



УДК 547.962 : 541.63

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ БРАДИКИНИНПОТЕНЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА

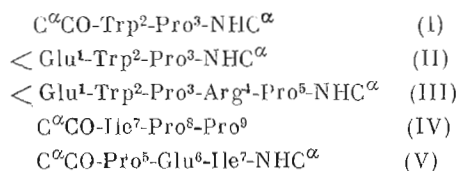
$\langle \text{Glu-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro} \rangle$  II \*

Севастьянова Н. Н., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф.,  
Попов Е. М.

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

На основе ранее проведенного конформационного анализа фрагментов исследовано пространственное строение нонапептида  $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-Glu}^6\text{-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9 \rangle$ . Показано, что наиболее реальна компактная структура, в которой боковая цепь  $-\text{Arg}^4$  находится в ядре молекулы; ее гидрофобная часть осуществляет значительные стабилизирующие взаимодействия с остатками  $\text{Trp}^2$ ,  $\text{Pro}^3$ ,  $\text{Pro}^5$ ,  $\text{Pro}^8$ ,  $\text{Ile}^7$ , а полярная гуанидиновая группа образует ионную пару с карбоксильной группой  $-\text{Pro}^9$ . Анализ ограничен рассмотрением оптимальных форм с *транс*-конфигурацией пептидных групп.

Статья является продолжением нашей работы, посвященной исследованию конформационных возможностей брадикининпотенцирующих пептидов. В данном сообщении рассматривается одно из наиболее активных соединений этой серии — нонапептид  $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-Glu}^6\text{-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9 \rangle$  (БПП<sub>9</sub>). В предыдущем сообщении [1] был выполнен теоретический конформационный анализ следующих фрагментов этой молекулы:



Для каждого фрагмента с *транс*-конфигурацией пептидных групп рассмотрены все возможные конформационные состояния, выявлены наиболее предпочтительные из них и оценена роль взаимодействий между соседними остатками в дифференциации форм по энергии. Благодаря тому что молекула БПП<sub>9</sub> включает четыре остатка пролина, обладающие малой конформационной подвижностью и ограничивающие конформационную свободу предшествующих остатков, оказалось возможно провести весьма полный анализ фрагментов и рассмотреть на его основе большой набор конформационных состояний всей молекулы. Расчет выполнен в предположении, что все пептидные группы находятся в *транс*-конфигурации.

Использованные в расчете геометрические параметры и потенциальные функции приведены в работе [1]. Конформационные состояния БПП<sub>9</sub>

\* Сообщение I см. [1]. Все аминокислоты — L-конфигурации,  $\langle \text{Glu}$  — широглутаминовая кислота.

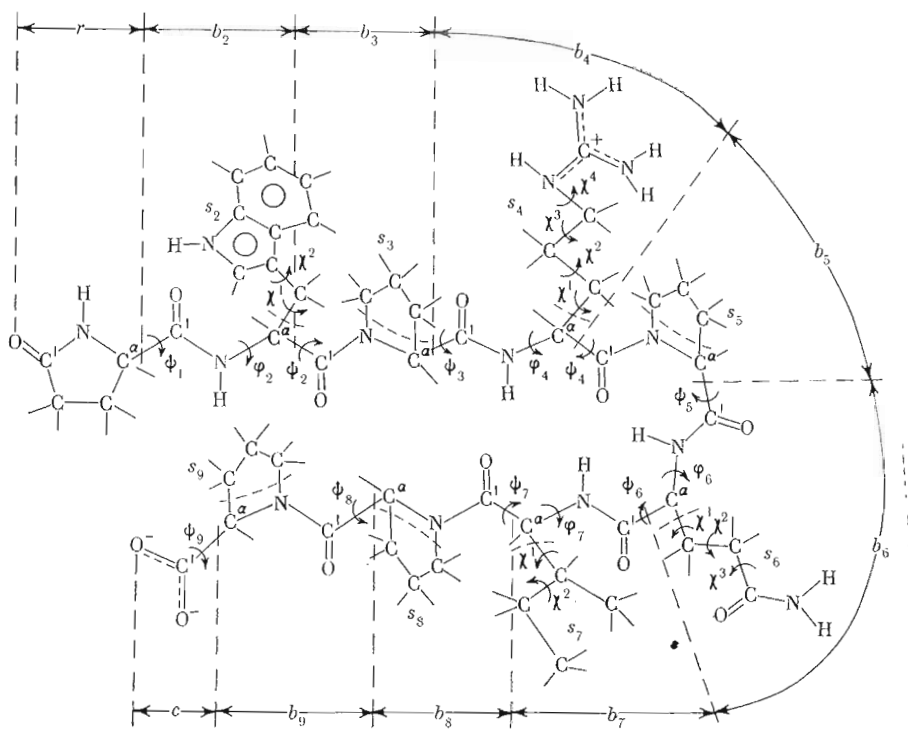


Рис. 1. Модель брадикивинпотенцирующего пептида

исследованы применительно к полярной среде с учетом невалентных и электростатических взаимодействий, водородных связей и торсионных вкладов.

Для обозначения конформационного состояния молекулы введена система идентификаторов, в которой каждый остаток определяется через  $X_{i,j,k}^N$ ;  $X$ , равный  $R$ ,  $B$  или  $L$ , характеризует форму основной цепи остатка ( $R$ ,  $B$  или  $L$ );  $N$  — номер остатка в последовательности;  $i, j, k = 1, 1, 1; 1, 2, 1; 1, 3, 2$  и т. д. отвечают положениям боковой цепи ( $\chi^1, \chi^2, \chi^3 \dots$ ), индекс 1 соответствует углу  $\chi = 60^\circ$ , 2 —  $\chi = 180^\circ$ , 3 —  $\chi = -60^\circ$ . В случае торсионных потенциалов типа  $U_\chi = U_0/2 (1 - \cos 6\chi)$  (вращение вокруг связей  $C^\beta - C^\gamma$  у  $-Trp-$ ,  $C^5 - N^e$  у  $-Arg-$  и  $C^\gamma - C^5$  у  $-Gln-$ ). Индекс 1 соответствует  $\chi^2 = 90^\circ$ , 2 —  $\chi^2 = -90^\circ$ .

