



УДК 577.1+547.962.02

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ ЛЮЛИБЕРИНА

Голубович В. П., Курнарский Л. И., Ахрем А. А.

Институт биоорганической химии Академии наук БССР, Минск

Галактионов С. Г.

Опорный пункт ВНИИгенетика, Минск

Методами теоретического конформационного анализа в попарно-аддитивном приближении выполнен расчет пространственной структуры люлиберина. Выделены три наиболее стабильные конформации молекулы. Проведено сопоставление расчетных данных с данными физико-химического исследования. На основании данных о биологической активности конформационно ограниченных аналогов люлиберина выделены наиболее вероятные типы конформаций отдельных остатков молекулы. Полученные результаты хорошо согласуются с данными расчета. Их состоятельность подтверждается также наличием заметной биологической активности у ряда синтезированных циклических аналогов люлиберина.

Интерес к теоретическому исследованию пространственной структуры и конформационной подвижности олигонептидных биорегуляторов в последнее время в значительной степени стимулируется возможностями использования его результатов для анализа конформационно-функциональных отношений в ряде аналогов соответствующих соединений.

Примером успешной реализации подобного рода подхода к задачам направленного синтеза может служить создание циклических аналогов брадикинина, обладающих пролонгированным действием [1], что было осуществлено на основе расчетных данных о стабильных конформациях молекулы, согласующихся с результатами спектроскопических исследований [2–6]. Аналогичным образом данные теоретического конформационного анализа молекулы туфтсина [7] были использованы для синтеза его высокоактивного конформационно ограниченного циклического аналога [8]. Анализ конформационно обусловленных факторов проявления биологической активности аналогов пептидных биорегуляторов или попытки выявления «биологически активной» конформации, характерной для их молекулы в составе комплекса с рецептором, предпринимались на базе результатов расчета стабильных конформаций ангиотензина [9–11], энкефалина [12] и тиролиберина [13, 14].

Данные теоретического конформационного анализа молекулы люлиберина [15] также использованы для этой цели в ряде работ [16–18]. Ранее, однако, нами уже отмечалось (например, [19]), что методика поиска наиболее стабильных структур молекулы, принятая в работе [15], не может быть признана удовлетворительной. В связи с этим нами было предпри-

Принятые сокращения: Руп — пирролидил, Azgly — азаглицин.

нято более тщательное расчетное исследование конформационных состояний молекулы люлиберина



В работе использовались описанные ранее техника расчета [20] и потенциальные функции атом-атомных взаимодействий [21, 22]. Все пептидные связи полагались имеющими *транс*-конфигурацию. Выдвинутая ранее гипотеза о *цис*-конфигурации связи His²-Trp³ [23] не была подтверждена более поздними исследованиями [24]. В той же работе [24] было установлено, что связь Arg⁸-Pro⁹ также имеет *транс*-конфигурацию. Для оценки ближних внутримолекулярных взаимодействий на основе данных о стабильности фрагментов молекулы использовался подход, описанный в работе [25]. В простейшем случае энергия ближних взаимодействий (U_{im}) фрагмента *i-k-l-m* представлялась в виде $U_{im} = U_{ii} + U_{km} - U_{kl}$, где U_{ii} , U_{km} , U_{kl} — энергии фрагментов *i-k-l*, *k-l-m* и *k-l* в соответствующей конформации. Полученная таким образом оценка U_{im} использовалась для отбора структур фрагмента *i-k-l-m*, подлежащих дальнейшему исследованию. Реализация основных этапов расчета осуществлялась следующим образом.

Этап I. $\langle \text{Glu}^1\text{-His}^2\text{-Trp}^3\text{-Ala}^4\text{-Tyr}^5\text{-NH-C}^\alpha \text{ (I)} \rangle$. Оценка стабильности конформаций N-концевого пентапептида молекулы люлиберина производилась на основе данных расчета трипептидных фрагментов $\langle \text{Glu-His-Trp}$, His-Trp-Ala, Trp-Ala-Tyr, а также двух дипептидов: His-Trp и Trp-Ala. Отбор перспективных структур для дальнейшего расчета проводился на основании оценок энергии ближних взаимодействий; из последующего рассмотрения исключались конформации, отличающиеся по ΔU_{min} от наиболее стабильной на величину более 10 ккал/моль. Для конформаций, отобранных по такому критерию, затем производился расчет энергии целого фрагмента.

«Стартовые» конформации исходных фрагментов задавались в виде комбинаций стабильных конформаций монопептидов [21]. Сведения о «стартовых» конформациях и их условные обозначения приведены в табл. 1.

В результате расчета N-концевого пентапептида (I) удалось выявить более 150 перспективных для дальнейшего рассмотрения пространственных структур ($\Delta U \leq 10$ ккал/моль); наиболее стабильной оказалась структура $RB_{21}R_{31}BB_{311}$. Таким образом, концевой пентапептид люлиберина обладает значительной конформационной лабильностью. Этот факт является несколько странным, так как рассматриваемый фрагмент образован в основном объемными аминокислотными остатками.

Условие ($\Delta U \leq 5$ ккал/моль) удовлетворяют 33 различные структуры; только 12 из них различаются конформациями остова.

Для наиболее стабильных структур характерно взаимодействие между циклическими аминокислотами: His²...Tyr⁵, Trp³...Tyr⁵, $\langle \text{Glu}^1 \dots \text{His}^2 \dots \text{Tyr}^5 \rangle$.

Конформации остова $RBRBB$, $RBBBB$, $BBBBB$, $RRBBB$, $BRRBB$ допускают значительное варьирование конформаций боковых радикалов без существенной утраты стабильности. Напротив, такие структуры остова, как $BRRRB$, $BRBBB$, $RBRBB$, стабилизируются в значительной мере за счет удачной упаковки боковых радикалов.

Сравнивая подвижности отдельных аминокислотных остатков в N-концевом пентапептиде при различных конформациях остова, можно отметить, что наибольшей «жесткостью» обладают участки $\langle \text{Glu}^1\text{-His}^2$ и Tyr⁵.

