



УДК 547.962:541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ  
БРАДИКИНИНПОТЕНЦИРУЮЩИХ ПЕПТИДОВVI. ПОДВИЖНОСТЬ ОСНОВНЫХ И БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ  
НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ КОНФОРМАЦИЙ  $\langle \text{Glu-Lys-Trp-Ala-Pro} \rangle$   
И  $\langle \text{Glu-Lys-Trp-Pro-Pro} \rangle$ 

Севастьянова Н. И., Попов Е. М.

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Исследованы потенциальные поверхности и оценена подвижность основных и боковых цепей природного брадикининпотенцирующего пептида  $\langle \text{Glu-Lys-Trp-Ala-Pro} \rangle$  и его синтетического  $\text{Pro}^4$ -аналога. Показано, что низкоэнергетические состояния обеих молекул обладают большими конформационными возможностями и могут при изменении внешних условий менять ориентацию боковых цепей и перестраивать форму пептидного остова. Отмечены особенности пространственной организации природного и синтетического пентапептидов, обуславливающие резкое различие их биологической активности.

Ранее методом теоретического конформационного анализа была исследована пространственная организация следующих природных брадикининпотенцирующих пептидов:  $\langle \text{Glu-Asn-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro} \rangle$  (БПП<sub>10</sub>) [1],  $\langle \text{Glu-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro} \rangle$  (БПП<sub>9</sub>) [2, 3],  $\langle \text{Glu-Lys-Trp-Ala-Pro} \rangle$  (БПП<sub>5</sub>) [4], а также неактивного синтетического аналога последнего  $\langle \text{Glu-Lys-Phe-Pro-Pro} \rangle$  ( $[\text{Pro}^4]$ БПП<sub>5</sub>) [5]. Анализ показал, что в полярных средах пространственное строение рассмотренных соединений может быть представлено ограниченными наборами низкоэнергетических конформаций, различающихся или формой основной цепи, или ориентациями боковых цепей, или чаще всего тем и другим одновременно. Наиболее вероятные структуры молекул БПП<sub>10</sub> приведены в таблице. Их предпочтительность обусловлена максимальной насыщенностью межостаточных взаимодействий. Например, энергия стабилизирующих контактов между остатками в глобальной конформации нонапептида БПП<sub>9</sub> составляет около  $-38,0$  ккал/моль (табл. 2 в [2]), а пентапептида БПП<sub>5</sub> — около  $-18,0$  ккал/моль (табл. 8 в [4]). Межостаточные взаимодействия в низкоэнергетических конформациях не приводят к высоким значениям энергии ближних взаимодействий. На рис. 1 показана потенциальная поверхность  $\phi$ - $\psi$  метиламида N-ацетил-L-аланина [6], на которую нанесены конформационные состояния основных цепей ( $\phi$ ,  $\psi$ ) остатков в наиболее выгодных структурах молекул БПП<sub>10</sub>, БПП<sub>9</sub>, БПП<sub>5</sub> и  $[\text{Pro}^4]$ БПП<sub>5</sub> (таблица). Все точки не выходят за пределы контура  $1,0$  ккал/моль низкоэнергетических областей R, B и L карты аланинового монопептида. Это показывает, что в предпочтительных структурах

Низкоэнергетические конформации брадикининпотенцирующих пептидов

Молекула	Шейк	Конформация	Энергия, $U_{\text{общ}}$ , ккал/моль
БПП <sub>10</sub>	<i>jeeeffee</i>	$R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-B_{32}^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-R^{10}$	0
	<i>jeejefeee</i>	$R-B_{11}-B_{32}-R-B_{3232}-R-B_{311}-B_{33}-B-R$	1,8
	<i>ffeeeffee</i>	$R-R_{11}-B_{12}-B-B_{3232}-R-R_{311}-B_{33}-B-R$	4,4
БПП <sub>9</sub>	<i>jeeeffee</i>	$R^1-B_{12}^2-B^3-B_{3232}^4-R^5-R_{311}^6-B_{33}^7-B^8-B^9$	0
		$R-B_{11}-B-B_{3232}-R-R_{311}-B_{33}-B-B$	1,0
		$R-B_{22}-B-B_{3232}-R-R_{311}-B_{33}-B-B$	1,7
БПП <sub>5</sub>	<i>jeje</i>	$\left\{ \begin{array}{l} R^1-B_{1221}^2-B_{21}^3-L^4-R^5 \\ R-B_{2121}-L_{31}-B-R \\ R-R_{3223}-R_{11}-B-R \end{array} \right.$	0
			2,2
			2,0
[Pro <sup>4</sup> ]БПП <sub>5</sub>	<i>feee</i>	$\left\{ \begin{array}{l} R^1-B_{2223}^2-B_{11}^3-B^4-R^5 \\ R-R_{2121}-L_{31}-B-R \\ R-R_{2121}-B_{31}-B-R \end{array} \right.$	0
			2,6
			3,5

Примечание. Объяснение принятых обозначений конформаций молекул, форм основной цепи и шейпов см. в работе [4].

БПП конформационные состояния остатков по энтальпии мало отличаются от состояний свободных монопептидов. Поскольку в найденных конформациях БПП межостаточные взаимодействия весьма эффективны, наблюдаемое распределение конформационных точек свидетельствует о высокой степени согласованности между всеми внутримолекулярными взаимодействиями. Именно это свойство пространственной организации природных пептидов и белковых фрагментов делает возможным поэтапный подход к априорному предсказанию их трехмерных структур [7, 8].

