором. Приведенные в табл. 1 экспериментальные данные согласуются с высказанным предположением. Так, замена $\langle \text{Glu}^1 \rangle$ на близкий по строению остаток циклопентилкарбонила (соединение 3) практически не сказывается на ингибирующей активности. В то же время отсутствие $\langle \text{Glu}^1 \rangle$ (соединение 10) или его негомологичная замена на бутилоксикарбонильную группу (соединение 15) снижает активность приблизительно на два порядка.

Значение остатка Lys^2 в формировании различного типа низкоэнергетических конформаций БПП₅ неодинаково. В структурных вариантах с формой пептидного остова $R-B-B-L-R$ его боковая цепь является основным стабилизирующим элементом. При этом важную роль в пространственной организации молекулы играет как алифатическая часть остатка Lys^2 , так и заряженная ϵ -аминогруппа. Суммарный эффект взаимодействий боковой цепи лизина в глобальной структуре $R-B_{1221}-B_{21}-L-R$ составляет $\sim -15,0$ ккал/моль, из которых $\sim -7,0$ ккал/моль приходится на ионное взаимодействие N^+H_3 -группы с COO^- -группой остатка Pro^5 . В низкоэнергетических конформациях БПП₅ другого типа с формой $R-R-R-B-R$ боковая цепь остатка Lys^2 обращена в сторону растворителя и обладает большой подвижностью. В самом предпочтительном варианте $R-R_{3223}-R_{11}-B-R$ ее стабилизирующий вклад составляет около $-5,0$ ккал/моль, причем на долю электростатического взаимодействия между группами N^+H_3 и COO^- приходится $\sim -2,5$ ккал/моль. Поэтому при оценке влияния модификации остатка во втором положении на ингибирующую способность пентапептида следует остановиться на рассмотрении конформаций двух альтернативных форм основной цепи: $R-B-B-L-R$ и $R-R-R-B-R$. Допустим, что для ингибирования ангиотензинпревращающего фермента более вероятна форма $R-R-R-B-R$, в которой боковая цепь второго остатка ориентирована от молекулы и, следовательно, более предрасположена к межмолекулярным взаимодействиям. Экспериментально наблюдаемое снижение активности пентапептидов при замене остатка Lys^2 у природного БПП₅ на остатки Nle , Glu , Gln , Thr и Ala (соединения 7, 8, 13, 16, 17; табл. 1) в этом случае можно объяснить нарушением оптимальных условий взаимодействия боковой цепи второго остатка с активным центром рецептора, а не конформационной перестройкой молекулы. Инактивация на два порядка, которая происходит при замещении Lys^2 на Glu , свидетельствует о большом значении для образования комплекса знака заряда на конце боковой цепи. Однако более существенным фактором, по-видимому, является размер гидрофобной части цепи. На это указывает как сравнительно небольшое снижение эффективности ингибирования у аналогов $[\text{Nle}^2]$ - и $[\text{Gln}^2]$ БПП₅, так и почти полная потеря активности у $[\text{Thr}^2]$ БПП₅. Если для ингибирования более вероятна форма $R-B-B-L-R$, в которой боковая цепь остатка Lys^2 осуществляет эффективные взаимодействия внутри молекулы, отмеченные замены должны приводить к существенной дестабилизации конформаций этого типа из-за ослабления дисперсионных межостаточных взаимодействий (на 3–6,0 ккал/моль), разрушения ионной пары ($\sim 4,0$ ккал/моль), а у $[\text{Glu}^2]$ БПП₅ (соединение 13) из-за появления сильного электростатического отталкивания между карбоксильными группами.

Конформационный анализ молекулы $[\text{Gln}^2]\text{БПП}_5$ показал, что ее состояния $R-B-B-L-R$, а также $R-B-R-B-R$ шейпа $feje$ на 4,1 и 4,2 ккал/моль менее предпочтительны состояния $R-R-R-B-R$ шейпа $fffe$ (табл. 3, 4 в [5]). Таким образом, замещение остатка Lys^2 на остатки Nle , Glu , Gln , Thr и Ala делает крайне невыгодной реализацию структурных вариантов типа $feje$, т. е. смещает конформационное равновесие $R-B-B-L-R$ ($R-B-R-B-R$) \rightleftharpoons $R-R-R-B-R$ резко вправо. При важности для ингибирования формы $R-B-B-L-R$ синтетические аналоги БПП_5 (7) и (8), у которых эта форма не реализуется, были бы полностью неактивными. Поскольку это не подтверждается опытными данными, следует предположить, что из двух возможных для свободной молекулы природного БПП_5 форм основной цепи наиболее вероятной для ингибирования является форма $R-R-R-B-R$.

