



УДК 547.962 : 541.63

© 1990 г.

Н. А. Ахмедов, Н. М. Годжаев, Е. В. Сулейманова,  
Е. М. Попов \*

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ  
[Met] ЭНКЕФАЛИНА И ЭНДОРФИНОВ

III \*. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ  $\beta$ -ЭНДОРФИНА

Азербайджанский государственный университет им. С. М. Кирова, Баку;  
\* Всесоюзный заочный институт пищевой промышленности, Москва

На основании теоретического конформационного анализа перекрывающихся фрагментов исследованы структурная организация и конформационные свойства молекулы  $\beta$ -эндорфина. Показано, что пространственное строение  $\beta$ -эндорфина может быть описано девятью низкоэнергетическими конформациями. Найдены значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий.

В настоящем сообщении мы завершаем начатое нами ранее [1, 2] краткое изложение результатов исследования пространственного строения и конформационных возможностей молекулы  $\beta$ -эндорфина на основании ее аминокислотной последовательности: Tyr<sup>1</sup>-Gly-Gly-Phe-Met<sup>5</sup>-Thr-Ser-  
Glu-Lys-Ser<sup>10</sup>-Gln-Thr-Pro-Leu-Val<sup>15</sup>-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala<sup>20</sup>-Ile-Ile-Lys-Asn-  
Ala-His-Lys-Lys-Gly-Gln<sup>30</sup>.

Заключительная часть конформационного анализа  $\beta$ -эндорфина включает в себя большое число промежуточных стадий. После получения структурных данных, касающихся  $\delta$ -эндорфина, были изучены конформационные возможности пептидного фрагмента Tyr<sup>1</sup> — Ala<sup>21</sup>. Расчет последнего предпринят на основе результатов анализа  $\delta$ -эндорфина и гексапептидного участка Thr<sup>16</sup> — Ala<sup>21</sup>, перекрывающихся по четырем аминокислотным остаткам. Исходные структурные варианты формировали из 20 конформационных состояний [Met]эндорфина с  $\Delta E \leq 10,0$  ккал/моль и низкоэнергетических состояний 14 шейпов пептидного скелета Thr<sup>16</sup> — Ala<sup>21</sup> и  $\Delta E \leq 5,0$  ккал/моль. Всего было составлено 72 начальных приближения. После минимизации энергии в энергетический интервал 0—5,0 ккал/моль попали шесть конформаций, из которых четыре ( $\Delta E \leq 0$ ; 2,6; 3,6 и 3,7 ккал/моль), имеющих на участке Met<sup>5</sup> — Pro<sup>13</sup> жесткую нуклеацию типа *effffffe*, составляют группу А, а две ( $\Delta E = 2,9$  и 4,0 ккал/моль) с нуклеацией на том же участке типа *fffffffe* — В. В интервале 0—10,0 ккал/моль находятся соответственно 20 конформаций первой группы и 8 второй (табл. 1). Все они включены в конформационный анализ фрагмента Tyr<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup>.

Исследование пространственного строения пентакозапептидного участка  $\beta$ -эндорфина потребовало предварительного анализа конформационных возможностей ряда более коротких фрагментов (Lys<sup>19</sup> — Ile<sup>23</sup>, Ile<sup>22</sup> — Asn<sup>25</sup>, Lys<sup>19</sup> — Asn<sup>25</sup>). Рассмотрение пентапептида 19—23 и тетрапептида 22—25 показало, что оба фрагмента в изолированном состоя-

\* Сообщения I, II см. [1, 2].

Энергетическое распределение оптимальных конформаций фрагмента  
 Тур<sup>1</sup>-Ала<sup>21</sup> β-эндорфина

Кон- форма- ция	Шейп	Е, ккал/ моль
A <sub>1</sub>	e f f e	e e-f f 8,6
A <sub>2</sub>		f e-e f 9,8
A <sub>3</sub>		e e-f f 7,2
A <sub>4</sub>		e e f 9,5
A <sub>5</sub>		f e-e f 8,9
A <sub>6</sub>		f f 8,1
A <sub>7</sub>	e f f f	e e f 8,5
A <sub>8</sub>		e e e 9,0
A <sub>9</sub>		f e 9,1
A <sub>10</sub>	e f f f f f f e	f f 0
A <sub>11</sub>		e f 2,6
A <sub>12</sub>		e e 3,6
A <sub>13</sub>		f e 3,7
A <sub>14</sub>		f f e e 5,2
A <sub>15</sub>		f f e 8,1
A <sub>16</sub>		e e-f f 9,9
A <sub>17</sub>	f f f f	e e 5,4
A <sub>18</sub>		f e-e f 5,7
A <sub>19</sub>		f e 9,2
A <sub>20</sub>		f f-e e 7,1
B <sub>1</sub>		f f 8,4
B <sub>2</sub>		e e-e e 9,7
B <sub>3</sub>		e f 9,7
B <sub>4</sub>	f f f f - f f f f f f e - e f f f	e f 2,9
B <sub>5</sub>		f e-e e 4,0
B <sub>6</sub>		f e 7,9
B <sub>7</sub>		e e 6,2
B <sub>8</sub>		f f 9,7