Однако исследования оптимальных структур БПП [1–5] не давали достаточно ясного представления о характере потенциальной поверхности молекул в низкоэнергетических состояниях. Между тем знание конформационных возможностей природных пептидов в этом плане представляет существенный интерес при изучении механизма их взаимодействий, который неизбежно включает целенаправленные структурные перестройки молекул. Представление об этом может быть получено лишь при теоретическом рассмотрении потенциальной поверхности молекулы.

Цель данного исследования заключалась в получении дополнительных сведений о подвижности элементов основной цепи и боковых цепей оптимальных конформаций БПП<sub>5</sub> и [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub>, геометрические и энергетические характеристики которых были рассчитаны нами ранее [4, 5]. Для обеих молекул исследованы сечения потенциальной поверхности по углам  $\phi$ ,  $\psi$  основной цепи и  $\chi$  боковой цепи каждого остатка; при построении сечений  $\phi-\psi$  и  $\chi^i-\chi^{i+1}$  другие двугранные углы фиксировались при значениях, полученных для соответствующих оптимальных конформаций (таблица). Для оценки влияния на потенциальную поверхность взаимодействий боковых цепей между собой и с основной цепью конформационные карты  $\chi^i-\chi^{i+1}$  строились как для свободных, так и для включенных в молекулу остатков. В первом случае карты отражают влияние на конформационные возможности боковых цепей только ближних взаимодействий, а во втором — суммарного эффекта ближних и средних (межостаточных) взаимодействий. Размер шага при построении карт определялся характером потенциальной поверхности и варьировался от 20 до 3°. В расчете учитывались невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионные вклады. Потенциальные функции и их параметризация, значения длин связей и валентных углов, а также объяснение

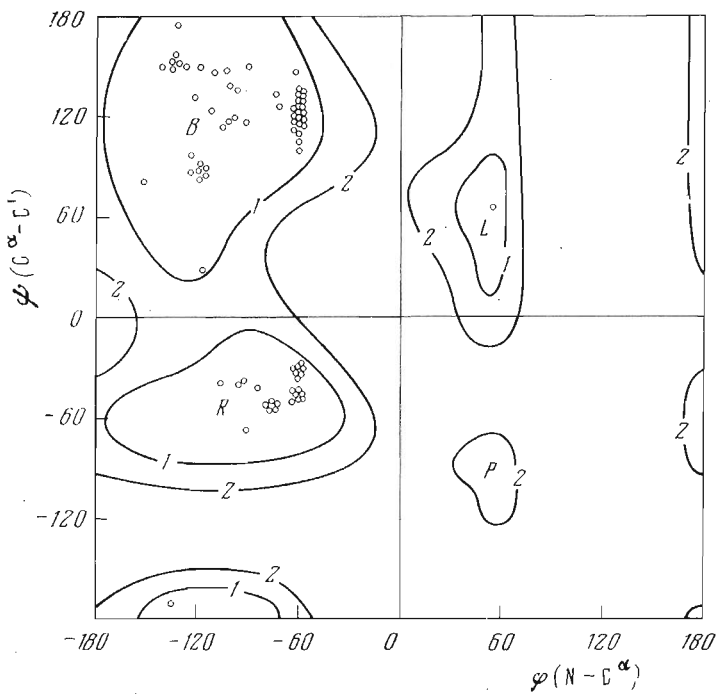


Рис. 1. Распределение конформационных точек низкоэнергетических конформаций  $BPP_{10}$  (табл. 8 в [1]),  $BPP_9$  (табл. 3 в [3]),  $BPP_5$  (табл. 9 в [4]) и  $[Pro^4]BPP_5$  (табл. 8 в [5]) на  $\varphi$ - $\psi$ -карте метиламида N-ацетил-L-аланина

употребляемых в тексте понятий даны в работах [2–4]. Там же описана система идентификаторов, характеризующая возможные конформационные состояния основных и боковых цепей аминокислотных остатков, формы и шейпы пептидного остова.

**Молекула  $BPP_5$ .** Начнем рассмотрение конформационных свойств этой молекулы с анализа подвижности основной цепи в ее глобальной структуре  $R^1-B_{1221}^2-B_{21}^3-L^4-R^5$  ( $U_{общ}=0$  ккал/моль). Сечения  $\varphi$ - $\psi$  для

остатков  $Lys^2$ ,  $Trp^3$ ,  $Ala^4$  и потенциальные кривые  $U(\varphi)$  для  $\langle Glu^1$  и  $Pro^5$  приведены на рис. 2а. Видно, что в глобальной конформации  $BPP_5$  различные участки основной цепи обладают неодинаковой конформационной свободой. Подвижность цепи максимальна на N- (энергетическая кривая остатка  $\langle Glu^1$  подобна свободному монопептиду [9]) и C-концах и резко снижается по мере перехода к ее центру.

Сечения потенциальной поверхности  $\chi^1$ - $\chi^2$  остатка  $Lys^2$  в свободном состоянии, ( $C^\alpha-CONH-C^\omega HR-CONH-C^\omega$ ;  $R=(CH_2)_4N^+H_3$ ) и в поле молекулы  $BPP_5$  показаны на рис. 3а, б. Они получены при значениях углов  $\varphi$   $-135,9^\circ$ ,  $\psi$   $-170,6^\circ$ ,  $\chi^3$   $-174,7^\circ$  и  $\chi^4$   $63,0^\circ$ , соответствующих геометрии конформации  $BPP_5$  с величиной относительной энергии  $U_{общ}=0$  ккал/моль.