Остановимся на модификации последовательности пентапептида в третьем положении, где у природного соединения находится остаток триптофана. Согласно расчетным данным (табл. 7 в [1]), боковая цепь Trp^3 во всех низкоэнергетических конформациях формы $R-R-R-B-R$ имеет одну ориентацию ($\chi^1, \chi^2 \sim 60, 60^\circ$), а формы $R-B-B-L-R$ — различные положения, различающиеся как по углу χ^1 , так и χ^2 . Замена триптофана на гомологичный остаток фенилаланина практически не изменяет пространственную организацию пентапептида, и наблюдаемое совпадение активности БПП_5 и $[\text{Phe}^3]\text{БПП}_5$ (2) представляется вполне естественным. Замена остатка Trp^3 на Pro делает невыгодными конформации формы $R-R-R-B-R$, а на $D\text{-Trp}$ — конформация обеих форм. Появление в третьем положении остатков Ile и Ser вместо Trp незначительно влияет на энергетическую дифференциацию конформаций, повышая не более чем на 1,0 ккал/моль относительную стабильность вариантов типа $R-B-B-L-R$. Снижение активности в 20–50 раз при замещении остатка Trp^3 на Pro , Ile и Ser (соединения 9, 11, 12; табл. 1) и в $>10^3$ раз при замещении на $D\text{-Trp}$ (соединение 18) свидетельствует о том, что для эффективного ингибирования фермента имеет значение ряд взаимообусловленных факторов — природы боковой цепи остатка в третьем положении (соединения 11, 12), ее ориентация (соединение 18) и форма пептидного остова (пептиды 9, 18). То обстоятельство, что при близком конформационном состоянии БПП_5 и его синтетических аналогов $[\text{Ile}^3]$ - и $[\text{Ser}^3]\text{БПП}_5$ наблюдается существенное понижение активности, указывает на важную внешнюю функцию боковой цепи Trp^3 природного ингибитора.

Замена у БПП_5 остатка Ala^4 на Lac (соединение 4), т. е. переход от пептидной цепи на этом участке к сложноэфирной, в чисто конформационном плане является гомологичной. Она практически не оказывает влияния на структуру пентапептида из-за близости конформационных возможностей соответствующих свободных звеньев [13]. В результате соединения БПП_5 и $[\text{Lac}^4]\text{БПП}_5$ мало различаются между собой по ингибирующей активности. Остаток Gly в четвертом положении (соединение 6) увеличивает подвижность основной цепи обеих вероятных форм, а также делает вполне реальным появление низкоэнергетических конформаций новых форм. С появлением Gly^4 снимается «запрет» на R -состояние остатка, который у БПП_5 вызван стерическим отталкиванием групп C^1H_2 (у Pro^5) и C^6H_3 (у Ala^4). Поэтому у $[\text{Gly}^4]\text{БПП}_5$ ставится возможным образование низкоэнергетических конформаций α -спиральной формы $R-R-R-R-R$. Тем не менее поскольку при включении в цепь остатка Gly^4 наиболее вероятная продуктивная форма $R-R-R-B-R$ не дискриминируется, то трудно ожидать значительного понижения ингибирующей активности у $[\text{Gly}^4]\text{БПП}_5$. Действительно, по сравнению с природным пентапептидом он лишь в два раза менее эффективен (табл. 1). Весьма существенная инактивация наблюдается при замене остатка Ala^4 на Pro (соединение 14), что, по-видимому, вызвано повышением энергии конформаций формы $R-R-R-B-R$ из-за невыгодности R -состояния для остатка Trp^3 , стоящего перед Pro^4 . Конформации типа $R-B-B-L-R$ становятся при

такой замене вообще невозможными, так как у пролина *L*-состояние запрещено. Если форма *R-B-B-L-R* является ингибирующей, замещение остатка Ala⁴ на Pro должно было бы привести к полной потере активности, что, однако, не имеет места.