нии обладают значительной конформационной свободой. Набор исходных приближений гептапептида Lys<sup>19</sup> — Asn<sup>25</sup> составил 311 структурных вариантов 43 шейпов пептидного скелета. Хотя последующая минимизация и не выявила существенной дифференциации структур по энергии, полученные результаты сделали реальным конформационный анализ более сложного фрагмента. В интервал 0—6,0 ккал/моль попало около 100 конформационных состояний 17 шейпов гептапептида Lys<sup>19</sup> — Asn<sup>25</sup>. Все они вместе с 28 оптимальными конформациями фрагмента Тур<sup>1</sup> — Ала<sup>21</sup> были включены в исследование структуры пентакозапептида. С учетом комплементарности состояний трех перекрывающихся остатков было составлено 114 структурных вариантов участка Тур<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup>. Минимизация привела к результатам, свидетельствующим о дальнейшей энергетической дифференциации структур с увеличением длины цепи. Так, по мере приближения рассматриваемой последовательности к β-эндорфину N-концевой пентапептидный фрагмент Тур<sup>1</sup> — Met<sup>5</sup> все больше теряет конформационную подвижность. В наиболее низкоэнергетических кон-

С'-фрагмента (Tyr<sup>1</sup>-His<sup>27</sup>)-β-эндорфина

Кон- форма- ция	Ш е й л ы																											E, ккал/ моль
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
A <sub>1</sub>																		f	e	f	e	f	e	e	e	f	0	
A <sub>2</sub>																		f	e	e				e	f	f	1,8	
A <sub>3</sub>																		f	e	e	f			e	f	e	5,0	
A <sub>4</sub>																		f	e	e	f	f		e	e	f	5,4	
A <sub>5</sub>																		f	e	e				e	e	e	6,4	
A <sub>6</sub>																		f	e	e				e	e	e	4,0	
A <sub>7</sub>	e	f	f	f	e	f	f	f	f	f	f	e	e	f	f	f	f	f	e	e	f	f	e	e	e	f	4,1	
A <sub>8</sub>																		f	e	e				e	f	f	4,9	
A <sub>9</sub>																		f	e	e	e	f		e	f	e	5,9	
A <sub>10</sub>																		e	e					e	f	f	7,7	
A <sub>11</sub>																		e	e					e	e	f	9,4	
A <sub>12</sub>																		e	e					e	f	e	9,9	
A <sub>13</sub>																		f	e	f	f	e	e	f	e	f	8,0	
A <sub>14</sub>																		f	e	f	f	e	e	f	e	f	8,9	
B <sub>1</sub>																		f	e	f	f	e	e	f	e	e	1,5	
B <sub>2</sub>																		f	e	f	f	e	e	f	e	e	6,7	

формациях пентакозапептида Tyr<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup> группы А энкефалиновый участок представлен единственной структурой типа *efff*, глобальной для свободной молекулы [Met]энкефалина. Лучшая структура фрагмента Tyr<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup> на N-концевом участке идентична конформации A<sub>4</sub> γ-эндорфина (ΔE = 5,3 ккал/моль) и глобальной конформации δ-эндорфина A<sub>1</sub> (ΔE = 0).

Для дальнейшего расчета были оставлены 44 оптимальные конформации фрагмента Tyr<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup>, относительная энергия которых не превышала 10,0 ккал/моль.

Следующий крупный объект на пути к конформационному анализу β-эндорфина — фрагмент Tyr<sup>1</sup> — His<sup>27</sup>, проявляющий физиологическую активность и известный в литературе как С'-фрагмент β-эндорфина. Его расчет был проведен путем состыковки перекрывающихся по двум остаткам участков Tyr<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup> и Lys<sup>24</sup> — His<sup>27</sup>. Минимизация 156 исходных вариантов С'-фрагмента привела к сравнительно небольшому набору реальных конформаций (табл. 2). В интервал 0—5,0 ккал/моль попали семь структур, а в интервал 0—10,0 ккал/моль — 16.