Сечение  $\chi^3$ - $\chi^4$  свободного остатка  $Lys^2$  (рис. 3в), построенное при тех же углах  $\varphi$ ,  $\psi$  и  $\chi^1$ , равно  $65,7^\circ$ , и  $\chi^2=171,6^\circ$ , свидетельствует о больших конформационных возможностях этой части боковой цепи. Однако характер конформационной карты  $\chi^3$ - $\chi^4$  резко меняется при учете взаимодействий  $Lys^2$  с остальной частью молекулы (рис. 3г). Сечения потенциальной поверхности  $\chi^1$ - $\chi^2$  и  $\chi^3$ - $\chi^4$  указывают на чрезвычайно ограниченную конформационную свободу боковой цепи лизина в глобальной структуре  $BPP_5$ ; при фиксированных углах  $\varphi$ ,  $\psi$  основной цепи возможен лишь единственный набор значений четырех углов  $\chi$  боковой цепи. Для опре-

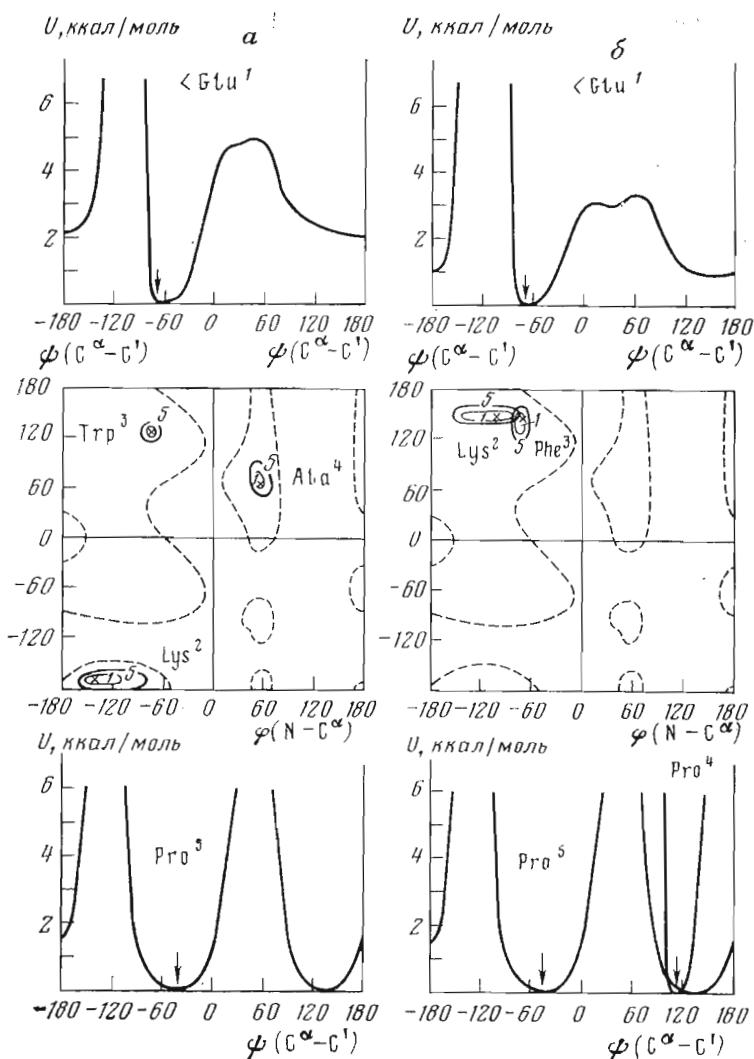


Рис. 2. Конформационные карты  $\varphi$ - $\psi$  остатков  $\text{Lys}^2$ ,  $\text{Trp}^3$ ,  $\text{Ala}^4$  и кривые  $U(\psi)$   $\langle \text{Glu}^1$ ,  $\text{Pro}^5$  глобальной конформации БПП<sub>5</sub> (а) и конформационные карты  $\varphi$ - $\psi$  остатков  $\text{Lys}^2$ ,  $\text{Phe}^3$  и кривые  $U(\psi)$   $\langle \text{Glu}^1$ ,  $\text{Pro}^4$ ,  $\text{Pro}^5$  глобальной конформации [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub> (б). Здесь и на рис. 3-6 крестиком отмечено положение цепи в глобальной конформации. Пунктиром показаны контуры потенциальной поверхности метиламида N-ацетил-L-аланина

деления чувствительности потенциальной поверхности к конформационному состоянию основной цепи  $\text{Lys}^2$  были получены карты  $\chi^1$ - $\chi^2$  и  $\chi^3$ - $\chi^4$  при других значениях  $\varphi$ ,  $\psi$ , не выходящих, однако, из области В и, следовательно, отвечающих той же форме основной цепи молекулы. Оказалось, что они существенно отличаются от приведенных на рис. 3. Вероятными, хотя и менее предпочтительными (на 0,5-3 ккал/моль), становятся также значения углов  $\chi^1$ ,  $\chi^2$ ,  $\chi^3$ ,  $\chi^4 \sim 180^\circ$ ,  $180^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $60^\circ$  (при  $\varphi$ ,  $\psi \sim -145^\circ$ ,  $150^\circ$ );  $180^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $180^\circ$ ,  $60^\circ$  ( $\varphi$ ,  $\psi \sim -140^\circ$ ,  $122^\circ$ ). Следовательно, в случае сравнительно небольшого варьирования значений  $\varphi$ ,  $\psi$  лизина в области В на сечениях потенциальной поверхности  $\chi^1$ - $\chi^2$  и  $\chi^3$ - $\chi^4$  обнаруживается целый ряд новых разделенных небольшими барьерами минимумов, которые незначительно уступают по энергии глобальному. Таким образом, состояния основной и боковой цепей этого остатка строго взаимообусловлены. С этим выводом согласуются результаты расчета, полученные в работе [4], табл. 9. Они показали, что форма основной цепи R-B-B-L-R представлена