C-Концевой остаток Pro⁵ эффективно участвует в формировании структуры БПП₅. Взаимодействия его элемента основной цепи и группы COO⁻ с другими остатками молекулы в лучших конформациях *R-B-B-L-R* и *R-R-R-B-R* составляют соответственно -11,0 и -5,0 ккал/моль. Замена остатка Pro⁵ на Ala (соединение 5) не изменяет условий реализации этих взаимодействий, но может повлиять на эффективность контактов боковой цепи C-концевого остатка. Однако в обеих конформациях БПП₅ энергетический вклад этого вида взаимодействий сравнительно невелик (соответственно -1,0 и -1,7 ккал/моль). Поэтому следует ожидать близких величин активности природного ингибитора и его аналога [Ala⁵]БПП₅. Имеющиеся экспериментальные данные (табл. 1) подтверждают это предположение. Замещение остатка Pro⁵ на пирролидонильную группу (соединение 19) наиболее серьезно должно отразиться на конформациях формы *R-B-B-L-R*, энергия которых из-за потери ионной пары значительно возрастает. Большую предпочтительность приобретут структурные варианты типа *R-R-R-B-R*. Тот факт, что при сохранении продуктивной формы основной цепи соединение [Pip⁵]БПП₅ (соединение 19) оказывается неактивным, указывает на чрезвычайно большую роль, которую играет в ингибировании фермента отрицательный заряд карбоксильной группы C-концевого остатка БПП₅.

Анализ экспериментальных данных относительно способности БПП₅ и его синтетических аналогов ингибировать фермент, конвертирующий ангиотензин I в повышающий кровяное давление ангиотензин II, в свете полученных нами результатов теоретического конформационного анализа БПП приводит к следующим выводам:

1. Ингибирование ангиотензинпревращающего фермента осуществляется на стадии образования невалентного комплекса с БПП₅.

2. Актуальной для образования фермент-ингибиторного комплекса является одна из наиболее низкоэнергетических конформаций свободной молекулы БПП₅, имеющей форму основной цепи *R-R-R-B-R*.

3. Конформация формы *R-R-R-B-R* обладает максимальными возможностями для реализации внешних, межмолекулярных взаимодействий разной природы. Иными словами, пространственное строение ингибитора уже в свободном состоянии молекулы предрасположено к специфической сорбции в активном центре фермента, не требующей стерических напряжений или принудительных деформаций.

4. В невалентном фермент-ингибиторном комплексе все аминокислотные остатки БПП₅, за исключением Ala⁴, имеют возможность в конформации *R-R-R-B-R* образовывать стабилизирующие контакты с ферментом. Остаток <Glu¹ и боковые цепи остатков Lys² (гидрофобная часть) и Trp³ образуют эффективные дисперсионные взаимодействия, а ε-аминогруппа остатка Lys² и карбоксильная группа Pro⁵ — электростатические взаимодействия с противоположно заряженными группами остатков активного центра.

5. При сближении ингибитора с ферментом боковая цепь остатка Lys² проникает в гидрофобную полость активного центра, на дне которой находится несущий отрицательный заряд остаток аспарагиновой или глутаминовой кислоты. Длинная алифатическая часть боковой цепи лизина образует дисперсионные контакты со стенками полости, а N⁺H₃-группа взаимодействует на ее дне с COO⁻-группой боковой цепи остатка Asp или Glu фермента. Помимо контактов Lys² к наиболее важным, также координирующим правильную посадку ингибитора, относятся дисперсионные и полярные взаимодействия соответственно <Glu¹- и COO⁻-группы Pro⁵

Потенцирующая активность природного и синтетических
брадикининпотенцирующих пептидов

Соединение	Аминокислотная последовательность									Потенцирующая активность, % [14]
1	<Glu ¹	—	Lys ²	Trp ³	Ala ⁴	Pro ⁵	—	—	—	100
20	Pro	—	Lys	Trp	Ala	Pro	—	—	—	100
21	<Glu	Pro	Lys	Trp	Ala	Pro	—	—	—	100
22	Phe-OBu	Pro	Lys	Trp	Ala	Pro	—	—	—	17
23	—	—	Lys	Trp	Ala	Pro	—	—	—	0,5
24	<Glu	—	Lys (Ac)	Trp	Ala	Pro	—	—	—	10
25	<Glu	—	Lys	Trp	Ala	Pro-NH ₂	—	—	—	<0,5
26	<Glu	—	Lys	Trp	Ala	—	—	—	—	0,5
27	<Glu	—	Lys	Trp	Ala	Pro	Phe	Pro	Pro	0,5
28	<Glu	—	Lys	Trp	Ala	Pro	Phe	Arg	Pro	20
29	—	—	Lys	Trp	—	Pro	Arg	Pro	—	5
30	<Glu	—	Lys	Trp	—	Pro	Arg	Pro	—	5
31	<Glu	—	—	Trp	—	Pro	Arg	Pro	—	5

Примечание. Потенцирующая активность БПП₅ в концентрации 0,05 мкг/мл принята за 100%.