Этап II. $\text{C}^\alpha\text{-CO-Ala}^4\text{-Trp}^5\text{-Gly}^6\text{-Leu}^7\text{-Arg}^8\text{-Pyn} \text{ (II)}$. Были рассчитаны все стабильные конформации фрагмента, соответствующие комбинациям локальных минимумов монопептидов (у бокового радикала остатка Arg⁸ рассматривались лишь конформеры по углам χ_1 и χ_2). У остатка Gly⁶ рассматривались лишь формы *H* и *L*, поскольку известно, что аналоги, содержащие *D*-аминокислоты в этом положении, сохраняют высокую биологиче-

**«Стартовые» конформации аминокислотных остатков
в молекуле люлиберина
I. Пептидный остов**

Тип конформации	Значения углов внутреннего вращения, градусы	
	φ	ψ
<i>B</i>	-120	+120
<i>R</i>	-50	-40
<i>L</i>	+60	+60
<i>H</i>	+60	-60
<i>Q</i>	-100	+20

II. Боковые цепи

Остаток	Тип конформации (нижний индекс)	Значения углов внутреннего вращения, градусы			
		χ_1	χ_2	χ_3	χ_4
Trp	1	60	90		
	2	180	-90		
	3	-60			
His	1	60	90		
	2	180	-90		
	3	-60			
Ser	1	60	100		
	2	180			
	3	-60			
Tyr	1	60	90	180	
	2	180	-90		
	3	-60			
Leu	1	60	90		
	2	180			
	3	-60			
Arg	1	60	180	180	90
	2	180			-90
	3	-60			

скую активность [26]. Аналогичное ограничение круга рассматриваемых конформаций принималось также в работе [15].

Свыше 100 конформаций рассматриваемого фрагмента характеризуются энергией $\Delta U \leq 10$ ккал/моль; 29 из них имеют значение ≤ 5 ккал/моль.

Все структуры, в которых остаток Gly⁶ принимает конформацию типа *L*, имеют высокие значения энергии. Наиболее подвижными остатками фрагмента (II) являются Ala¹ и Gly⁶, а наиболее «жесткие» участки расположены в области дипептида Leu⁷-Arg⁸ и Tyr⁵. Лишь четыре различных типа структур, различающихся конформациями остова *RBHBB*, *RBHRB*, *VBHRB* и *VBHBB*, имеют энергию $\Delta U \leq 10$ ккал/моль. Из 29 расчетных структур с ΔU менее 5 ккал/моль 23 имеют конформацию остова типа *RBHBB*. (Всего рассматривалось 27 комбинаций конформаций боковых радикалов.)

Близки этой структуре и два других типа конформаций остова, сравнимых с ней по стабильности: *RBHRB* и *VBHRB*. При этом структура первого типа стабилизируется в основном за счет взаимодействий «остов — остов», второго — благодаря взаимодействиям между боковыми радикалами и остовом; особенно велик вклад взаимодействия боковой цепи остатка Arg⁸ с N-концевым участком фрагмента.

Этап III. C^α-CO-Gly⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹-Gly¹⁰-NH₂ (III).

Рассматривались все структуры, соответствующие комбинациям стабильных конформаций монопептидов аминокислотных остатков; с учетом

упоминавшихся обстоятельств для первого остатка (Gly⁶) рассматривалась лишь форма *H*. Среди структур фрагмента Gly⁶-Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹, имеющих энергию $\Delta U \leq 10$ ккал/моль, оказались лишь четыре различных типа конформаций остова: *HBRR*, *HRBR*, *HBBB*, *HRBB*. Остаток Gly¹⁰ может принимать формы *B*, *R*, *L* и *H* для всех четырех типов остова: изменение конформационной энергии при этом не превышает 2 ккал/моль.

Конформационная подвижность фрагмента Pro⁹-Gly¹⁰-NH₂ почти не ограничена. Для группы структур остова типа *HBRRX* и *HRBRX* наиболее стабильной конформацией остатка Gly¹⁰ является форма *B*, форма *R* проигрывает ~ 1 ккал/моль, формы *L* и *H* — ~ 2 ккал/моль. В структурах с типом остова *HBBBX* наименьшей энергией характеризуется форма *H*; формы *B* и *L* уступают не более 0,5 ккал/моль, форма *R* — ~ 2 ккал/моль. Для структур с типом остова *HRBBX* также наиболее предпочтительна форма *H*, форма *B* уступает $\sim 0,4$ ккал/моль, формы *R* и *L* близки по стабильности, проигрывая ~ 2 ккал/моль.

Этап IV. Люлиберин. Схема расчета стабильных структур люлиберина включала в себя оценку энергии ближних взаимодействий ΔE во всех конформациях октапептида <Glu¹...Arg⁸-Pup на основе обсуждавшихся выше результатов расчета пентапептидов (I) и (II) и дипептида C^α-CO-Ala-Tyr-NH-C^α. Структуры, которым соответствовали значения ΔE менее 10 ккал/моль, использовались в качестве «стартовых» для минимизации внутримолекулярной энергии октапептида. В результате были отобраны 16 наиболее стабильных структур фрагмента <Glu¹...Arg⁸-Pup, представленные четырьмя типами конформаций пептидного остова: *BRRRBHBB*, *RBRVBHBB*, *BQQVBHBB* и *RBRRBHBB*. Введение в 4-е положение остатка серина вместо фигурировавшего до этого этапа расчета аламина практически не сказывалось на иерархии стабильностей внутри группы этих структур. Почти во всех этих структурах легко реализуются все три конформера бокового радикала серина; заметные стерические напряжения наблюдались лишь в трех случаях из 48.

Данные о стабильных конформациях N-концевого октапептида, C-концевого пентапептида и места их пересечения — фрагмента CH₃-CO-Gly⁶...Arg⁸-Pup использовались для оценок ΔE конформаций целой молекулы люлиберина.

Как и следовало ожидать, введение C-концевого фрагмента -CO-Gly¹⁰-NH₂ лишь незначительно повлияло на относительную стабильность конформаций, отобранных на уровне октапептида. Полученные в результате наиболее стабильные конформации молекулы люлиберина приведены в табл. 2 и на рис. 1.

На рис. 1 и в табл. 2 представлены три типа конформаций остова. Фрагмент Pro⁹-Gly¹⁰-NH₂ и в составе целой молекулы сохранил значительную конформационную подвижность: структуры с любой формой остатка Gly¹⁰ (*B*, *R*, *L*, *H*) сравнимы по стабильности. Это обстоятельство следует иметь в виду, поскольку в дальнейшем, говоря об основных типах конформаций остова молекулы люлиберина, мы будем приводить структуры с оптимальной конформацией Gly¹⁰, однако это выделение чаще всего будет осуществляться на основе выигрыша энергии порядка нескольких десятков ккал/моль. Рассмотрим вкратце три типа структур, представленных в табл. 2.