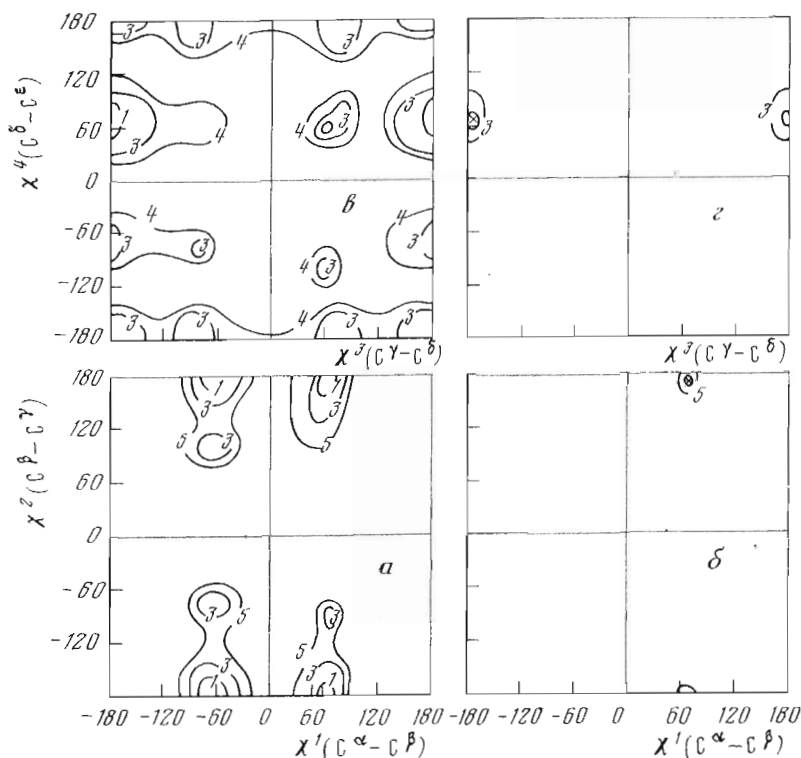


Рис. 3. Конформационные карты  $\chi^1$ - $\chi^2$  и  $\chi^3$ - $\chi^4$  боковой цепи остатка Lys<sup>2</sup> в свободном состоянии (а, с) и в глобальной конформации БПП<sub>3</sub> (б, д)

наибольшим числом низкоэнергетических структур молекулы БПП<sub>3</sub> и, следовательно, наиболее предпочтительна не только по энтальпии, но и по энтропии. Конформации, различающиеся состоянием боковой цепи остатка Lys<sup>2</sup>, имеют различные значения двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$  у трипептидного фрагмента Lys<sup>2</sup>-Trp<sup>3</sup>-Ala<sup>4</sup>, причем наибольшую чувствительность к ориентации боковой цепи лизина имеют двугранные углы его основной цепи и боковой цепи триптофана.

Конформационные карты  $\chi^1$ - $\chi^2$  свободного и включенного в глобальную конформацию БПП<sub>3</sub> остатка Trp<sup>3</sup> представлены на рис. 4а, б. Их сопоставление показывает, что в поле молекулы боковая цепь сохраняет значительную конформационную свободу. Это объясняется сравнительно слабыми контактами между боковой цепью Trp<sup>3</sup> и остальной частью молекулы (при  $\chi^1$  -178,3°,  $\chi^2$  88,9° энергия взаимодействия составляет ~ -1,9 ккал/моль; табл. 8 в работе [4]).

Аналогичное исследование сечений потенциальной поверхности проведено и для лучшей конформации формы R-B-R-B-R, принадлежащей тому же шейпу *fe<sub>2</sub>e*, что и рассмотренная выше глобальная структура (таблица). При данной форме основной цепи возможно только одно низкоэнергетическое состояние боковой цепи лизина ( $\chi^1$ - $\chi^4$  ~ 180, 60, 180, 60°), обеспечивающее достаточно эффективные ее взаимодействия с другими остатками (табл. 8 в работе [4]). Однако, как и в описанном выше случае, варьирование значений углов  $\phi$ ,  $\psi$  также обнаруживает на потенциальной поверхности ряд новых минимумов. У боковой цепи остатка Trp<sup>3</sup> лишь положение  $\chi^1$ ,  $\chi^2$  ~ 60, 60°, которое на карте связанного остатка фактически вырождается в точку, приводит к благоприятным контактам. Вследствие крайне ограниченной конформационной свободы Lys<sup>2</sup> и Trp<sup>3</sup> форма основной цепи R-B-R-B-R по энтропии значительно уступает R-B-B-L-R. Так, если в первом случае в интервал 0-3,0 ккал/моль попадает лишь одна конформация,

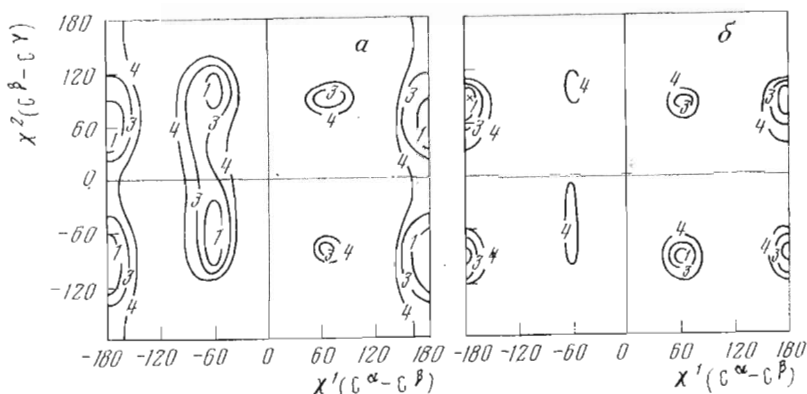


Рис. 4. Конформационные карты  $\chi^1$ - $\chi^2$  боковой цепи остатка Trp<sup>3</sup> в свободном состоянии (а) и в глобальной конформации БПП<sub>5</sub> (б)

то во втором — 19 конформаций, различающихся ориентациями боковых цепей лизина и триптофана.