Поиск минимума потенциальной энергии молекулы осуществлялся по первому и уточнялся по вторым производным. Наряду с общей энергией оптимальной формы ( $E_{общ}$ ) рассчитывались энергетические вклады от скелетных взаимодействий ( $E_{b_n-b_m}$ ), взаимодействий в пределах одного остатка ( $E_{ост}$ ), между боковыми цепями ( $E_{s_n-s_m}$ ) и между основными и боковыми цепями ( $E_{b_n-s_m}$ ). Способ разбиения пептидной цепи и нумерация индексов  $n, m$  приведены на рис. 1; здесь остаток  $< Glu$  помечен  $\bar{r}$ , а концевой карбоксил —  $c$ ; там же обозначены 24 двугранных угла вращения  $\phi, \psi, \chi$ , принимавшихся в расчете переменными.

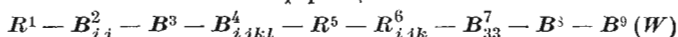
Поиск стабильных конформаций БПП<sub>9</sub> особенно детально был проведен среди тех форм основной цепи молекулы, которые обеспечивают образование компактных структур с максимальной насыщенностью стабилизирующими средними и дальними взаимодействиями. Среди конформаций с развернутыми формами основной цепи рассмотрены лишь отдельные структуры, обладающие наилучшими средними взаимодействиями. Таким образом, при выборе исходных приближений для минимизации энергии

мы в целом придерживались принципа компактности структуры, контролируя и обосновывая его рассмотрением ряда альтернативных вариантов.

Выполненный ранее [1] анализ фрагментов (III) — (V) показал, что оба концевых участка молекулы ( $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-}$  и  $\text{Phe}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$ ), имеют очень ограниченное число низкоэнергетических конформаций, а центральный дипептидный участок ( $-\text{Pro}^5\text{-Gln}^6-$ ), напротив, обладает большой конформационной свободой и при формировании структуры молекулы может выполнять роль шарнира. Для N-концевого фрагмента (III), наиболее реальные две формы основной цепи:  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4$  и  $R^1 - B^2 - R^3 - B^4$ , а для C-концевого (IV) — лишь одна:  $B^7 - B^8 - B^9$  (табл. 5, 6 в работе [1]). В случае формы  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4$  у фрагмента (III) из четырех возможных состояний центрального участка ( $R^5 - R^6$ ,  $R^5 - B^6$ ,  $B^5 - R^6$  и  $B^5 - B^6$ , табл. 7 в [1]) только при  $R^5 - R^6$  образуется компактная структура молекулы:  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$  (обозначим ее  $W$ ). В структуре с полностью вытянутой основной цепью  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - B^5 - B^6 - B^7 - B^8 - B^9$  заведомо не могут реализоваться взаимодействия между остатками, отстоящими далеко друг от друга. Кроме того, само состояние центрального участка  $B^5 - B^6$  более высокоэнергетично, чем  $R^5 - R^6$  (табл. 7 в [1]). Высказанные об этой структуре предположения, которые ниже будут подтверждены расчетными данными, справедливы в значительной степени

Таблица 1

Энергия (ккал/моль)  $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Phe}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$   
в конформациях типа



$B_{ijkl}^4$	$B_{11}^2$		$B_{ijkl}^4$	$B_{12}^2$	
	$R_{311}^6$	$R_{211}^6$		$R_{311}^6$	$R_{211}^6$
1121	—	—	1332	16	19,5
1221	—	—	2112	4,5	6,2
1222	10,7	12,2	2211	—	—
1332	9,7	12,9	2212	9,1	11,5
1322	—	—	2322	—	—
2112	4,9	6,0	3111	7,3	7,8
2121	12,1	10,3	3221	7,0	7,4
2211	—	—	3232	0	1,8
2212	6,9	7,8	3321	14,0	7,2
2221	—	—	3332	8,4	8,9
2222	—	—		$B_{22}^2$	
2231	5,3	6,8	1121	—	—
2232	6,6	7,8	1211	8,5	16,0
2321	—	—	1332	16,0	20,3
2322	—	—	2111	10,0	12,3
2331	—	—	2211	—	—
2332	—	—	2222	—	—
3111	5,7	6,6	2232	8,0	8,2
3121	8,5	9,3	2321	—	—
3132	—	—	2322	24,2	29,2
3211	8,1	9,7	2332	—	—
3221	5,7	5,8	3221	5,9	12,4
3222	8,5	9,8	3232	1,7	3,9
3232	1,0	1,8	3322	7,6	8,0
3321	5,1	6,0			
3332	8,3	9,0			

Примечание. Прочерк означает, что энергия конформации БПЦ, превышает 30 ккал/моль.

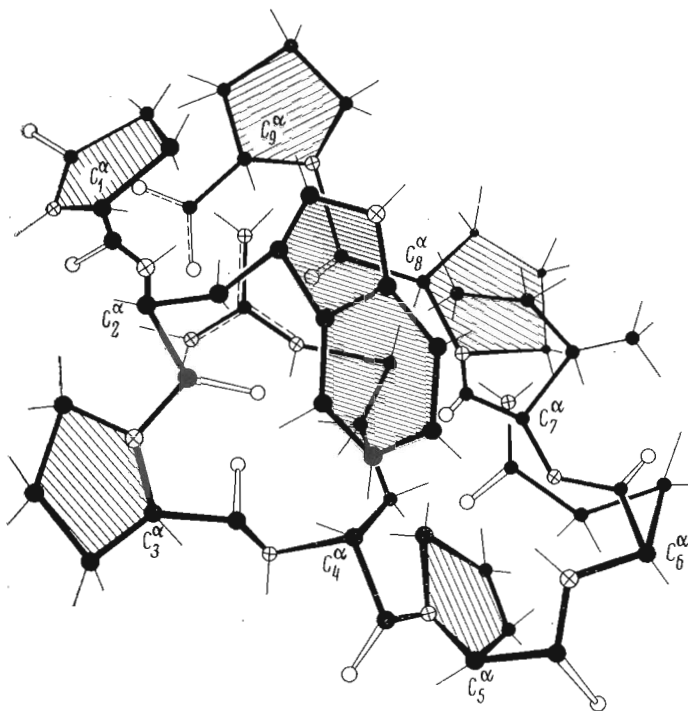


Рис. 2. Пространственная модель глобальной конформации брадикининпотенцирующего нонапептида