Структура 1 — *BV₃₁R₃₁R₂B₁₁₁HB₃₁B₃₁₁₂VH* — наиболее стабильная расчетная конформация. Форма *H* остатка Gly⁶ обуславливает изгиб в середине полипептидной цепи. Боковые радикалы остатков Trp³ и Tyr⁵ пространственно сближены; расстояние между плоскостями ароматических колец ~ 5 Å. Пироглутамат отстоит от бокового радикала Trp³ примерно на 5–6 Å. Боковая цепь His² оказывается отвернутой в сторону и взаимодействует с боковыми цепями трипептида Leu⁷-Arg⁸-Pro⁹. Кроме этого, гуанидиновая группа Arg⁸ пространственно сближена с боковым радикалом остатка Ser⁴.

Основной набор стабильных структур молекулы люлиберина

Остаток	Угол	Расчетные данные			Литературные данные [15]	
		I	II	III	AA	CC
<Glu	ψ	170,0	-36,0	143,0	173,0	137,0
	φ	-117,0	-135,0	-102,0	-87,6	-68,0
His	ψ	134,0	144,0	-10,0	87,1	-48,2
	χ_1	-50,0	175,0	65,0	-160,0	-157,4
Trp	χ_2	91,0	101,0	-107,0	-62,4	-56,8
	φ	-132,0	-137,0	100,0	-79,7	-123,9
Ser	ψ	-64,0	-51,0	-11,0	166,6	163,7
	χ_1	-39,0	-57,0	64,0	-60,2	-63,4
Tyr	χ_2	93,0	88,0	-96,0	-70,9	-75,4
	φ	-175,0	-144,0	-120,0	-74,2	-76,9
Gly	ψ	-43,0	169,0	134,0	94,6	95,3
	χ_1	-172,0	-176,0	-176,0	66,9	67,2
Leu	χ_2	99,0	90,0	90,0	50,6	50,2
	φ	-96,0	-100,0	-129,0	-79,7	-82,2
Arg	ψ	143,0	129,0	148,0	88,1	96,7
	χ_1	75,0	-66,0	-54,0	-54,8	-56,9
Pro	χ_2	92,0	96,0	95,0	122,0	-52,7
	χ_3	180,0	180,0	180,0	180,0	180,0
Gly-NH ₂	φ	72,0	96,0	88,0	80,8	79,8
	ψ	-70,0	-65,0	-68,0	-76,2	-91,4
Leu	φ	-114,0	-110,0	-118,0	-149,6	-138,7
	ψ	137,0	132,0	126,0	49,0	58,4
Arg	χ_1	-73,0	-163,0	162,0	-158,3	-161,9
	χ_2	92,0	88,0	89,0	86,0	86,2
Arg	φ	-126,0	-136,0	-129,0	-151,9	-152,2
	ψ	140,0	135,0	132,0	87,6	85,6
Pro	χ_1	-77,0	-74,0	-71,0	-164,6	-166,6
	χ_2	-172,0	170,0	175,0	165,9	-175,3
Gly-NH ₂	χ_3	178,0	-171,0	179,0	170,0	177,4
	χ_4	-91,0	90,0	96,0	-78,4	75,8
Pro	ψ	130,0	-40,0	-39,0	-17,5	-28,5
	φ	83,0	-93,0	-93,0	-159,5	-144,9
Gly-NH ₂	ψ	-67,0	66,0	65,0	152,6	142,5
	Энергия, ккал/моль	0	0,43	0,73		

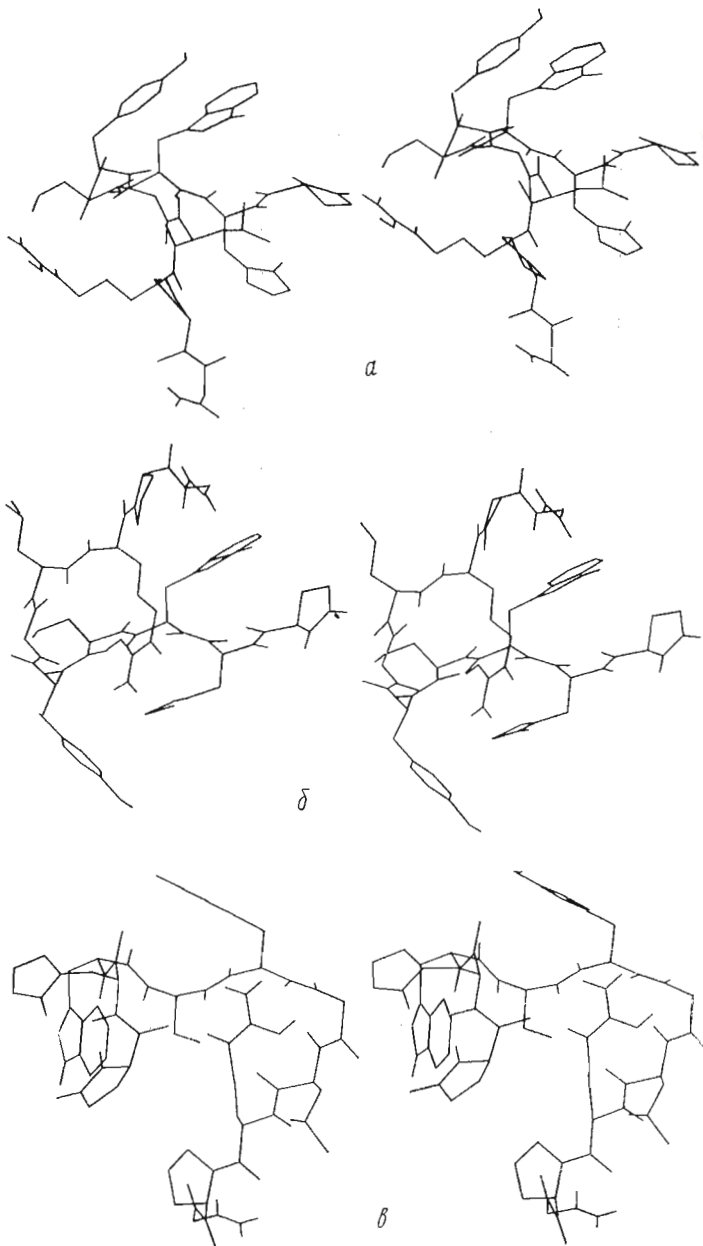
* Значения углов внутреннего вращения даны в градусах.

Следует отметить возможность образования сильной водородной связи между СО-группой остатка Tyr⁵ и NH-группой Leu⁷. Расстояние между атомами O...N составляет ~1,9 Å. Возможностей для образования других водородных связей в этой структуре нет.

Структура 2 — $RB_{21}R_{31}B_2B_{311}HB_{21}B_{311}RB$ — следующая по стабильности, проигрывает первой примерно 0,4 ккал/моль.