Конформационные возможности низкоэнергетических вариантов с формой основной цепи *R-R-R-B-R* (*fffe*) отличаются от рассмотренных выше. Сечения потенциальной поверхности  $\chi^1$ - $\chi^2$  и  $\chi^3$ - $\chi^4$  свободного остатка Lys<sup>2</sup> и включенного в пептидную цепь молекулы БПП<sub>5</sub> практически совпадают. Это объясняется тем, что в самых предпочтительных структурах этой формы его боковая цепь направлена в сторону растворителя и слабо взаимодействует с другими остатками (табл. 8 в работе [4]). Учет взаимодействий Trp<sup>3</sup> с остальной частью молекулы приводит к тому, что наиболее предпочтительной из шести областей низкой энергии у свободного остатка ( $\chi^1 \sim 60, 180, -60^\circ$ ,  $\chi^2 \sim \pm 90^\circ$ ) остается только суженная до  $\pm 5^\circ$  область  $\chi^1$ ,  $\chi^2 \sim 60, 60^\circ$ . В разрешенной области реализуется дополнительное взаимодействие между боковой цепью Trp<sup>3</sup> и остатком <Glu<sup>-1</sup> (-2,5 ккал/моль; табл. 8 в работе [4]). Последнее обстоятельство делает основную цепь в форме *R-R-R-B-R*, особенно на участке <Glu<sup>-1</sup>-Lys<sup>2</sup>-Trp<sup>3</sup>, более жесткой и, следовательно, менее предрасположенной к конформационным перестройкам, чем в случае *R-B-B-L-R* и *R-B-R-B-R*.

Рассмотренные для молекулы БПП<sub>5</sub> сечения потенциальной поверхности лучших состояний трех форм основной цепи шейпов *jeje* и *fffe* позволяют выделить следующие особенности их пространственной организации. Для конформаций формы *R-B-B-L-R* характерна значительная свобода боковой цепи остатка Trp<sup>3</sup> и N- и C-концов молекулы. Цементирующим элементом структур этого типа является боковая цепь Lys<sup>2</sup>. При сравнительно небольших изменениях углов  $\phi$ ,  $\psi$  возможна реализация ряда близких по энергии конформационных состояний боковой цепи лизина. Переход между ними представляет собой кооперативный процесс, включающий изменение двугранных углов пептидной цепи. При этом наибольшее изменение претерпевает участок основной цепи самого остатка Lys<sup>2</sup>. Одновременно каждое положение бокового радикала лизина допускает изменение ориентаций боковой цепи Trp<sup>3</sup> без существенного повышения конформационной энергии молекулы. Наличие у триптофана конформационной свободы объясняется тем, что его боковая цепь ориентирована в сторону от молекулы и не образует сильных межостаточных взаимодействий. Эти факторы и определяют энтропийную и энтальпийную предпочтительность формы *R-B-B-L-R* (энергия ее восьми вероятных состояний меньше энергии самых предпочтительных структур других форм; табл. 7 в работе [4]).

**Молекула [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub>.** Рассмотренный выше природный пентапептид БПП<sub>5</sub> и его синтетический аналог [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub> резко отличаются друг от друга как по ингибирующей активности и потенцирующему действию [10-12], так и в отношении своей пространственной организации [5].



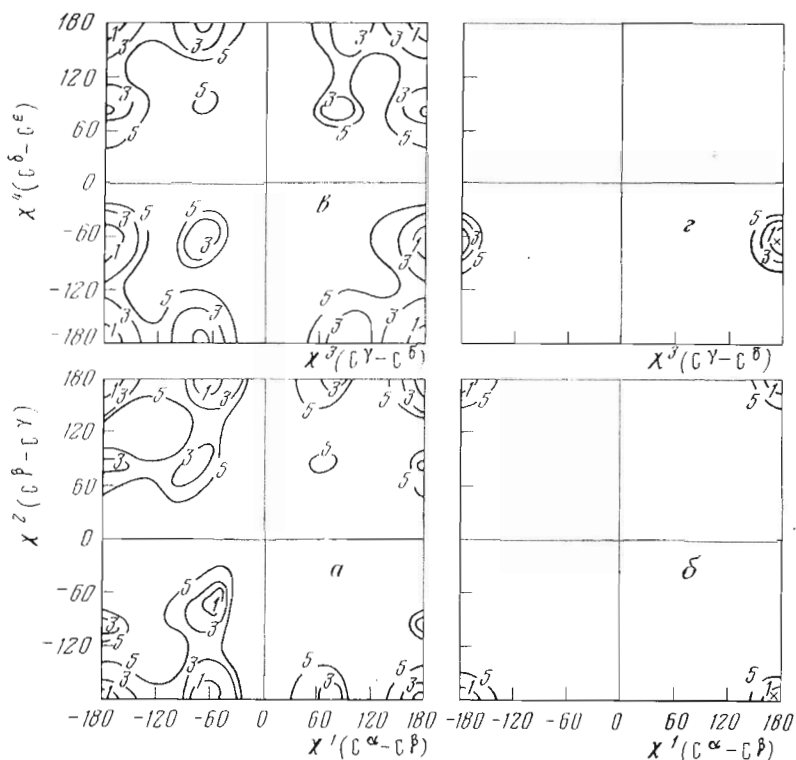


Рис. 5. Конформационные карты  $\chi^1-\chi^2$  и  $\chi^3-\chi^4$  боковой цепи остатка  $\text{Lys}^2$  в свободном состоянии (а, б) и в глобальной конформации  $[\text{Pro}^4]\text{BPP}_5$  (в, г)