Полученные результаты и в этом случае указывают на преобладание в структурной организации. С удлинением последовательности от α-к γ- и δ-эндорфинам и далее к С'-фрагменту β-эндорфина наблюдается систематическое сокращение низкоэнергетических конформационных состояний в группах С и В. Все более предпочтительное положение как в численном, так и в энергетическом отношении занимают структуры типа А (табл. 2). У С'-фрагмента низкоэнергетическими вариантами группы В являются структуры, обладающие наибольшим сходством с соответствующими структурами группы А. Например, глобальные конформации обоих типов (A<sub>1</sub> и B<sub>1</sub>) имеют одинаковый ход пептидной цепи на участке Ser<sup>7</sup> — Asn<sup>25</sup>; они различаются между собой только состоянием N-концевого гексапептидного фрагмента, т. е. по существу структурой [Met]энкефалинового участка и его ориентацией относительно остальной части последовательности.

Последним значительным этапом исследования пространственного строения β-эндорфина, непосредственно предшествующим анализу всей молекулы нейтропептидного гормона, был расчет конформационных возможностей тридекапептидного участка Lys<sup>19</sup> — Gln<sup>31</sup>. Его исходные структурные варианты были составлены на основе конформационных

Шейпы пептидного скелета низкоэнергетических оптимальных конформаций  $\beta$ -эндорфина

Кон- форма- ция	Шейпы																															E, ккал/ моль			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31				
A <sub>1</sub>																																			0
A <sub>2</sub>																																			8,2
A <sub>3</sub>																																			6,9
A <sub>4</sub>																																			0,7
A <sub>5</sub>	e	f	f	f	e	f	f	f	f	f	f	f	e	e	f	f	f	f	e															5,6	
A <sub>6</sub>																																			5,1
A <sub>7</sub>																																			5,1
A <sub>8</sub>																																			6,2
A <sub>9</sub>																																			1,9

состояний Lys<sup>19</sup> — His<sup>27</sup>, входящих в предпочтительные структуры C'-фрагмента  $\beta$ -эндорфина, и низкоэнергетических конформаций пентапептидного фрагмента His<sup>27</sup> — Gln<sup>31</sup> и, таким образом, представляли собой набор из 340 вероятных конформаций, отвечающих (главным образом благодаря подвижности участка His<sup>27</sup> — Gln<sup>31</sup>) 170 различным шейпам пептидного скелета. После минимизации энергии в интервал 0—10,0 ккал/моль попали оптимальные конформации фрагмента Lys<sup>19</sup> — Gln<sup>31</sup>: всего 16 шейпов. Все они вошли в конформационный анализ  $\beta$ -эндорфина.

Значительная протяженность области перекрывания последовательностей Tyr<sup>1</sup> — His<sup>27</sup> и Lys<sup>19</sup> — Gln<sup>31</sup> (нонапептидный участок) позволила существенно сократить количество исходных для минимизации приближений  $\beta$ -эндорфина и свести конформационный анализ молекулы к расчету 48 структурных вариантов. После частичной и полной минимизации, а также снятия, где это было возможным, наталкиваний оказалось, что из всего набора лишь девять конформаций  $\beta$ -эндорфина обладают энергией  $\Delta E$ , не превышающей 10,0 ккал/моль (табл. 3). Все выгодные пространственные структуры гормона на участке Tyr<sup>1</sup> — Leu<sup>17</sup> имеют одно и то же конформационное состояние, отвечающее одной из наиболее предпочтительных оптимальных конформаций свободной молекулы  $\gamma$ -эндорфина ( $\Delta E = 5,3$  ккал/моль). На участке Tyr<sup>1</sup> — Lys<sup>19</sup> у  $\beta$ -эндорфина возможны два состояния, представляющие собой лучшие структуры  $\delta$ -эндорфина ( $\Delta E = 0$  и 5,5 ккал/моль), на участке Tyr<sup>1</sup> — Asn<sup>25</sup> — четыре, а Tyr<sup>1</sup> — His<sup>27</sup> — девять состояний, также относящихся к самым низкоэнергетическим конформациям соответствующих свободных фрагментов.