В этой конформации молекула менее компактна. Боковые радикалы остатка His², Tyr⁵ и Arg⁸ пространственно сближены и образуют компактную группу. Боковые цепи остальных аминокислотных остатков отвернуты в противоположную сторону. Водородных связей в этой структуре нет.

Структура 3 — $BQ_{12}Q_{12}B_2B_{311}HB_{21}B_{311}RB$ — имеет энергию 0,7 ккал/моль. Как и в предыдущей конформации, боковые цепи остатков His², Tyr⁵ и Arg⁸ пространственно сближены, хотя расстояния между ними несколько больше. Кроме того, плоскости колец остатка пироглутаминовой кислоты и бокового радикала Trp³ лежат почти параллельно друг другу на расстоянии около 4 Å. Две пары донорных и акцепторных групп сближены на расстояния, позволяющие образовать водородные связи: (His²)CO...HO(Tyr⁵), (<Glu¹)CO...NH⁶(Arg⁸).



Стереозображения наиболее стабильных конформаций молекулы
 лолиберина: $BB_{31}R_{31}R_2B_{111}HB_{31}B_{3112}BH$ (a). $RB_{21}R_{31}B_2B_{311}HB_{21}B_{3111}RB$
 (б) и $BQ_{12}Q_{12}B_2B_{311}HB_{21}B_{3111}RB$ (в)

В табл. 2 для сравнения приведены структуры, полученные Момани [15]. Представляя конформацию пептидного остова с точностью до окрестности локальных минимумов монопептидов (B , R , L , H), можно обнаружить, что обе структуры Момани мало отличаются от структуры 3: конформация CC отличается лишь формой остатка Trp^3 (B вместо R), конформация AA , помимо этого, — формой остатка His^2 (R вместо B). Однако различия в углах внутреннего вращения достигают многих десятков градусов; кроме того, существенно различается укладка боковых цепей. Минимизация энергии внутримолекулярных взаимодействий в ок-

Таблица 3

Оценки расстояний (R) между ароматическими группами остатков Trp³ и Tyr⁵

Расчетная структура	R , Å	Литературные данные	
		R , Å	источник
1	4,9	10–11	[29]
2	11,0	8,4	[32]
3	8,7	10	[34]
		10–12 *	[35]
		5 **	[35]

* Нейтральная и кислая среда.

** Щелочная среда.

рестности значений углов внутреннего вращения, соответствующих структурам AA и CC, показала, что они уступают самой стабильной структуре 1 около 20 ккал/моль.

Сравнение расчетных структур с данными физико-химического исследования связано со многими сложностями. В значительной степени это вызвано трудностью однозначной интерпретации спектральных данных, а в ряде случаев — ограниченным количеством экспериментального материала.

Спектроскопические исследования конформаций молекулы люлиберина в растворе позволяют предполагать ее значительную подвижность [27–29], однако есть указания и на тенденцию к образованию некоторых предпочтительных структур [30–32].

Наиболее интенсивно обсуждался вопрос о возможности стэкинг-взаимодействия между ароматическими группами остатков Trp³ и Tyr⁵. Эта гипотеза впервые была высказана еще в 1972 г. [33] и в большинстве последующих работ подтверждения не получила. В табл. 3 приводятся полученные различными авторами оценки расстояний между этими группами в сопоставлении с величинами, соответствующими расчетным структурам 1–3. Стэкинг-взаимодействие обсуждаемого типа реализуется лишь в одной из трех расчетных конформаций (структура 1). В работе [35] отмечается, что стэкинг ароматических групп Trp³... Tyr⁵ невозможен в случае существования β -изгиба второго типа в окрестности остатка Gly⁶; однако ряд косвенных доводов свидетельствует в пользу существования в этой области β -изгиба [32–36].

Шинитцкий и Фридкин [31] обнаружили, что величины pK имидазольной группы остатка His² и фенольной группы остатка Tyr⁵ смещены соответственно в щелочную и кислую сторону. На этом основании они предположили, что оба остатка расположены в непосредственной близости с гуанидиновой группой Arg⁸, локально подщелачивающей среду. Эта гипотеза в комбинации с некоторыми другими данными физико-химических исследований позволила авторам работы [31] предложить модель пространственной структуры люлиберина, в которой боковые радикалы остатков His², Tyr⁵ и Arg⁸ сближены, а индольное кольцо боковой цепи Trp³ отстоит на значительном расстоянии от них. Этим условиям удовлетворяют расчетные структуры 2 и 3.

В отношении возможности существования в молекуле люлиберина внутримолекулярных водородных связей высказывались самые различные суждения, в разной степени оправдываемые экспериментальными наблюдениями. В работах [28, 29] высказано предположение об отсутствии водородных связей; по другим данным вероятно образование связей (Ser⁴)NH...OC(Leu⁷) [36], (Ser⁴)NH...OC(His²) [34], (Ser⁴)OⁿH...OC(<Glu¹) [25], (Tyr⁵)OⁿH...N⁶(His²) [32].

В расчетных структурах соответствующие донорные и акцепторные группы значительно удалены друг от друга; расстояние X...H менее 3 Å наблюдается лишь в случае пары (Ser⁴)NH...OC(Leu⁷) в структуре 1, менее 4 Å — в парах (Ser⁴)NH...OC(Leu⁷) и (Ser⁴)NH...OC(His²) — в структурах 2 и 3 соответственно.

Гудмен с сотрудниками в серии работ [32, 36–38] исследовал вопрос о форме гипотетического изгиба в центральной части молекулы. Для проверки гипотезы о попарном сближении остатков Trp³ и Arg⁸, а также Ser⁴ и Leu⁷, выдвинутой ими на основании некоторых результатов спектральных исследований, они осуществили синтез циклического аналога — [Glu⁴, D-Ala⁶, Orn⁷]люлиберина. Оказалось, однако, что такая модификация ведет к значительному нарушению пространственной структуры; полученный аналог по спектральным характеристикам резко отличается от нативного гормона. Среди расчетных структур, описанных выше, две (2 и 3) допускают замыкание подобного цикла без существенных деформаций.

В заключение следует отметить, что представление о существовании в растворе сравнимых по стабильности структур 1–3 не противоречит большинству предположений, высказывавшихся в связи с анализом данных физико-химического исследования. Подчеркнем, что речь идет именно о предположениях, базирующихся на весьма косвенных и неоднозначных аргументах. Лучше всего согласуются с совокупностью высказывавшихся гипотез структуры 2 и 3.

Некоторые суждения о пространственной структуре молекулы люлиберина могут быть сделаны на основании данных о биологической активности его аналогов; к настоящему времени их синтезировано около 700 [39, 40]. Многие из них получены за счет модификаций, в той или иной мере ограничивающих конформационную свободу молекулы.