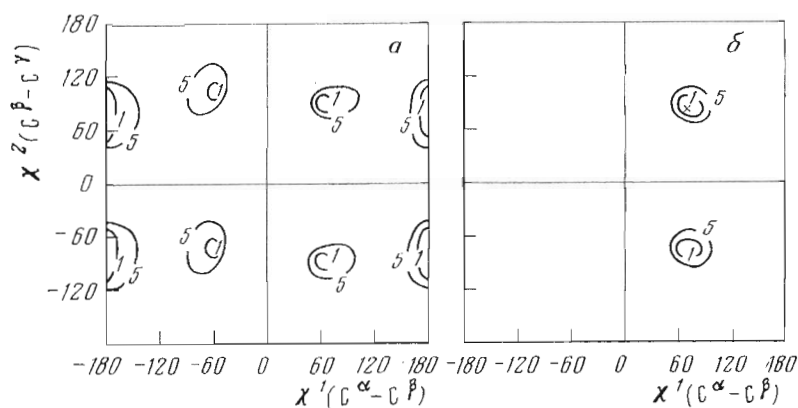


Рис. 6. Конформационные карты  $\chi^1-\chi^2$  боковой цепи остатка  $\text{Phe}^3$  в свободном состоянии (а) и в глобальной конформации  $[\text{Pro}^4]\text{BPP}_5$  (б)

Глобальная конформация молекулы  $[\text{Pro}^4]\text{BPP}_5$   $R\text{-B}_{2223}\text{-B}_{11}\text{-B-R}$  имеет вытянутую форму основной цепи (*jeeee*). Ее конформационные возможности отражают карты  $\varphi-\psi$  и кривые  $U(\varphi)$ , представленные на рис. 2б. Из приведенных сечений потенциальных поверхностей видно, что у пептидного остова в глобальной конформации  $[\text{Pro}^4]\text{BPP}_5$ , как и у  $\text{BPP}_5$ , подвижность максимальна на N- и C-концах и последовательно уменьшается при переходе к центральному остатку  $\text{Phe}^3$ . В данном случае, однако, у фрагмента  $\text{Lys}^2\text{-Phe}^3\text{-Pro}^4$  значительно шире интервалы допустимых изменений двугранных углов  $\varphi$ ,  $\psi$  по сравнению с фрагментом  $\text{Lys}^2\text{-Trp}^3\text{-Ala}^4$  молекулы  $\text{BPP}_5$ , т. е. основная цепь пептида  $[\text{Pro}^4]\text{BPP}_5$  более лабильна.

Конформационные карты  $\chi^1-\chi^2$  и  $\chi^3-\chi^4$  остатка  $\text{Lys}^2$  в свободном состоянии и включенного в структуру  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$  даны на рис. 5а-г. Они построены при значениях двугранных углов глобальной конформации молекулы (табл. 8 в работе [5]). Взаимодействие  $\text{Lys}^2$  с другими остатками (рис. 5б, г) резко дифференцирует конформационные состояния, делая предпочтительным только одно из них:  $\chi^1-\chi^4 \sim 180, 180, 180, -60^\circ$ . В этом состоянии боковая цепь  $\text{Lys}^2$ , ориентированная в сторону С-конца, нависает над развернутой основной цепью и образует сильные стабилизирующие контакты с последующими остатками (табл. 7 в работе [5]). Их эффективность существенно зависит от конформационного состояния остатка  $\text{Phe}^3$ . Стабилизация максимальна при угле  $\chi^1 \sim 60^\circ$  (рис. 6б); в случае  $\chi^1 \sim 180^\circ$  или  $-60^\circ$  взаимодействие ослабляется приблизительно на 4,0 ккал/моль. У свободного остатка фенилаланина эти три конформационных состояния практически равновероятны (рис. 6а). При изменении в области В углов  $\varphi, \psi$  основной цепи лизина на карте  $\chi^1-\chi^2$  этого остатка появляются два новых минимума:  $\chi^1, \chi^2 \sim 180, 60^\circ$  (при  $\varphi \sim -145^\circ, \psi \sim 175^\circ$ ) и  $\sim 60, 180^\circ$  ( $\varphi \sim -140^\circ, \psi \sim 130^\circ$ ). Их энергия на  $\sim 3,0$  ккал/моль выше, чем при  $\chi^1, \chi^2 \sim 180, 180^\circ$  ( $\varphi \sim -100^\circ, \psi \sim 150^\circ$ ) глобальной конформации, что объясняется ослаблением взаимодействия боковых цепей остатков  $\text{Lys}^2$  и  $\text{Phe}^3$ .