Глобальная и следующая за ней низкоэнергетическая конформации  $\beta$ -эндорфина (A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub>) имеют максимальную энергию стабилизирующих дисперсионных взаимодействий и, следовательно, относятся к наиболее компактным структурам. Энергия средних межостаточных взаимодействий у A<sub>1</sub> составляет —154,9, а у A<sub>4</sub> — —153,5 ккал/моль. Стабилизирующий эффект дальних взаимодействий у последовательности из 13 аминокислотного остатка заметно еще уступает силе средних взаимодействий.

У конформаций A<sub>1</sub> и A<sub>4</sub> их энергия составляет соответственно —20,7 и —24,0 ккал/моль. В табл. 4 показаны значения двугранных углов  $\varphi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$  и  $\chi$  остатков в конформациях A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub> (соответственно первая и вторая строки). Отчет углов проведен согласно номенклатуре IUPAC — IUB [3].

На некоторых участках пептидной цепи  $\beta$ -эндорфина набор конформационных состояний за счет средних взаимодействий оказывается практически однозначным. К таким конформационно жестким нуклеадам относятся гексапептидный фрагмент Glu<sup>8</sup> — Pro<sup>13</sup>, а также два пентапептидных фрагмента: Val<sup>15</sup> — Lys<sup>19</sup> и Ala<sup>21</sup> — Asn<sup>25</sup>. Промежуточные отрезки цепи, N-концевой, особенно C-концевой участки  $\beta$ -эндорфина, следует

Двугранные углы (град) в оптимальных конформациях A<sub>1</sub> и A<sub>2</sub> (табл. 3)  
β-эндорфина

Оста- ток	Основная цепь			Боковая цепь				
	φ	ψ	ω	χ <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	χ <sup>3</sup>	χ <sup>4</sup>	χ <sup>5</sup>
Tyr <sup>1</sup>	-59	141	-176	-169	91	180		
	-59	141	-176	-169	91	180		
Gly <sup>2</sup>	-151	81	173					
	-151	81	173					
Gly <sup>3</sup>	82	-75	-174					
	82	-75	-174					
Phe <sup>4</sup>	-91	-50	-162	179	-113			
	-91	-50	-162	179	-113			
Met <sup>5</sup>	-159	161	176	-169	58	-178	60	
	-159	161	176	-169	58	-178	60	
Thr <sup>6</sup>	-93	-55	-173	-59	179	179		
	-93	-55	-173	-59	179	179		
Ser <sup>7</sup>	-58	-32	-179	62	180			
	-58	-32	-179	62	180			
Glu <sup>8</sup>	-60	-43	179	180	176	92		
	-60	-43	179	180	176	92		
Lys <sup>9</sup>	-79	-33	-174	-79	68	167	-177	176
	-79	-33	-174	-79	68	167	-177	176
Ser <sup>10</sup>	-64	-41	-178	-178	180			
	-64	-41	-178	-178	180			
Gln <sup>11</sup>	-80	-39	179	71	-173	-91		
	-80	-39	179	71	-173	-91		
Thr <sup>12</sup>	-132	121	-165	-60	180	179		
	-132	121	-166	-60	180	179		
Pro <sup>13</sup>	-60	143	180					
	-60	143	180					
Leu <sup>14</sup>	-56	-29	-177	178	60	180	177	
	-56	-29	-177	178	60	180	177	
Val <sup>15</sup>	-66	-38	179	176	-177	178		
	-66	-39	178	176	-177	178		
Thr <sup>16</sup>	-68	-41	-171	-58	180	179		
	-69	-42	-175	-58	180	179		
Leu <sup>17</sup>	-74	-56	180	-55	176	-174	-179	
	-75	146	-178	-53	176	-175	-178	
Phe <sup>18</sup>	-121	141	-175	-68	87			
	-99	141	-166	-59	92			
Lys <sup>19</sup>	-108	74	177	-69	78	166	178	180
	-90	-46	-177	-66	76	165	176	179
Asn <sup>20</sup>	-89	-49	-175	-54	99			
	-73	-39	-174	-59	92			
Ala <sup>21</sup>	-63	-49	-172	-60				
	-63	-50	-175	-59				
Ile <sup>22</sup>	-74	-55	-176	-62	-175	174	-171	
	-77	-58	-175	-60	-174	173	-171	
Ile <sup>23</sup>	-100	134	-179	-56	-173	174	-171	
	-102	132	180	-56	-173	175	-172	
Lys <sup>24</sup>	-93	88	-177	-72	75	170	176	180
	-99	99	175	-72	75	170	176	180
Asn <sup>25</sup>	-116	175	180	56	-88			
	-106	-64	171	-55	99			
Ala <sup>26</sup>	-83	116	176	-59				
	-100	-61	-171	-59				