Как известно из расчета, а также из данных рентгеноструктурного анализа белков [24, 41], только в случае глицилового остатка могут свободно реализоваться все четыре основных типа конформации остова — *B*, *R*, *L*, *H*. Остатки прочих «белковых» аминокислот (за исключением пролина) могут пребывать лишь в первых трех формах, конформация *H* является в этом случае стерически напряженной. Конформационные возможности остатка пролина, у которого угол φ фиксирован приблизительно при -60°, ограничены формами *B* и *R*. Сказанное относится к остаткам *L*-конфигурации; для непролиновых *D*-остатков разрешенными формами являются *R*, *L*, *H*, для *D*-пролина — *H* и *L*. Далее, у неглициновых остатков, предшествующих в полипептидной цепи *L*- или *D*-пролину, оказывается стерически напряженной конформация типа *R*, так что свободно могут реализоваться лишь формы *B* и *L* [42]. Аналогичные ограничения накладывает введение вместо пролина остатков *N*-метиламинокислот [43], которые в свою очередь могут принимать конформации типа *B*; *L* или *H* [44].

Таким образом, данные о биологической активности аналогов, полученные изменением конфигурации какого-либо остатка, введением в пептидную цепь остатков пролина или *N*-метиламинокислот, являются источником информации о том, какая конформация соответствующего остатка необходима для проявления биологической активности пептида. Точнее, речь идет о способности пептидного лиганда связываться с соответствующим рецептором, т. е. «активными» полагаются аналоги, представляющие собой эффективные агонисты или антагонисты. Очевидно, что если модификация, исключая возможность пребывания остатка в некоторых формах, не сказывается на активности аналога, соответствующие формы не характерны для «биологически активной» конформации молекулы, обеспечивающей связывание с рецептором. Наоборот, утрата активности может свидетельствовать о том, что какая-то из форм, оказавшаяся стериче-

ски запрещенной в результате модификации, реализуется в молекуле при образовании гормон-рецепторного комплекса. По-видимому, в последнем случае надо также считаться с иными причинами утраты активности — например, с изменением природы или пространственной ориентации бокового радикала.

Рассмотрим с этой точки зрения вероятные особенности «биологически активной» конформации молекулы люлиберина в сопоставлении с результатами расчета ее стабильных конформаций. Данные о биологической активности конформационно ограниченных аналогов люлиберина приведены в табл. 4 вместе с указанием вызываемых каждой модификацией изменений локальных стерических условий соответствующих остатков.

Отметим следующее обстоятельство. Анализ данных о биологической активности аналогов люлиберина вполне однозначно указывает на то, что три первых остатка — $\langle \text{Glu}^1, \text{His}^2 \text{ и } \text{Trp}^3 \rangle$ — играют важную роль в генерировании «вторичного сигнала»; аналоги, в которых природа боковых цепей этих остатков существенно изменена, оказываются сильными антагонистами [39]. Боковые цепи других остатков не представляются столь существенными для проявления активности в составе комплекса «гормон — рецептор». Поэтому отсутствие рилизинговой активности у аналогов, содержащих *D*-аминокислотные остатки в положениях 1—3, не может служить достаточным основанием для утверждения об отсутствии связывания с рецептором; необходимо еще выяснить, не являются ли они антагонистами. В отношении прочих остатков эта предосторожность, по-видимому, не является обязательной.

Существующие данные об эффекте модификации стерических условий первого остатка — $\langle \text{Glu}^1 \rangle$ — не позволяют сделать какое-либо заключение о наиболее вероятной его конформации в молекуле люлиберина, образовавшей комплекс с рецептором. Во-первых, разные авторы приводят оценки активности аналога [*D*- $\langle \text{Glu}^1 \rangle$] люлиберина, различающиеся почти на порядок — 1 и 8%; во-вторых, остатки *L*- $\langle \text{Glu} \rangle$ и *D*- $\langle \text{Glu} \rangle$ не имеют общих конформаций. По-видимому, сравнительно высокая активность аналога [*D*- $\langle \text{Glu}^1 \rangle$] люлиберина (если иметь в виду вторую оценку) может быть объяснена тем обстоятельством, что пространственное положение карбонильной группы остатка пироглутаминовой кислоты, ответственной за проявление биологической активности [45], сравнительно мало изменится по отношению к остальной части молекулы.

Аналог [*D*- His^2] люлиберин обладает заметной рилизинговой активностью; помимо этого, аналоги вида [*D*- $\text{Phe}^2, \text{X}^3, \text{Y}^6$] люлиберин являются сильными антагонистами люлиберина. Это означает, что в «биологически активной» конформации этот остаток не может пребывать в форме *B*. Поскольку же антагонистом оказываются также аналоги [*D*- $\text{Phe}^2, \text{Pro}^3, \text{X}^6$] люлиберин (исключается форма *L*), необходимая для проявления биологической активности конформация остатка His^2 определяется совершенно однозначно — это форма *R*. Эта конформация реализуется в расчетной структуре 3.

Конформация остатка Trp^3 в «биологически активной» структуре может быть установлена на основании данных испытания биологической активности аналогов: [*D*- $\text{Phe}^2, \text{D-X}^3, \text{Y}^6$] люлиберина и [*D*- $\text{Phe}^2, \text{Pro}^3, \text{X}^6$] люлиберина. Они являются антагонистами; аналоги первого типа исключают возможность реализации в «биологически активной» конформации формы *B*, второго — формы *L*. Таким образом, наиболее вероятная форма *R*, что имеет место во всех трех расчетных структурах.

Заключение о наиболее вероятной конформации остатка Ser^4 можно сделать, сравнивая данные, относящиеся к аналогам [$\text{Phe}^3, \text{D-Ala}^4, (\text{NHEt}^{10})$] люлиберину и [$\text{Phe}^3, \text{Ala}^4, (\text{NHEt}^{10})$] люлиберину. Первый из них весьма малоактивен, второй обладает заметной активностью; такое сочетание указывает на форму *B*, присущую расчетным структурам 2 и 3.