с остатками фермента, расположенными на поверхности активного центра. Существенный вклад вносят в энергию сорбции дисперсионные взаимодействия боковой цепи остатка Trp³.

Рассмотрим теперь результаты измерений способности БПП₅ и его синтетических аналогов потенцировать действие брадикинина на изолированные гладкомышечные препараты [14]. К сожалению, имеющихся данных о потенцирующей активности БПП (см. табл. 2) недостаточно для установления надежной связи между влияниями аминокислотных замен на биологическое действие и пространственную организацию пептидов.

Исследование потенцирующей активности БПП показало, что ингибирование ими ангиотензинпревращающего фермента, инактивирующего брадикинин, лишь частично объясняет потенцирующую способность пептидов [15—17]. Об этом можно судить по следующим фактам. Во-первых, потенцирующий эффект достигается при концентрациях БПП на 2—3 порядка ниже концентраций, необходимых для соответствующего ингибирующего эффекта [15]. Во-вторых, при близких концентрациях потенцирующее действие начинается раньше инактивирующего действия БПП на киназазы [16, 18]. В-третьих, наблюдается потенцирование таких аналогов брадикинина, которые не могли быть расщеплены киназазами [19]. Эти данные позволяют предположить, что ингибирующее и потенцирующее действие БПП протекает по разным механизмам, по крайней мере в том случае, когда потенцирование брадикинина осуществляется на изолированных гладкомышечных препаратах. Такая точка зрения нашла отражение в ряде работ [20—23], авторы которых объясняют потенцирование сенсibilизацией брадикининового рецептора вследствие увеличения сродства рецептора и гормона. Однако в условиях *in vivo* определяющее влияние на циркулирующий брадикинин, по-видимому, все же оказывает ингибирование киназазной активности крови и тканей [24—26], а сенсibilизация рецептора при этом играет вспомогательную роль. В последующем рассмотрении мы предполагаем, что для проявления ингибирующей и потенцирующей активности (в опытах *in vitro*) необходимо взаимодействие БПП с различными связывающими участками: в первом случае с активным центром ангиотензинпревращающего фермента, во втором —

с рецепторными структурами. При этом не исключена реализация каждой функции через различные конформационные состояния молекул БПП.

Как и в случае ингибирования, наибольшей потенцирующей активностью в этом ряду соединений обладает природный пентапептид. Удлинение молекулы с N-конца (соединение 21) или замена $\langle \text{Glu}^1$ на остаток со сходными конформационными свойствами (соединение 20) практически не сказывается на эффективности действия соединений. Это связано с тем, что остаток $\langle \text{Glu}^1$ не принимает активного участия в формообразовании и в стабилизации низкоэнергетических конформаций, особенно *R-B-B-L-R*. Однако наличие цикла у остатка в первом положении является необходимым условием для образования комплекса с рецептором (см. активность соединения 23). Снижение потенцирующей активности соединения (22), по-видимому, связано с изменением условий контакта N-концевой аминокислоты с соответствующими участками рецептора. Это вызвано тем, что конформационная свобода циклической части первого остатка значительно возросла по сравнению с природным соединением. Весьма существенно для функционирования наличие пролина на C-конце последовательности с отрицательно заряженной карбоксильной группой. Отсутствие (соединение 8) или амидирование этого остатка (соединение 7) резко дестабилизирует конформации формы *R-B-B-L-R*, но слабо влияет на устойчивость структур альтернативной формы *R-R-R-B-R* (табл. 8 в работе [1]). Потеря активности у соединений (7, 8) свидетельствует или о важности для потенцирования формы *R-B-B-L-R*, или о необходимости для связывания с рецептором заряженной группы на C-конце основной цепи, или о том и другом одновременно.