и в отношении структур  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5 - B^6 - B^7 - B^8 - B^9$  и  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - B^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$  с  $R^5 - B^6$ - и  $B^5 - R^6$ -формами  $\text{Pro}^5\text{-Gln}^6$ .

При другой низкоэнергетической форме N-концевого тетрапептида  $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-(}R^1 - B^2 - R^3 - B^4\text{)} \rangle$  потенциальной возможностью для реализации средних и дальних взаимодействий обладают структуры  $R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - R^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$  и  $R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - B^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$ . Обозначим первую  $S$ , а вторую —  $U$ . Другие две структуры с формой основной цепи  $B^5 - B^6$  и  $R^5 - B^6$   $\text{Pro}^5\text{-Gln}^6$  растянуты, в значительной мере лишены дополнительных стабилизирующих взаимодействий и поэтому особого интереса не представляют.

Рассмотрим конформации молекулы БПП<sub>9</sub> с формой основной цепи  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - R^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$  ( $W$ ). При составлении исходных приближений этого типа структур были приняты во внимание все оптимальные формы пентапептидного фрагмента (III), энергия которых находится в интервале 0—5,0 ккал/моль (в ряде случаев до 5,5 ккал/моль). Во всех вариантах остатку  $\text{Phe}^7$  задавалось одно конформационное состояние —  $B_{33}$ , поскольку оно является самым предпочтительным как у C-концевого фрагмента  $\text{Phe}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$  (табл. 6 в [1]), так и у центрального участка  $\text{Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Phe}^7$  (табл. 7 в [1]), т. е. при взаимодействии  $-\text{Phe}^7$  с предшествующим и последующим остатком. При форме основной цепи типа  $W$  боковая цепь  $-\text{Gln}^6$  при  $\chi^1$  180 и  $-60^\circ$  обращена в сторону растворителя и не образует значительных взаимодействий с другими остатками; в случае  $\chi^1$   $60^\circ$  контакты с водным окружением полярной боковой цепи  $-\text{Gln}^6$  ухудшаются, однако по-прежнему ее взаимодействия с остальной частью молекулы остаются слабыми. Конформационные состояния  $-\text{Gln}^6$  с  $\chi^1$  180 и  $-60^\circ$  предпочтительнее  $\chi^1$   $60^\circ$  в свободном фрагменте  $\text{Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Phe}^7$  (табл. 7 в [1]). Поэтому при расчете конформаций типа  $W$  учитывались значения  $\chi^1$  180 и  $-60^\circ$  в наиболее выгодных сочетаниях с углами  $\chi^2$ ,  $\chi^3$  (311, 211, 332 и 221). Таким образом, на основе лучших оптимальных форм фрагментов (I) — (V) было составлено 196 исходных вариантов

Энергетические параметры БПП<sub>9</sub> в предпочтительных конформациях  
 $R^1 - B_{ij}^2 - B^3 - B_{ijkl}^4 - R^5 - R_{ijk}^6 - B_{33}^7 - B^8 - B^9 (W)$