Аналоги [$\text{Sar}^6, \text{AzGly}^{10}$] люлиберин и [*D*- Pro^6] люлиберин, в которых не

Конформационно ограниченные аналоги люлиберина и соответствующие изменения конформационных возможностей отдельных аминокислотных остатков

Остаток	Аналог	Рилизинговая активность, %	Литературный источник	Возможные конформации в			Расчетные структуры		
				молекуле аналога	молекуле люлиберина	составе гормон-рецепторного комплекса	1	2	3
Glu ¹	<i>D</i> -<Glu ¹	8,0	[45]	<i>H, L</i>	<i>B, R</i>	?	<i>B</i>	<i>R</i>	<i>B</i>
	<i>D</i> -<Glu ¹	1,0	[26]						
His ²	<i>D</i> -His ²	9,0	[26]	<i>H, L, R</i>	<i>B, R, L</i>	<i>R</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>R</i>*
	Серия аналогов <i>D</i> -Phe ² , X ³ , Y ⁶	Сильные антагонисты	[39]	<i>H, L, R</i>					
Trp ³	<i>D</i> -Phe ² , Pro ³ , X ⁶	Антагонист	[39]	<i>R, H</i>					
	<i>D</i> -Phe ² , <i>D</i> -Trp ³ , Y ⁶	Антагонист	[39]	<i>H, R, L</i>	<i>B, R, L</i>	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>R</i>	<i>R</i>
	<i>D</i> -Phe ² , Pro ³ , X ⁶ <i>D</i> -Phe ² , <i>D</i> -Pro ³ , X ⁶	Неактивен		<i>B, R</i> <i>H, L</i>					
Ser ⁴	Phe ³ , <i>D</i> -Ala ⁴ , (NH ₂) ¹⁰	0,3	[45]	<i>H, R, L</i>	<i>B, R, L</i>	<i>B</i>	<i>R</i>	<i>B</i>	<i>B</i>
	Phe ³ , Ala ⁴ , (NH ₂) ¹⁰	8	[45]	<i>B, R, L</i>					
Tyr ⁵	Ser ⁶ , Azgly ¹⁰	25-50	[46]		<i>B, R, L</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>B</i>
	<i>D</i> -Pro ⁶	33	[26]	<i>B, L</i>					
Gly ⁶	<i>D</i> -Tyr ⁵	0,1	[26]	<i>H, R, L</i>					
	<i>D</i> -Ala ³	300		<i>H, L, R</i>	<i>B, R, L, H</i>	<i>H</i>	<i>H</i>	<i>H</i>	<i>H</i>
	Pro ³	1,5	[26]	<i>B, R</i>					
	<i>D</i> -Pro ³ <i>D</i> -Ala ⁶ , MeLeu ⁷	33 102		<i>H, L</i>					
Leu ⁷	<i>D</i> -Leu ⁷	1,0	[26]	<i>B, R, L</i>	<i>B, R, L</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>B</i>
Arg ⁸	<i>D</i> -Arg ⁸	0,3	[26]	<i>H, R, L</i>	<i>B, R, L</i>				
	<i>D</i> -Leu ⁶ , <i>D</i> -Arg ⁸	1,0	[47]	<i>H, R, L</i>					

* Жирным шрифтом выделены случаи совпадения расчетных конформаций и конформаций, предсказанных на основании данных о биологической активности.

может реализоваться форма *R* остатка Tyr⁵, обнаруживают заметную рилизинговую активность, аналог [*D*-Tyr⁵]люлиберин (запрещена форма *B*) неактивен. В этом случае также наиболее вероятной представляется конформация типа *B*.

Аналоги с измененными стерическими условиями остатка, находящегося в шестом положении, исследовались наиболее детально. Чрезвычайно высокая активность аналогов, полученных введением в положение 6 *D*-аминокислот (до 10 000% у [*D*-Trp⁶]люлиберина), исключает реализацию в «биологически активной» конформации формы типа *B*, заметная активность аналога [*D*-Pro⁶]люлиберина и низкая активность [*L*-Pro⁶]люлиберина указывает на невозможность формы *R*. Наконец, 100% активностью обладает аналог [*D*-Ala⁶, MeLeu⁷]люлиберин, в котором не допускается реализация формы *L*. Следовательно, наиболее вероятна форма *H*.

Весьма мало активными оказались аналоги [*D*-Leu⁷]люлиберин, [*D*-Arg⁸]люлиберин и [*D*-Leu⁶, *D*-Arg⁸]люлиберин; это указывает на форму *B* как на наиболее вероятную для остатков Leu⁷ и Arg⁸. В настоящее время отсутствуют данные о конформационно ограниченных аналогах,

которые могли бы быть использованы для суждения о конформации С-концевой части молекулы — $\text{Pro}^9\text{-Gly}^{10}\text{-NH}_2$.

Конформация фрагмента $\text{Tyr}^5\text{-Arg}^8$, предсказываемая на основании данных о биологической активности конформационно ограниченных аналогов, совпадает с конформацией этого фрагмента во всех трех расчетных структурах. Расчетная структура 3 полностью согласуется со всеми полученными предсказаниями и, по-видимому, наиболее близка «биологически активной» конформации.

Определенное представление о «биологически активной» конформации молекулы люлиберина дают также результаты биологического тестирования конформационно ограниченных аналогов иного типа — циклоаналогов.

Циклический аналог $[\text{Glu}^4, D\text{-Ala}^6, \text{Orn}^7]$ люлиберин, синтезированный Гудмэном с сотр. [38], оказался неактивным, так же как нециклический пептид $[\text{Gln}^4, D\text{-Ala}^6, \text{Orn}(\text{Ac})^7]$ люлиберин. Последнее обстоятельство, как считают авторы, не позволяет однозначно отнестись к отсутствию активности у циклоаналога на счет изменения пространственной структуры. Следует, однако, считаться с возможностью утраты активности линейным соединением из-за появления более громоздких боковых радикалов в 4-м и 7-м положениях. Согласно данным работы [48], аналог $[\text{Glu}^4]$ люлиберин имеет активность 8%. Расчетные структуры 2 и 3 допускают образование рассмотренного цикла.

Циклические аналоги иного вида, $[\text{cyclo}(\beta\text{Ala}^1, D\text{-Ala}^6, \text{Gly}^{10})]$ люлиберин и $[\text{cyclo}(\beta\text{-аминокапроат})^1, D\text{-Ala}^6, \text{Gly}^{10}]$ люлиберин, обнаружили незначительную, но достоверно регистрируемую активность [18]. Подобного рода циклизацию с учетом значительной конформационной подвижности С-концевого фрагмента $\text{Pro}^9\text{-Gly}^{10}\text{-NH}_2$ допускают все три расчетные структуры.