Ацилирование остатка Lys^2 (соединение 6), приводящее к потере внутримолекулярного ионного взаимодействия $\text{N}^+\text{H}_3\text{COO}^-$, оказывает дестабилизирующее действие на структуры формы *R-B-B-L-R*, но почти не влияет на *R-R-R-B-R* (табл. 8 в работе [1]). Снижение потенцирующей активности соединения $[\text{Lys}^2(\text{Ac})]\text{БПП}_5$ (соединение 24) в 10 раз по сравнению с природным пептидом свидетельствует о том, что для функционирования необходима либо реализация конформационного состояния *R-B-B-L-R*, либо наличие положительного заряда на боковой цепи остатка во втором положении, играющего роль при образовании пептид-рецепторного комплекса.

Соединения (9, 10) имеют дополнительные остатки на C-конце. По-видимому, остатки Phe^6 и Arg^7 (соединение 28) оказывают меньше влияния на конформационные состояния предшествующего пентапептидного фрагмента, чем Ile^6 и Pro^7 (соединение 27). Оба соединения имеют положительно заряженную группу во втором положении, однако активность аналогов (27) и (28) снижена. Следовательно, сохранение формы основной цепи БПП₅ — необходимое условие эффективного потенцирования.

Итак, из сопоставления потенцирующей активности с конформационными возможностями молекул БПП можно предположить необходимость образования формы основной цепи *R-B-B-L-R* пептида БПП₅ для осуществления этой функции. В то же время независимое рассмотрение ингибирующей активности молекул БПП показало, что в этом случае наибольшая эффективность пентапептида проявляется в конформационном состоянии *R-R-R-B-R*. Таким образом, две разные функции (потенцирование и ингибирование) осуществляются природным пентапептидом в различных формах *R-B-B-L-R* и *R-R-R-B-R*, являющихся самыми предпочтительными по энтальпии и энтропии для свободной молекулы. Очевидно, такое соотношение между структурой и функцией характерно не только для БПП, но и для физиологически активных природных олигопептидов. Возможность реализации молекул пептидов в нескольких близких по энергии, но существенно различных конформационных состояни-

ях, по-видимому, обуславливает присущую им полифункциональность при высокой эффективности, строгой специфичности и детерминации механизма каждого конкретного физиологического действия. Тем не менее одного наличия в равновесии нескольких структур недостаточно для объяснения физиологических свойств олигопептидов. Весьма существенная особенность пространственной организации природных пептидов состоит также в том, что их предпочтительные конформации стабилизированы взаимодействиями разной природы и, следовательно, различным образом реагируют на внешние условия. Это обеспечивает смещение равновесия в направлении актуальной для данного биологического акта конформации пептида под влиянием специфических межмолекулярных взаимодействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. Теоретический конформационный анализ брадикининпотенцирующего пептида \angle Glu-Lys-Trp-Ala-Pro. III.— Биоорг. химия, 1978, т. 4, № 8, с. 997—1016.
2. Архипова С. Ф., Севастьянова Н. Н., Липкин Г. М., Попов Е. М. Теоретический конформационный анализ брадикининпотенцирующего нонапептида. I.— Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 3, с. 335—346.
3. Севастьянова Н. Н., Липкин Г. М., Архипова С. Ф., Попов Е. М. Теоретический конформационный анализ брадикининпотенцирующего нонапептида. II.— Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 4, с. 473—484.
4. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. Теоретический конформационный анализ брадикининпотенцирующих пептидов. VI. Подвижность основных и боковых цепей низкоэнергетических конформаций \angle Glu-Lys-Trp-Ala-Pro и \angle Glu-Lys-Trp-Pro-Pro.— Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 2, с. 189—199.
5. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. Теоретический конформационный анализ брадикининпотенцирующих пептидов. VII. Синтетические аналоги.— Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 4, с. 518—523.
6. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. Теоретический конформационный анализ брадикининпотенцирующего пептида \angle Glu-Lys-Phe-Pro-Pro. IV.— Биоорг. химия, 1979, т. 5, № 1, с. 11—23.
7. Sevastyanova N. N., Popov E. M. Spatial structure of several bradykinin-potentiating peptides.— J. Mol. Struct., 1980, v. 65, p. 125—140.
8. Ondetti M. A., Pluščec J., Weaver E. R., Williams N. J., Sabo E. F., Kocy O. Mode of action of peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme.— In: Chemistry and biology of peptides. Proceedings of the 3-rd American peptide symposium. Boston: Ann Arbor Science, 1972, p. 525—532.
9. Chusman D. W., Pluščec J., Williams N. J., Weaver E. R., Sabo E. F., Kocy O., Cheung H. S., Ondetti M. A. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by analogs of peptides from *Bothrops jararaca* venom.— Experientia, 1973, v. 29, № 8, p. 1032—1036.
10. Ondetti M. A., Pluščec J., Sabo E. F. Peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme.— Medicina, 1972, v. 32, Suppl. 1, p. 9—14.
11. Pluščec J., Weaver E. R., Williams N. J., Sabo E. F., Kocy O., Ondetti M. A. Relation structure-function of peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme.— In: Peptides 1972. N. Y.: Acad. Press, 1973, p. 403—406.
12. Schwyzer R. Synthetische Analogue des Hypertensins.— Helv. chim. acta, 1961, V. 44, № 3, S. 667—674.
13. Калинин Ф. Л., Лобов В. П., Жидков В. А. Справочник по биохимии. Киев: Наукова думка, 1971, с. 626.
14. Freef R. J., Stewart J. M. Synthetic bradykinin-potentiating peptides related to those isolated from snake venoms.— Ciencia e Cultura, 1974, v. 23, № 4, p. 539—542.
15. Auerswald W., Doleschel W. On the potentiating of kinins by sulphydric compounds.— Arch. Int. Pharmacodyn., 1967, v. 168, p. 188—198.
16. Erdős E. G. Angiotensin I converting enzyme.— Circl. Res., 1975, v. 36, № 2, p. 247—255.
17. Ferreira S. H., Bartelt D. C., Greene L. J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom — Biochemistry, 1971, v. 9, p. 2583—2593.
18. Cirstea M. Potentiation of some bradykinin effects by thiol compounds.— Brit. J. Pharmacol., 1965, v. 25, p. 405—409.
19. Green L. J., Camargo A. C. M., Kreiger E. M., Stewart J. M., Ferreira S. H. Inhibition of the conversion of angiotensin I to II and potentiation of bradykinin by small peptides present in *Bothrops jararaca* venom.— Circl. Res., 1972, v. XXX, XXXI, Suppl. 11, p. 1162—1171.
20. Tominaga M., Stewart J. M., Paiva A. C. M., Paiva T. B. Synthesis and properties of new bradykinin-potentiating peptides.— J. Med. Chem., 1975, v. 18, № 2, p. 130—133.