Конформации остатков			Энергия взаимодействия, ккал/моль															E отн E общ						
Тип <sup>2</sup>	Arg <sup>1</sup>	Gln <sup>6</sup>	$R_{ijk}$	$r^{---c}$	$r^{---s_2}$	$r^{---s_4}$	$b_3^{---s_4}$	$b_3^{---s_8}$	$b_3^{---s_8}$	$b_3^{---s_2}$	$b_3^{---s_8}$	$b_7^{---s_8}$	$b_8^{---s_4}$	$b_8^{---s_4}$	$d_{9^{---}s_1}$	$c^{---s_4}$	$s_2^{---s_4}$		$s_2^{---s_3}$	$s_2^{---s_4}$	$s_2^{---s_5}$	$s_4^{---s_6}$	$s_4^{---s_7}$	$s_8^{---s_6}$
11			311	-0,8	-1,4	-1,6	-2,9	-1,7	-1,8	-0,8	-1,5	-3,7	-1,7	-4,7	-1,2	-2,7	-1,7	-1,7	-2,7	-1,7	-0,5	-1,3	-2,5	1,0
11			211	-0,8	-1,4	-1,7	-2,9	-2,1	-2,9	-0,8	-1,5	-3,3	-1,8	-4,9	-1,2	-2,8	-1,6	-1,6	-2,8	-1,6	0	-1,3	-0,2	1,8
12			311	-0,9	-2,8	-1,4	-3,8	-2,0	-1,8	-0,8	-1,4	-3,0	-1,7	-4,8	-1,1	-6,7	0	0	-6,7	0	-0,5	-1,4	-2,7	0
12			211	-0,9	-2,8	-1,4	-3,8	-1,1	-1,8	-0,7	-1,2	-3,0	-1,5	-4,6	-1,1	-6,7	0	0	-6,7	0	0	-1,6	-0,2	1,8
22			311	-0,9	-0,4	-1,3	-3,7	-2,0	-3,2	-0,8	-1,4	-2,6	-1,8	-4,9	-1,5	-2,8	-1,9	-1,9	-2,8	-1,9	-0,5	-1,4	-2,7	1,7
22			211	-0,9	-0,4	-1,3	-3,7	-1,5	-3,2	-0,8	-1,2	-2,7	-1,6	-4,7	-1,5	-2,8	-1,9	-1,9	-2,8	-1,9	0	-1,7	-0,2	3,9
11			311	-0,8	-1,5	-3,4	-2,8	-1,9	-2,6	-0,8	-1,4	-1,5	-1,0	-3,8	-1,2	-3,6	-1,4	-1,4	-3,6	-1,4	-0,5	-0,8	-2,7	5,7
12			311	-0,8	-2,9	-3,6	-3,0	-0,6	-1,5	-0,8	-0,5	-2,0	-0,9	-3,5	-1,0	-5,0	0	0	-5,0	0	-0,5	-1,0	-2,7	7,0
22			311	-0,8	-0,4	-2,8	-3,0	-2,0	-2,9	-0,8	-1,4	-1,4	-1,1	-3,9	-1,5	-2,3	-2,2	-2,2	-2,3	-2,2	-0,5	-0,9	-2,7	5,9
11			311	-0,8	-1,5	-1,2	-3,4	-1,7	-2,5	-0,8	-1,4	-2,5	-1,2	-4,3	-1,2	-5,2	-1,1	-1,1	-5,2	-1,1	-0,5	-0,6	-2,7	5,7
11			321	-0,8	-1,8	0,2	-4,1	-1,6	-2,2	-0,8	-1,3	-1,2	-0,9	-3,3	-1,1	-7,0	-1,4	-1,4	-7,0	-1,4	-0,5	-0,5	-2,7	5,1
11			321	-0,8	-1,8	0,2	-4,2	-1,4	-2,1	-0,7	-1,2	-1,3	-0,8	-3,2	-1,1	-7,0	-1,5	-1,5	-7,0	-1,5	0	-0,5	-0,2	6,0
11			2112	-0,8	-1,4	-1,1	-4,3	-1,6	-2,3	-0,8	-1,4	-1,4	-0,9	-3,4	-1,0	-6,0	-2,0	-2,0	-6,0	-2,0	-1,5	-0,7	-2,7	4,9
12			2112	-0,8	-2,8	-0,9	-4,4	-1,6	-2,0	-0,8	-1,4	-1,5	-1,0	-3,4	-0,7	-6,9	-0,3	-0,3	-6,9	-0,3	-1,5	-0,7	-2,7	4,5
11			2212	-0,8	-1,3	0,2	-2,3	-1,9	-3,3	-0,8	-1,4	-2,8	-1,0	-3,6	-1,4	-5,5	-1,4	-1,4	-5,5	-1,4	-2,5	-1,0	-2,4	6,9
11			2231	-0,8	-1,5	0,2	-2,3	-1,8	-2,6	-0,8	-1,4	-2,5	-1,0	-3,4	-1,2	-5,2	-1,5	-1,5	-5,2	-1,5	-2,5	-1,8	-2,4	5,3
11			2232	-0,8	-1,4	0,9	-1,9	-2,2	-2,9	-0,8	-1,4	-2,1	-0,9	-3,2	-1,2	-5,2	-1,6	-1,6	-5,2	-1,6	-2,5	-1,2	-2,6	6,6

Двугранные углы вращения (град) предпочтительных конформаций <Glu<sup>1</sup>-Trp<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-Arg<sup>4</sup>-Pro<sup>5</sup>-Gln<sup>6</sup>-Ile<sup>7</sup>-Pro<sup>8</sup>-Pro<sup>9</sup>

Trp <sup>2</sup>	Arg <sup>4</sup>	Gln <sup>6</sup>		<Glu <sup>1</sup>			Trp <sup>2</sup>			Pro <sup>3</sup>			Arg <sup>4</sup>					
		ijkl	ijh	ψ	φ	ψ	χ <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	ψ	φ	ψ	χ <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	χ <sup>3</sup>	χ <sup>4</sup>	χ <sup>5</sup>	χ <sup>6</sup>	χ <sup>7</sup>
$R^1 - B^2_{ij} - B^3 - B^4_{ijkl} - R^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33} - B^8 - B^9 (W)$																		
11	3232	311	311	-55	-127,1	151,3	59,6	77,2	100	117,1	-101,7	117,1	-61,4	177,8	-62	-79		
12	3232	311	311	-50	-127,4	150,2	79,7	-97,1	109,6	118,9	-98,8	118,9	-73,3	170	-59,7	-74,3		
12	3232	211	311	-50	-117,4	150,2	79,6	-97,1	109,6	118,9	-98,8	118,9	-73,3	170	-59,7	-74,3		
22	3232	311	311	-53,1	-109,4	147,3	177,4	-79,7	104	117,3	-92,2	117,3	-67,9	169	-66,5	-76		
11	3221	311	311	-53,9	-115,2	148,8	56,4	78	99,2	119,5	-78,5	119,5	-60,2	-177,8	179,9	90,5		
11	3111	311	311	-54,2	-125,2	148,8	53,3	78,5	109,8	118,6	-79,3	118,6	-90	56,4	67,9	87,7		
11	2112	311	311	-53,8	-126,5	156	63	72,3	109,7	119	-79,2	119	-159,1	77,2	67,7	-91		
12	2412	311	311	-49,8	-123,2	158,7	78,2	-90,3	109,3	119,5	-79,7	119,5	-159	79,5	65	-92		
11	2231	311	311	-54,2	-125,6	152,4	59,7	79,4	92,8	121	-83,7	121	-177	179,3	-60	88,4		
$R^1 - B^2_{ij} - R^3 - B^4_{ijkl} - R^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33} - B^8 - B^9 (S)$																		
31	1322	311	311	-50,7	-142,7	149,7	-56,2	68,8	-48,4	158,8	-70,5	158,8	87,1	-69,9	-179,6	-75,3		
31	1322	211	311	-50,8	-142,5	149,6	-56,3	68,3	-49,2	157,2	-71,2	157,2	86,6	-71,6	-175,3	-75,8		
32	1322	311	311	-66	-149,7	150,7	-69,5	-82,7	-57,7	152	-63,4	152	80,3	-63,7	-175,5	-75,6		
32	1322	211	311	-66	-149,7	150,7	-69,5	-82,7	-57,7	152	-63,4	152	80,3	-63,7	-175,5	-75,6		
31	3322	211	311	-36,4	-133,8	153,5	-44,2	84,1	-38,8	82,7	-128,2	82,7	-60,6	-65,1	-178,6	-77,2		
$R^1 - B^2_{ij} - R^3 - B^4_{ijkl} - B^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33} - B^8 - B^9 (U)$																		
11	1322	212	332	-41,4	-119,9	108,5	32,9	80,9	-59	155,1	-59,7	155,1	82	-65,8	-177,2	-78		
32	1322	332	332	-65	-148,4	154,5	-67	-83,6	-53,2	157,7	-61,8	157,7	79,8	-65,2	-166,5	-75,8		
$R^1 - B^2_{ij} - B^3 - B^4_{3332} - B^5 - B^6_{332} - B^7 - B^8 - B^9 (I)$																		
12	3232	332	332	-50	-113,7	150,2	79,7	-157,1	109,6	118,9	-98,8	118,9	-73,7	170	-60,7	-74,3		