Вопрос о характере биологической активности двух последних циклоаналогов нуждается, по-видимому, в дополнительном изучении. В частности, известно, что любая модификация первого остатка сильно сказывается на рилизинговой активности (линейные аналоги $[\beta\text{-Ala}^1, D\text{-Ala}^6]$ люлиберин и $[(\beta\text{-аминокапроат})^1, \text{Ala}^6]$ люлиберин оказались полностью неактивными). Можно ожидать, что дальнейшая детализация представлений о пространственных требованиях, предъявляемых рецептором люлиберина к конформации гормона, будет внесена в результате исследования конкурентных отношений обоих циклоаналогов с нативным пептидом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chipens G., Mutulis F., Galaktionov S. G. Recognition of peptidic hormones and kinins: molecular aspects of the problem.— In: Frontiers of bioorganic chemistry and molecular biology. Oxford—New York: Pergamon Press, 1980, p. 99—103.
2. Ivanov V. T., Filatova M. P., Reissmann Z., Reutova T. O., Efremov E. S., Pashkov V. G., Galaktionov S. G., Grigorian G. L., Ovchinnikov Yu. A. The solution conformation of bradykinin.— In: Peptides: chemistry, structure, biology. Ann Arbor: Ann Arbor Sci., 1975, p. 151—157.
3. Иванов В. Т., Филатова М. П., Рейссманн З., Реугова Т. О., Чехляева Н. М. Конформационные состояния брадикинина и его аналогов в растворах. I. Спектры кругового дихроизма.— Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 9, с. 1157—1168.
4. Ефремов Е. С., Филатова М. П., Реугова Т. О., Степанова Л. Н., Рейссманн З., Иванов В. Т. Конформационные состояния брадикинина и его аналогов в растворах. II. Спектры флуоресценции.— Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 9, с. 1169—1180.
5. Филатова М. П., Рейссманн З., Реугова Т. О., Иванов В. Т., Григорян Г. Л., Шапиро А. М., Розанцев Э. Г. Конформационные состояния брадикинина в растворах. III. Спектры ЭПР спин-меченных аналогов.— Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 9, с. 1181—1189.
6. Галактионов С. Г., Шерман С. А., Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Леонова В. И. Конформационные состояния молекулы брадикинина в растворе. Расчет стабильных конформаций.— Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 9, с. 1190—1197.
7. Никифорович Г. В. Расчет стабильных конформаций молекулы туфтсияна.— Биоорг. химия, 1978, т. 4, № 10, с. 1427—1430.

8. *Chipens G. I., Nikiforovich G. V., Mutulis F. K., Veretennikova N. I., Vosekalna I. A., Sosnov A. V., Liepinsh E. E., Sekasis J. P., Breslav M. S.* Cyclic analogs of linear peptides.— In: Abstracts VI Amer. Pept. Symp. Washington D. C.: Georgetown University, 1979, p. 75.
9. *Galaktionov S. G., Nikiforovich G. V., Shenderovich M. D., Chipens G. I., Vegner R. E.* Three-dimensional structure of angiotensin II.— In: Peptides — 1976. Proc. 14-th Eur. Pept. Symp. Bruxelles: Edition de l'Universite de Bruxelles, 1976, p. 617—624.
10. *Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Галактионов С. Г., Чипенс Г. И.* Структурные аспекты функциональной активности пептидного гормона ангиотензина. I. Конформации молекулы ангиотензина в водном растворе.— Биоорганик. химия, 1978, т. 4, № 3, с. 318—339.
11. *Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Чипенс Г. И., Шендерович М. Д.* Ангиотензин. Рига: Зинатне, 1979, с. 88—112.
12. *Balodis Yu. Yu., Nikiforovich G. V., Grunsteine I. V., Vegner R. E., Chipens G. I.* Enkefalin: structure — function relationship.— FEBS Lett., 1978, v. 86, p. 239—242.
13. *Burgess A. W., Momany F. A., Scheraga H. A.* Conformational analysis of thyrotropin releasing factor.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1973, v. 70, № 5, p. 1456—1460.
14. *Ахрем А. А., Голубович В. П., Кириарский Л. И., Родионов М. А.* Теоретический конформационный анализ молекулы тиреолиберина.— Тезисы докладов IV Всесоюзного симпозиума по химии белков и пептидов. Минск, 1977, с. 38.
15. *Momany F. A.* Conformational energy analysis of the molecule, luteinizing hormone-releasing hormone. 1. Native decapeptide.— J. Amer. Chem. Soc., 1976, v. 98, p. 2990—2996.
16. *Momany F. A.* Conformational energy analysis of molecule, luteinizing hormone-releasing hormone. 2. Tetrapeptide and decapeptide analogs.— J. Amer. Chem. Soc., 1976, v. 98, p. 2996—3000.
17. *Momany F. A.* Conformational analysis of the molecule luteinizing hormone-releasing hormone. 3. Analogue inhibitors and antagonists.— J. Med. Chem., 1977, v. 21, p. 63—68.
18. *Seprodi J., Coy D. H., Vilchez-Martinez J. A., Pedroza E., Huang W. Y., Schally A. V.* Cyclic analogs of luteinizing hormone-releasing hormone with significant biological activities.— J. Med. Chem., 1978, v. 21, № 9, p. 993—995.
19. *Ахрем А. А., Голубович В. П., Кириарский Л. И., Галактионов С. Г.* Расчет стабильных конформаций молекулы люлиберина.— Биоорганик. химия, 1978, т. 4, № 6, с. 838—840.
20. *Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Перельман Т. Л.* Диффузия в сложных молекулярных структурах. Минск: Наука и техника, 1974, с. 82—106.
21. *Ахрем А. А., Голубович В. П., Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Шерман С. А.* Исследование конформационной подвижности дипептидных единиц 20 аминокислотных остатков.— Изв. АН БССР. Сер. хим. наук, 1976, № 5, с. 83—92.
22. *Nikiforovich G. V., Leonova V. I., Galaktionov S. G., Chipens G. I.* Theoretical conformational analysis of oxytocin molecule.— Int. J. Peptide Protein Res., 1979, v. 13, № 4, p. 363—373.
23. *Humphries J., Wan Y.-P., Fisher G., Folkers K., Bowers C. Y.* Acidic analogs of the luteinizing hormone-releasing hormone and conformational aspects for activity.— Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1974, v. 57, № 3, p. 675—682.
24. *Deslauriers R., Levy G. C., McGregor W. H., Sarantakis D., Smith I. C. P.* Conformational flexibility of luteinizing hormone-releasing hormone in aqueous solution. A carbon-13 spin-lattice relaxation time study.— Biochemistry, 1975, v. 14, p. 4335—4343.
25. *Галактионов С. Г., Перельман Т. Л., Розина К. А., Цейгин В. М.* К расчету ближних внутримолекулярных взаимодействий в полимерах.— Инж.-физ. ж., 1974, т. 26, с. 1098—1104.
26. *Ахрем А. А., Маркевич В. П., Поддубная Н. А.* Выделение, синтез и биологическая активность рилизинг-гормона гипоталамуса — люлиберина и его аналогов.— Изв. АН БССР. Сер. хим. наук, 1978, № 3, с. 70—91.
27. *Wessels P. L., Feeney J., Gregory H., Gormley J. J.* High resolution nuclear magnetic resonance studies of the conformation of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and its component peptides.— J. Chem. Soc. Perkin Trans II, 1973, № 12, p. 1691—1698.
28. *Mabrey S., Klotz I. M.* Conformation of gonadotropin releasing hormone.— Biochemistry, 1976, v. 15, p. 234—242.
29. *Deslauriers R., Somorjai R. L.* Internal rotations of side chains and backbone in luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH). Analysis of carbon-13 spin-lattice relaxation times.— J. Amer. Chem. Soc., 1976, v. 98, № 7, p. 1931—1939.
30. *Marche P., Morgat J. L., Fromageot P.* Solvent effects on luteinizing and follicle-stimulating hormone-releasing factor polymorphism studied by circular dichroism.— Eur. J. Biochem., 1973, v. 40, p. 513—518.
31. *Shintzky M., Fridkin M.* Structural features of luliberin (luteinizing hormone-re-