Оста- ток	Основная цепь			Боковая цепь				
	$\phi$	$\psi$	$\omega$	$\chi^1$	$\chi^2$	$\chi^3$	$\chi^4$	$\chi^5$
His <sup>27</sup>	-149	153	178	51	-93			
	-104	153	-170	-171	91			
Lys <sup>28</sup>	-92	-60	178	-60	-67	-168	-176	180
	-88	-73	-172	-55	-64	-170	-177	180
Lys <sup>29</sup>	-110	104	177	178	179	177	179	180
	-119	117	174	171	59	180	179	180
Gly <sup>30</sup>	-100	-63	-179					
	-88	-85	179					
Gln <sup>31</sup>	-170	180	-	53	178	-104		
	-148	150	-	60	180	91		

считать конформационно лабильными. В отношении этих фрагментов средние взаимодействия в той или иной степени сокращают у них число возможных конформационных состояний, т. е. определяют наборы приблизительно равновероятных структур. Детерминация лабильных по средним взаимодействиям участков осуществляется при сборке цепи за счет дальних взаимодействий, обеспечивающих образование наиболее эффективных контактов между нуклеациями. Расчет, однако, показал, что длина пептидной цепи  $\beta$ -эндорфина еще недостаточна для реализации, подобно белкам, одной трехмерной структуры. Пространственное строение гормона характеризуется рядом близких по энергии конформационных состояний.

В литературе опубликовано сравнительно небольшое количество работ, посвященных экспериментальному исследованию структуры  $\beta$ -эндорфина [4—13]. Высказанные в них точки зрения на геометрию предпочтительных конформаций молекулы имеют противоречивый, а то и просто взаимоисключающий характер. Это обстоятельство, а также количественное представление о структуре  $\beta$ -эндорфина, даваемое в этих работах, сделали нерациональным сопоставление опытных и расчетных данных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попов Е. М., Годжаев И. М., Ахмедов Н. А., Сулейманова Е. В. // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16. № 4. С. 482—491.
2. Сулейманова Е. В., Годжаев И. М., Ахмедов Н. А., Попов Е. М. // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16. № 5. С. 649—660.
3. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature // Biochem. et biophys. acta. 1971. V. 229. № 1. P. 1—17.
4. Matlice W. L., Robinson R. M. // Biopolymers. 1981. V. 20. № 7. P. 1421—1434.
5. Hollosi M., Kajtar M., Graf L. // FEBS Lett. 1977. V. 74. № 2. P. 185—189.
6. St.-Pierre S., Gilardean G., Chretien M. // Can. J. Biochem. 1976. V. 54. № 5. P. 992—998.
7. Taylor J. W., Miller R. J., Kaiser E. T. // Mol. Pharmacol. 1982. V. 22. № 4. P. 657—666.
8. Nakanisi S., Inoue A., Kita T. // Nature. 1979. V. 278. № 3. P. 423—427.
9. Yang J. T., Bewley T. A., Chen G. Ch., Li C. H. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. № 16. P. 3235—3238.
10. Wu G.-S. G., Lee N. M., Loh H. H., Yong J. T., Li C. H. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. № 18. P. 3656—3659.
11. La Bella F., Queen G., Senyshyn J., Lis M., Chretien M. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1977. V. 75. № 2. P. 350—357.
12. Carter R. J., Shuster S., Morley J. S. // Nature. 1979. V. 279. № 1. P. 74—75.
13. Graf L. Receptors. Proc. 7th. Int. Congr. Pharmacol., Paris, 1978. Oxford. e.a., 1979. P. 3—14.

Поступила в редакцию:  
12.IV.1989  
После доработки  
19.VII.1989.

N. A. AKHMEDOV, N. M. GOD'JAEV, E. V. SULEIMANOVA, E. M. POPOV \*

STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE [Met]ENKEPHALIN  
AND ENDORPHINS MOLECULES. III. THEORETICAL  
CONFORMATIONAL ANALYSIS OF  $\beta$ -ENDORPHIN

*S. M. Kirov Azerbaijan State University, Baku;*  
*\*All-Union Institute for Food Industry, Moscow*

Conformational energy calculations were carried out for  $\beta$ -endorphin. Its spatial structure can be described by nine low-energy conformations. The calculations yielded the values of all dihedral angles of the backbone and side chains of these forms as well as intra- and inter-residue interaction energies.