Таблица 3 (продолжение)

Pro <sup>5</sup>		Gln <sup>6</sup>				Ile <sup>7</sup>				Pro <sup>8</sup>		Pro <sup>9</sup>		OTH E общ
ψ	φ	ψ	χ <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	χ <sup>3</sup>	φ	ψ	χ <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	ψ	χ	ψ	χ	
$R^1 - B^2_{ij} - B^3 - B^4_{ijkl} - R^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33} - B^8 - B^9 (W)$														
-29,4	-74,5	-54,8	-68,1	62,7	40,2	-419,4	87,7	-55,1	-60	147,5	132	132	1,0	
-32	-77,6	-50,9	-68	62,9	40,1	-115,8	89,1	-54,6	-59,7	119	132	132	0	
-32	-77,6	-49	176,4	58,8	87	-413	92,6	-56	-59	119	132	132	1,8	
-32,1	-77,6	-51	-68,1	62,9	40,1	-115,8	89,2	-54,6	-59,6	119	132	132	1,7	
-32,1	-77,6	-50,8	-68,1	62,9	40,1	-115,8	89,2	-54,6	-59,6	119	132	132	5,7	
-32,1	-77,6	-50,8	-68,1	62,9	40,1	-115,8	89,2	-54,6	-59,6	119	132	132	5,7	
-32	-77,6	-50,8	-68,1	62,9	40,1	-115,8	89,2	-54,6	-59,6	119	132	132	4,9	
-32	-77,6	-50,8	-68,1	62,9	40,1	-115,8	89,2	-54,6	-59,6	119	132	132	4,5	
-32,1	-75,7	-51,6	-68,1	62,9	40,1	-115,8	88,9	-54,1	-59,6	119	132	132	5,3	
$R^1 - B^2_{ij} - R^3 - R^4_{ijkl} - R^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33} - B^8 - B^9 (S)$														
-83,2	-124,1	-54,7	-66	70,3	46,6	-112,2	110,5	-48,6	-58,6	119	132	132	8,1	
-83,1	-119,4	-54,5	176,9	58,5	87,3	-143,5	109,5	-55,4	-58,5	119	132	132	8,2	
-70,9	-126,7	-58	-73,2	72,7	43,1	-107,5	118,5	-53,9	-59,3	118,7	132,5	132,5	9,6	
-70,9	-126,7	-58	176,4	58,8	87	-107,5	113,5	-54,8	-59,5	118,8	132,5	132,5	8,0	
-29,7	-82,8	-47	175,2	58	87,7	-123,4	82,4	-54,8	-59,8	130,7	132,2	132,2	8,3	
$R^1 - B^2_{ij} - R^3 - R^4_{ijkl} - B^5 - R^6_{ijk} - B^7_{33} - B^8 - B^9 (U)$														
142,9	-87,2	-51,8	176,2	56,3	-87,8	-114,7	95,5	-53	-57,2	119,5	132,3	132,3	13,1	
149,3	-81	-54,8	-47,3	-50,1	-74,2	-112	100,1	-54,2	-59,2	118,9	132,4	132,4	13,6	
$R^1 - B^2_{ij} - B^3 - B^4_{ijkl} - B^5 - B^6_{332} - B^7 - B^8 - B^9 (I)$														
124	-96	139	-58	-56	-79	-110	401	-54	-59	119	132	132	17,3	

структур  $W$  молекулы БПП<sub>9</sub>. Значения энергии  $E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$ , полученные после минимизации при варьировании 24 переменных (рис. 1), представлены в табл. 1; для наиболее предпочтительных конформаций типа  $W$  в табл. 2 приведены энергетические вклады различных видов взаимодействий ( $E_{b_n-b_m}$ ,  $E_{s_n-s_m}$  и т. д.), а в табл. 3 — геометрические параметры этих конформаций. Структура глобальной конформации  $W$  ( $E_{\text{общ}}^{\text{отн}} = 0$ ) дана на рис. 2. В табл. 1—3 приведены структуры только при двух положениях боковой цепи -Gln<sup>6</sup>- (311 и 211), так как при двух других (332, 221), менее выгодных на 1—2 ккал/моль во фрагменте (V) (табл. 7 в [1]), конформации нонапептида при прочих равных условиях имеют энергию по крайней мере на 2 ккал/моль выше.