При форме основной цепи  $R-R-L-B-R$  того же шейпа *feee* значительно уменьшается подвижность N-концевого трипептидного фрагмента  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$ . На кривой  $U(\psi)$  остатка  $\langle \text{Glu}^1$  из-за наталкивания на бензольное кольцо  $\text{Phe}^3$  пропадает минимум в области  $120-180^\circ$  (рис. 2б). Положение боковой цепи фенилаланина ограничивается значением  $\chi^1 \sim -60^\circ$ , которое обеспечивает благоприятные контакты с боковой цепью  $\text{Lys}^2$  (при значении  $\chi^1 \sim 180^\circ$  у последней).

На картах  $\chi^1-\chi^2$  и  $\chi^3-\chi^4$  лизина у конформаций  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$  с фиксированной формой  $R-R-B-B-R$  (*ffee*) области наиболее низкой энергии соответствуют наборам значений углов  $\chi^1-\chi^4 \sim 180, 60, 180, 60^\circ$  и  $180, 180, 180^\circ$ . Только при таких ориентациях и при  $\chi^1 \sim 60$  и  $-60^\circ$  у фенилаланина осуществляется взаимодействие между боковыми цепями двух остатков. Энергия конформаций, отвечающих этим минимумам, выше энергии глобальной структуры молекулы на 3,5 ккал/моль и более (табл. 6 в [5]).

Анализ сечений потенциальной поверхности молекулы  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$  показывает, что у глобальной конформации (форма  $R-B-B-B-R$ , *feee*) основная цепь обладает наибольшей подвижностью. Что же касается боковых цепей остатков  $\text{Lys}^2$  и  $\text{Phe}^3$ , то их конформационная свобода очень ограничена. Последнее, однако, вызвано не стерическими затруднениями, а стабилизирующими взаимодействиями, которые реализуются только при одной ориентации боковой цепи у каждого остатка. Следующие за глобальной структурой многочисленные конформации этой же формы имеют относительную энергию более 2,5 ккал/моль, что обусловлено ослаблением межостаточных контактов, в первую очередь между  $\text{Lys}^2$  и  $\text{Phe}^3$ . Конформационное состояние молекулы  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$  этого типа весьма чувствительно к внешним воздействиям. У конформаций форм  $R-R-L-B-R$  (*feee*) и  $R-R-B-B-R$  (*ffee*) по стерическим причинам основные цепи менее лабильны. На подвижность боковых цепей остатков  $\text{Lys}^2$  и  $\text{Phe}^3$  оказывают влияние два фактора: пространственные ограничения и стабилизирующие дисперсионные взаимодействия (табл. 7 в работе [5]). Расчет оптимальных структур и анализ их конформационных возможностей показывают, что у молекулы  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$ , как и у  $\text{БПП}_5$ , форма основной цепи глобальной структуры оказывается самой предпочтительной не только по энтальпии, но и по энтропии.

Результаты расчета оптимальных конформаций [4, 5] показали, что пентапептиды  $\text{БПП}_5$  и  $[\text{Pro}^4]\text{БПП}_5$  существенно различаются по геометрии низкоэнергетических конформаций, что, очевидно, и является основной причиной высокой активности одного и практически отсутствия ее



у другого. В чем же, однако, заключается необходимая для функционирования специфика пространственного строения природной молекулы? Попытаемся выявить ее при сравнении конформационных свойств БПП<sub>5</sub> и очень близкого по аминокислотной последовательности искусственного аналога [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub>.

Глобальная конформация молекулы БПП<sub>5</sub>, *R-B<sub>1221</sub>-B<sub>21</sub>-L-R* (*feje*) является более компактной по форме и более насыщенной стабилизирующими внутримолекулярными контактами по сравнению с формой лучшей конформации [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub>, *R-B<sub>2223</sub>-B<sub>11</sub>-B-R* (*feee*) (их энергия составляет  $\sim -18,0$  и  $\sim -13,0$  ккал/моль соответственно). В то же время она обладает большими конформационными возможностями в отношении боковых цепей. Так, у молекулы БПП<sub>5</sub> в интервал 0–3,0 ккал/моль попадает 19 структурных вариантов формы *R-B-B-L-R* с семью различными конформационными состояниями боковой цепи остатка Lys<sup>2</sup> и пятью Trp<sup>3</sup>. У молекулы [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub> в этом же интервале находится восемь вариантов формы *R-B-B-B-R* соответственно с тремя и четырьмя ориентациями боковых цепей Lys<sup>2</sup> и Phe<sup>3</sup>. Для БПП<sub>5</sub> характерно равномерное энергетическое распределение конформаций (табл. 7 в работе [4]). У [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub> наблюдается заметный разрыв в величинах относительной энергии глобальной и следующих за ней конформаций ( $U_{\text{общ}}=0; 2,4; \dots; 2,9$  ккал/моль; табл. 8 в работе [5]). Поскольку минимумы потенциальной поверхности природного пептида не разделены высокими барьерами, его боковые цепи могут легко совершать конформационные перестройки в соответствии с геометрией активного центра рецептора, существенно не изменяя при этом форму пептидного остова. Отмеченной особенностью обладают также конформации БПП<sub>5</sub> другой формы — *R-R-R-B-R*, лучшая из которых уступает глобальной 2,0 ккал/моль.