- leasing factor) inferred from fluorescence measurements.—*Biochim. et biophys. acta*, 1976, v. 434, p. 137–143.
32. Donzel B., Sakarellos C., Goodman M. Study of the conformational and dynamic properties of the luteinizing hormone-releasing factor and various analogs using intramolecular charge transfer complexes.—In: *Peptides. Proc. V-th Amer. Pept. Symp.* N. Y.: J. Wiley & sons, 1977, p. 171–175.
 33. Chang J. K., Williams R. H., Humphries J., Johansson N. G., Folkers K., Bowers C. Y. Luteinizing releasing hormone, synthesis and Arg⁸-analog and conformation-sequene-activity relations.—*Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1972, v. 47, p. 727–732.
 34. Marche P., Montenay-Gariestier T., Fromageot P., Helene C. Conformational characteristic of luliberin. Luminescence properties at liquid-nitrogen temperature.—*Biochemistry*, 1976, v. 15, p. 5738–5743.
 35. Monahan M. W., Amoss M. S., Anderson H. A., Vale W. Synthesis analogs of the hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone factor with increased agonist or antagonist properties.—*Biochemistry*, 1973, v. 12, p. 4616–4620.
 36. Donzel B., Rivier J. E. P., Goodman M. Study of the secondary structure of the luteinizing hormone releasing factor using intermolecular charge transfer complexes.—*Biochemistry*, 1977, v. 16, p. 2611–2618.
 37. Donzel B., Gilon C., Blagdon D., Erisman M., Burnier J., Goodman M., Rivier J., Monahan M. Conformational studies on the luteinizing hormone releasing factor (LRF) and related compounds.—In: *Peptides: chemistry, structure, biology.* Ann Arbor: Ann Arbor Sci., 1975, p. 165–173.
 38. Donzel B., Rivier J., Goodman M. Synthesis of a cyclic analog of the luteinizing hormone releasing factor: [Glu⁴, D-Ala⁶, Orn⁷] LRF.—*Biopolymers*, 1977, v. 16, p. 2587–2590.
 39. Coy D., Schally A. V. Structure-function studies on LRF.—*Ann. Clin. Res.*, 1978, v. 10, p. 139–144.
 40. Prasad K. U., Weill F. L., Vilchez-Martinez J. A., Rocske R. W., Schally A. V. Structure-activity relationships in luteinizing hormone-releasing hormone.—*J. Med. Chem.*, 1976, v. 19, p. 492–495.
 41. Zimmerman S. S., Shipman L. L., Scheraga H. A. Bends in globular proteins. A statistical mechanical analysis of the conformational space of dipeptides and proteins.—*J. Phys. Chem.*, 1977, v. 81, p. 614–622.
 42. Ахрем А. А., Голубович В. П., Курнарский Л. И., Никифорович Г. В., Шерман С. А., Шендерович М. Д., Галактионов С. Г., Цейгин В. М. Конформации аминокислотных остатков, предшествующих пролину в полипептидной цепи.—*Докл. АН БССР*, 1977, т. 21, № 1, с. 38–41.
 43. Mark J. E., Goodman M. Conformation aspects of polypeptide structure. XXI. Helical poly-N-methyl-L-alanine-theoretical results.—*Biopolymers*, 1967, v. 5, p. 809–814.
 44. Иванов В. Т., Костецкий П. В., Мещерякова Е. А., Ефремов Е. С., Попов Е. М., Овчинников Ю. А. Конформационные состояния метиламидов N-ацетил-L-аминокислот и их N-метильных производных. V. Ультрафиолетовые спектры. Кривые кругового дихроизма и дисперсии оптического вращения.—*Химия природных соединений*, 1973, № 3, с. 363–377.
 45. Beddell C. R., Frazer P. J., Gilbert D., Goodford P. J., Lowe L. A., Wilkinson S. Pseudosymmetry in the structure of luteinizing hormone-releasing hormone. Series of novel analogs.—*J. Med. Chem.*, 1975, v. 18, p. 417–423.
 46. Dutta A. S., Furr B. J. A., Giles M. B., Valcaccia B. Synthesis and biological activity of highly active L-aza analogs of luliberin.—*J. Med. Chem.*, 1978, v. 21, p. 1018–1024.
 47. Heber D., Odell W. D. Pituitary receptor binding activity of active, inactive, superactive and inhibitory analogs of gonadotropin-releasing hormone.—*Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1978, v. 82, p. 67–73.
 48. Fujino M., Kobayashi S., Obayashi M., Fukuda T., Kitada C., Nakayama R., Yamazaki Y., White W. F., Rippel R. H. Structure-activity relations in the C-terminal part of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH).—*Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1972, v. 49, p. 863–869.

Поступила в редакцию 18.XI.1980

SPATIAL STRUCTURE OF LULIBERIN

GOLUBOVICH V. P., KIRNARSKY L. I., AKHREM A. A., GALAKTIONOV S. G.

*Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the
Byelorussian SSR, Minsk; Minsk Branch of VNIIGenetica, Minsk*

Empirical energy calculations were used to determine all low-energy conformations of luliberin and three most stable conformations were distinguished. The calculation results were examined against the background of physico-chemical data. Biological testing of conformationally restricted luliberin analogs allowed to delineate the most probable conformations for the individual residues of the molecule. The results are in good accord with computation and their validity is confirmed by appreciable biological activity shown by a number of synthetic cyclic analogs of luliberin.