Результаты расчета, представленные в табл. 1, показывают, что конформации молекулы, составленные из низкоэнергетических форм свободных фрагментов, обнаруживают резкую дифференциацию. Из многочисленных вариантов типа  $W$  только 6 конформаций попадают в интервал 0—3 ккал/моль, 9 — в интервал 0—5 ккал/моль, а ~80% рассмотренных конформаций имеют энергию, превышающую 10 ккал/моль. Во всех случаях низкоэнергетические конформации молекулы представляют собой сочетание некоторых из наиболее предпочтительных форм, или, иными словами, высокоэнергетические формы фрагментов приводят только к высокоэнергетическим структурам молекулы и поэтому могут не приниматься во внимание.

Как видно из табл. 1, при выбранных трех положениях боковой цепи -Trp<sup>2</sup>- (11, 12 и 22) и четырех положениях боковой цепи -Gln<sup>6</sup>- (311, 211, 332 и 221) самая компактная структура типа  $W$  получается при одном и том же конформационном состоянии -Arg<sup>4</sup>- (3232). В семейство конформаций с таким состоянием аргинина входят 6 самых низкоэнергетических структур. Боковая цепь -Arg<sup>4</sup>- в них располагается в средней части молекулы, основная цепь которой имеет форму подковы, и эффективно взаимодействует с обеими ее половинами. Энергия этого взаимодействия, например, у глобальной конформации  $R^1 - B_{12}^2 - B^3 - B_{3232}^4 - R^5 - R_{311}^6 - B_{33}^7 - B^8 - B^9$  ( $E_{\text{общ}}^{\text{отн}} = 0$ ) составляет -23,3 ккал/моль, причем приблизительно поровну приходится на взаимодействия с предшествующими и последующими остатками (табл. 2). Своей гидрофобной частью боковая цепь -Arg<sup>4</sup>- осуществляет значительные дисперсионные взаимодействия с остатками Trp<sup>2</sup> (-6,7 ккал/моль), Pro<sup>3</sup> (-3,8), Pro<sup>8</sup> (-3,0), Pro<sup>9</sup> (-1,7), Ile<sup>7</sup> (-1,4), а своей полярной гуанидиновой группой она образует ионную пару с группой COO<sup>-</sup> C-концевого пролина (-4,8 ккал/моль). В глобальной структуре  $W$  конформации участков  $R^1 - B_{12}^2 - B^3 - B_{3232}^4 - R^5, R^5 - R_{311}^6 - B_{33}^7$  и  $B_{33}^7 - B^8 - B^9$  отвечают глобальным конформациям соответствующих свободных фрагментов (III) — (V) (табл. 5—7 в [1]). Реализуемые в нонапептиде дополнительные взаимодействия между остатками, одновременно не входившие ни в один из рассмотренных в [1] фрагментов, не ухудшают взаимодействий между ближайшими остатками (ср. табл. 5 в [1] с табл. 2). Столь же эффективно взаимодействие боковой цепи -Arg<sup>4</sup>- и в других 5 конформациях этого семейства (3232, табл. 2), отличающихся от глобальной положением боковых цепей -Trp<sup>2</sup>- и -Gln<sup>6</sup>-. Преимущественность ориентации  $B_{12}^2$  по сравнению с  $B_{11}^2$  и  $B_{22}^2$ , а также  $R_{311}^6$  по сравнению с  $R_{211}^6$  обусловлена в основном локальными взаимодействиями в пределах ранее рассмотренных фрагментов. Например, во фрагменте Pro<sup>5</sup>-Gln<sup>6</sup>-Ile<sup>7</sup> в случае  $R_{311}^6$  имеет место стабилизирующее взаимодействие  $s_5 - s_6$  (-2,5 ккал/моль), а в случае  $R_{311}^6$  оно практически отсутствует (-0,2 ккал/моль).

Рассмотрим другие структуры типа  $W$ , в которых угол  $\chi^1$  аргинина также имеет значение  $-60^\circ$ . Конформационное состояние аргинина  $B_{3231}^4$  не может реализоваться из-за наталкивания боковых цепей -Arg<sup>4</sup>- и



Энергия (ккал/моль)  $< \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$   
в конформациях типа  $R^1 - B_{ij}^2 - R^3 - B_{ijkl}^4 - R^5 - R_{ijk}^6 - B_{33}^7 - B^8 - B^9 (S)$

$B_{ij}^2$	$B_{ijkl}^4$	$R_{ijk}^6$				$B_{ij}^2$	$B_{ijkl}^4$	$R_{ijk}^6$			
		311	211	332	221			311	211	332	221
11	1322	9,9	16,8	9,8	19,1	31	2322	23,7	36,3	23,6	54,2
12	1322	9,5	11,1	17,3	15,6	31	3211	—	—	—	—
12	2211	19,6	22,2	18,7	21,6	31	3221	11,2	11,5	12,4	11,3
12	3311	15,6	18,4	19,7	20,7	31	3222	12,3	15,2	14,9	15,2
31	1221	18,6	19,2	20,8	19,5	31	3321	15,1	16,0	17,7	15,8
31	1222	16,5	18,3	23,9	18,7	31	3322	8,8	8,3	10,9	11,1
31	1321	23,1	24,2	21,9	24,6	32	1122	33,6	29,8	32,6	47,1
31	1322	8,1	8,2	9,5	10,9	32	1322	9,6	8,0	11,3	11,6
31	2111	17,3	15,6	21,8	17,5	21	2311	26,8	25,2	31,0	38,6

Примечание. Прочерк означает, что энергия конформации БПП<sub>9</sub> превышает 60 ккал/моль ( $E_{\text{общ}}^{\text{отн}} = 0$  у глобальной конформации типа W).

-Ile<sup>7</sup>-. В случае  $B_{3221}^4$  локальные взаимодействия сохраняются (они на 2—3 ккал/моль хуже, чем при  $B_{3232}^4$ ), но боковая цепь -Arg<sup>4</sup>- на ~4 ккал/моль менее эффективно взаимодействует с последующими остатками (табл. 2). В целом структуры с  $B_{3221}^4$  по сравнению с  $B_{3232}^4$  менее стабильны на 6—7 ккал/моль.