21. *Ufkes J. C. R., Aarsen P. N., Van der Meer C.* The mechanism of action of two bradykinin-potentiating peptides on isolated smooth muscle.— *Eur. J. Pharmacol.*, 1977, v. 44, p. 89–97.
22. *Camargo A., Ferreira S. H.* Action of BPF and BAL on the response to bradykinin of isolated preparations of rat intestines.— *Brit. J. Pharmacol.*, 1974, v. 42, p. 305–307.
23. *Paegelow J., Reismann S., Arold H.* Der Einflub potenzieren der Faktoren (BPF) auf die Bradykininwirkung in vitro.— *Acta biol. med. Germ.*, 1976, B. 35, S. 235–244.
24. *Bakhle Y. S., Reynard A. M., Vane J. M.* Metabolism of the angiotensin in isolated perfused tissues.— *Nature*, 1969, v. 220, p. 956–961.
25. *Ferreira S. H., Greene L. J., Alabaster V. A., Bakhle Y. S., Vane J. M.* Activity of various fractions of bradykinin potentiating factor against angiotensin I converting enzyme.— *Nature*, 1970, v. 225, p. 379–380.
26. *Alabaster V. A., Bakhle Y. S.* Converting enzyme and bradykinase in the lung.— *Circl. Res.*, 1972, v. XXX, XXXI, Suppl. 11, p. 1172–1184.

Поступила в редакцию
10.IV.1981

THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF BRADYKININ-POTENTIATING PEPTIDES. VIII. STRUCTURE AND FUNCTION

POPOV E. M., SEVASTYANOVA N. N.

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

A comparison is made of the spatial structures and conformational possibilities in the series of bradykinin-potentiating peptides versus available experimental data on their biological activity. The effects of amino acid substitutions on the conformational states of the natural compound are discussed, and the low-energy forms essential for manifesting either inhibitory or a potentiating activities are described. The polyfunctionality of the compounds under study is supposed to be due to the presence of a set of the low-energy conformations and possibility of the shift of the equilibrium upon alterations in the external environment.