Другая важная особенность пространственной организации природного пентапептида заключается в достаточно строгой при определенном внешнем окружении детерминации формы основной цепи и одновременно в возможности целенаправленного перехода к другой форме при изменении среды. Эта особенность связана с разной природой сил внутримолекулярных взаимодействий, стабилизирующих конформации того или иного типа (заслуживают внимание *R-B-B-L-R* и *R-R-R-B-R*), на которые внешние факторы оказывают различное влияние. Как показал расчет, в водной среде большой вклад в устойчивость конформаций БПП<sub>5</sub> типа *R-B-B-L-R* наряду с дисперсионными контактами вносит электростатическое взаимодействие NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-группы лизина с COO<sup>-</sup>-группой C-концевого пролина ( $\sim -7,0$  ккал/моль). В конформациях формы *R-R-R-B-R* взаимодействие NH<sub>3</sub><sup>+</sup> с COO<sup>-</sup> значительно менее эффективно ( $\sim -2,5$  ккал/моль). Однако в отношении внутри- и межостаточных дисперсионных взаимодействий они на  $\sim 2,0$  ккал/моль выгоднее конформаций формы *R-B-B-L-R*. Гидрофобное окружение ослабляет приблизительно в одинаковой мере внутримолекулярные дисперсионные взаимодействия у вариантов как той, так и другой формы, но усиливает электростатическое взаимодействие противоположно заряженных групп Lys<sup>2</sup> и Pro<sup>5</sup>. Поэтому следует ожидать, что в водной и гидрофобной средах конформации формы *R-B-B-L-R* пентапептида БПП<sub>5</sub> будут обладать доминирующей энтальпийной и энтропийной предпочтительностью по сравнению с конформациями альтернативной формы *R-R-R-B-R*. Последние получают преимущество в растворах с большой ионной силой, в которых усиливаются дисперсионные и ослабляются электростатические внутримолекулярные взаимодействия. Таким образом, у природного соединения имеет место альтернирование двух форм основной цепи — внешние условия, благоприятные для одной из них, оказываются неблагоприятными для другой. Быть может, именно эта особенность пространственной организации БПП<sub>5</sub> обуславливает его специфическую полифункциональность. Конформации одной формы, например, обеспечи-

вают ингибирование ангиотензинпревращающего фермента, а другой — способствуют усилению и пролонгированию гипотензивного эффекта брадикинина. Возможности реализации в обоих случаях различных ориентаций боковых цепей может облегчать конформационную адаптацию молекул БПП<sub>5</sub> с рецепторами. Появляется возможность теоретически предсказать, а затем синтезировать аналоги БПП<sub>5</sub>, каждый из которых обладал бы конформационными свойствами, присущими структурам формы *R-B-B-L-R* или *R-R-R-B-R*. Следовательно, сделанное выше заключение поддается экспериментальной проверке.

Иную пространственную организацию имеет синтетический пептапептид [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub>. Стабильность конформаций всех его форм определяется в основном дисперсионными взаимодействиями. Энергия электростатического взаимодействия между NH<sub>3</sub><sup>+</sup>- и COO<sup>-</sup>-группами мала и близка у всех низкоэнергетических вариантов по величине (~-2,5 ккал/моль). В условиях, при которых межмолекулярные взаимодействия столь же актуальны, как и внутримолекулярные (гидрофобная среда), глобальная конформация [Pro<sup>4</sup>]БПП<sub>5</sub> теряет свою предпочтительность и практически изоэнергетичным одновременно становится большое число конформаций сразу трех рассмотренных выше форм основной цепи молекулы: *R-B-B-B-R*, *R-R-L-B-R* и *R-R-B-B-R*. В отличие от природного пептапептида пространственное строение синтетического аналога слабо подвержено избирательному воздействию внешних факторов на положение конформационного равновесия.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. (1980) Биоорг. химия, **6**, 547—562.
2. Архипова С. Ф., Севастьянова Н. Н., Липкинд Г. М., Попов Е. М. (1977) Биоорг. химия, **3**, 335—346.
3. Севастьянова Н. Н., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Попов Е. М. (1977) Биоорг. химия, **3**, 473—484.
4. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. (1978) Биоорг. химия, **4**, 997—1016.
5. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. (1979) Биоорг. химия, **5**, 11—23.
6. Попов Е. М., Липкинд Г. М. (1974) Молекулярн. биология, **5**, 624—636.
7. Попов Е. М. (1975) Молекулярн. биология, **9**, 578—593.
8. Попов Е. М. (1979) Int. J. Quantum Chem., **16**, 707—737.
9. Montagut M. (1973) Thèse Bordeaux pour obtenir le titre de Docteur en chimie.
10. Cushman D. W., Plušćec J., Williams N. J., Weaver E. R., Sabo E. F., Kocy O., Cheung H. S., Ondetti M. A. (1973) Experientia, **29**, 1032—1035.
11. Ondetti M. A., Plušćec J., Weaver E. R., Williams N. J., Sabo E. F., Kocy O. (1972) in: Chemistry and biology of peptides. Proceedings of the 3-rd American Peptide Symposium, 525—532.
12. Plušćec J., Weaver E. R., Williams N. J., Sabo E. F., Kocy O., Ondetti M. A. (1973) in: Peptide 1972, 403—406.

Поступила в редакцию  
20.IV.1980

#### THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF BRADYKININ-POTENTIATING PEPTIDES. VI. CONFORMATIONAL MOBILITY OF THE BACKBONE AND SIDE CHAINS OF THE LOW-ENERGY STRUCTURES OF <Glu-Lys-Trp-Ala-Pro AND <Glu-Lys-Trp-Pro

SEVASTIJANOVA N. N., POPOV E. M.

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

The potential surfaces of the native bradykinin-potentiating peptide <Glu-Lys-Trp-Ala-Pro and of its synthetic Pro<sup>4</sup>-analog have been determined and on their basis the backbone and side chain mobilities have been estimated. Low energy structures of both molecules are highly mobile and on change in the environment these can change both the orientation of the side chains, and the form of the backbone. The conformational features responsible for considerable differences in biological activity of the native and synthetic penta-peptides are discussed.