Соответствие между средними и дальними взаимодействиями наблюдаются также в случае конформаций с углом  $\chi^1$  180° у -Arg<sup>4</sup>-. В пентапептидном фрагменте (III) самым выгодным в этом случае состоянием аргинина является  $B_{2112}^4$ . У нонапептида оно также наиболее предпочтительно. Ближние и средние взаимодействия в пределах фрагментов четко сохраняются во всей молекуле, т. е. при реализации значительных дальних взаимодействий. В отношении взаимодействий, которые образует боковая цепь -Arg<sup>4</sup>- с последующими остатками, вариант  $B_{2112}^4$  подобен  $B_{3221}^4$ , а наличие дополнительного стабилизирующего взаимодействия между -Arg<sup>4</sup>- и -Gln<sup>6</sup>- делает его более предпочтительным.

Структуры с конформационными состояниями аргинина —  $B_{2212}^4$ ,  $B_{2231}^4$  и  $B_{2232}^4$  (-Trp<sup>2</sup> —  $B_{11}^2$ ), несмотря на меньшую энергетическую выгодность на пентапептидном фрагменте (III), близки по энергии структуре с  $B_{2112}^4$  (проигрыш компенсируется стабилизирующими взаимодействиями -Arg<sup>4</sup>- с -Gln<sup>6</sup>-).

При форме основной цепи молекулы W не могут быть реализованы из-за наталкивания на -Ile<sup>7</sup>- полностью вытянутые формы боковой цепи -Arg<sup>4</sup>- ( $B_{2222}^4$  и  $B_{2221}^4$ ). По этой же причине нереальны все состояния аргинина с  $\chi^1$  180°,  $\chi^2$  —60°. Все конформации, в которых -Arg<sup>4</sup>- имеет  $\chi^1$  60°, или высокоэнергетичны, или просто невозможны из-за наталкивания на жесткий C-концевой фрагмент (IV).

Таким образом, конформационный анализ молекулы БПП<sub>9</sub> с формой основной цепи типа W приводит к заключению, что в самой выгодной структуре остаток аргинина находится в состоянии  $B_{3232}^4$ . Эта структура весьма компактна, имеет шарообразную форму с ядром, которое образуют гидрофобные остатки (рис. 2). Стержневым элементом, цементирующим эту структуру, является боковая цепь аргинина. Энергия этой структуры на 20 ккал/моль ниже энергии выгодных конформеров растянутых форм  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - B^5 - B^6 - B^7 - B^8 - B^9$ ,  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - B^5 - B^6 - B^7 - B^8 - B^9$  или  $R^1 - B^2 - B^3 - B^4 - B^5 - B^6 - B^7 - B^8 - B^9$ .

Энергетические параметры БПП<sub>9</sub> в предпочтительных конформациях  $R^1 - B_{ij}^2 - R^3 - B_{ijkl}^4 - R^5 - B_{ijk}^6 - R^7 - B_{333}^8 - B^9 - B^9(S)$

Конформации остатков			Энергия взаимодействия, ккал/моль															E общ						
Trp <sup>2</sup>	Arg <sup>4</sup>	Gln <sup>6</sup>	$R_{ijk}$	$B_{ijkl}$	$R^1 - B_{ij}^2$	$R^3 - B_{ijkl}^4$	$R^5 - B_{ijk}^6$	$R^7 - B_{333}^8$	$B^9 - B^9(S)$	$R^1 - B_{ij}^2$	$R^3 - B_{ijkl}^4$	$R^5 - B_{ijk}^6$	$R^7 - B_{333}^8$	$B^9 - B^9(S)$	$R^1 - B_{ij}^2$	$R^3 - B_{ijkl}^4$	$R^5 - B_{ijk}^6$		$R^7 - B_{333}^8$	$B^9 - B^9(S)$				
11			311		2,6	2,5	0,3	0,6	0,8	1,2	3,8	3,6	1,2	0,4	1,4	3,6	0,4	5,1	0,2	0,5	2,3	0,4	-0,7	9,9
12			311		3,7	2,3	0,3	0,5	0,8	1,3	3,8	3,5	1,2	3,2	1,2	3,5	0,7	5,0	0	0,4	1,7	1,2	0,4	9,5
31			311		2,5	2,2	0,3	0,6	0,3	0,2	3,6	3,5	1,2	3,1	1,2	3,5	0,9	7,1	0,1	0,5	2,1	0,9	0,8	8,1
31			322		2,4	2,2	0,3	0,5	0,3	0,2	3,5	3,6	1,2	1,7	1,3	3,6	0,9	6,9	0,1	0,5	1,8	0,2	0,2	8,2
32			311		1,2	2,3	0,3	0,5	0,3	0,1	2,8	3,6	1,2	1,3	1,3	3,6	1,7	5,4	0	0,4	1,9	0,9	0,7	9,6
32			322		1,2	2,3	0,3	0,5	0,3	0,1	2,8	3,6	1,2	1,2	1,3	3,6	1,7	5,4	0	0,4	1,9	0,9	0,2	8,0
31			3322		4,1	1,8	1,2	1,7	1,1	0,2	0	3,4	1,0	2,1	1,0	3,4	0,8	0,1	1,2	0,8	0,6	2,8	0,8	8,0
31			3322		4,1	1,8	1,3	1,6	1,1	0,2	0,2	3,4	1,1	2,0	1,1	3,4	0,8	0,1	1,1	1,1	0,6	2,7	0,8	8,3
31			211		4,1	1,8	1,3	1,6	1,1	0,2	0,2	3,4	1,1	2,0	1,1	3,4	0,8	0,1	1,1	1,1	0,6	2,7	0,7	8,3

Перейдем теперь к анализу свернутых структур БПП<sub>9</sub> с другими формами основной цепи. В случае  $R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - R^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$  топология основной цепи имеет S-образную форму, в двух загибах которой образуются стабилизирующие ядра. При расчете нонапептида в форме S были приняты во внимание все конформационные состояния пентапептидного фрагмента (III) с энергией в интервале 0—6 ккал/моль (табл. 3—5 в [1]). Что касается учтенных в расчете молекулы состояний ее центрального участка -Pro<sup>5</sup>-Gln<sup>6</sup>-и C-концевого -Ile<sup>7</sup>-Pro<sup>8</sup>-Pro<sup>9</sup>, то они были теми же, что и в расчете нонапептида с основной цепью W. Значения общей энергии конформаций типа S приведены в табл. 4, а величины энергетических вкладов различных видов взаимодействий — в табл. 5. Прежде всего следует отметить, что энергия самой выгодной конформации S превышает энергию глобальной конформации W на 8 ккал/моль. Структуры типа S менее компакты. Вместе с тем, как и в случае W, самые низкоэнергетические конформации S складываются из наиболее выгодных вариантов форм свободных фрагментов. Так, формы пентапептида (III) с состояниями  $B_{32}^2$ ,  $B_{1322}^4$  и  $B_{31}^2$ ,  $B_{1322}^4$  соответственно у остатков Trp<sup>2</sup> и Arg<sup>4</sup>, реализующиеся у наиболее предпочтительных S-конформаций молекулы, имеют энергию в свободном состоянии фрагмента всего лишь 0,5 и 0,7 ккал/моль (табл. 5 в [1] и табл. 4 и 5). И здесь, как и в случае W, образование новых стабилизирующих взаимодействий с отстоящими далеко друг от друга по цепи остатками происходит без нарушения хороших контактов между близкими остатками (ср. табл. 5 в [1] с табл. 5).

В низкоэнергетических S-конформациях при любых положениях боковых цепей -Trp<sup>2</sup>- и -Gln<sup>6</sup>- оптимальным состоянием -Arg<sup>4</sup>- является  $B_{1322}^4$ . В этом случае боковая цепь аргинина нависает над пептидным остовом -Gln<sup>6</sup>-Ile<sup>7</sup>-Pro<sup>8</sup>-

Энергия (ккал/моль)  $\langle \text{Glu}^1\text{-Trp}^2\text{-Pro}^3\text{-Arg}^4\text{-Pro}^5\text{-Gln}^6\text{-Ile}^7\text{-Pro}^8\text{-Pro}^9$   
в конформациях типа  $R^1 - B_{ij}^2 - R^3 - B_{ijkl}^4 - B^5 - R_{ijk}^6 - B_{33}^7 - B^8 - B^9 (U)$

$B_{ij}^2$	$B_{ijkl}^4$	$R_{ijk}^6$	$E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$	$B_{ij}^2$	$B_{ijkl}^4$	$R_{ijk}^6$	$E_{\text{общ}}^{\text{отн}}$
11	1322	332	17,9	31	3211	332	—
11	1322	212	13,1	31	3211	212	—
12	1322	332	20,0	31	3221	332	19,6
12	1322	212	24,0	31	3221	212	17,6
12	2211	332	14,6	31	3222	332	25,6
12	2211	212	17,5	31	3222	212	21,2
12	3311	332	18,1	31	3321	332	21,8
12	3311	212	16,4	31	3321	212	19,4
31	1221	332	16,4	31	3322	332	15,8
31	1221	212	21,6	31	3322	212	17,3
31	1222	332	21,2	32	1122	332	15,6
31	1222	212	20,7	32	1122	212	28,6
31	1322	332	—	32	1322	332	13,6
31	1322	212	—	32	1322	212	17,3
31	2111	332	60,0				
31	2111	212	38,3				
31	2322	332	19,2				
31	2322	212	18,4				

$\text{Pro}^9$  и эффективно с ним взаимодействует. Энергия взаимодействия с этим фрагментом достигает  $-12$  ккал/моль, из которых  $-3,6$  ккал/моль приходится на долю электростатических взаимодействий между положительно заряженной гуанидиновой группой  $-\text{Arg}^4$ - и отрицательно заряженным карбоксилем  $-\text{Pro}^9$ . При этом по-прежнему сохраняются эффективными взаимодействия боковой цепи  $-\text{Arg}^4$ - с  $-\text{Trp}^2$ -, а также с другими остатками пентапептида (III). Сопоставим энергетические вклады наиболее важных взаимодействий во фрагменте (III) в свободном состоянии и включенном в состав молекулы в глобальной конформации с  $S$ -формой основной цепи. В первом случае (см. рис 1)  $E_{b_3-s_4} = -2,5$ ,  $E_{b_6-s_4} = -3,8$ ,  $E_{s_2-s_4} = -5,9$  ккал/моль (табл. 5 в [1]), во втором — значения энергии соответственно равны  $-2,3$ ,  $-2,8$ ,  $-5,4$  ккал/моль (табл. 5).

В лучших структурах типа  $S$ , как и  $W$ , имеют место существенные средние и дальние взаимодействия. Большая предпочтительность  $W$ -конформаций обусловлена не столько лучшими взаимодействиями в пределах отдельных фрагментов, сколько более тесными, стабилизирующими контактами между остатками разных фрагментов, т. е. в конечном счете более компактной пространственной организацией всей молекулы при  $W$ -форме основной цепи.

При  $U$ -образной форме основной цепи ( $R^1 - B^2 - R^3 - B^4 - B^5 - R^6 - B^7 - B^8 - B^9$ ), в которой энергия центрального фрагмента  $\text{Pro}^8\text{-Gln}^6\text{-Ile}^7$  в конформациях типа  $B^5 - R^6 - B^7$  по крайней мере на 2 ккал/моль выше энергии конформаций  $R^5 - R^6 - B^7$ , все структуры молекулы БПП<sub>0</sub> относятся к высокоэнергетичным ( $E_{\text{общ}}^{\text{отн}} > 13$  ккал/моль, табл. 6). Однако и в этом случае имеют место стабилизирующие взаимодействия между остатками противоположных концов молекулы. Так, по сравнению с энергией развернутой конформации ( $I$ , табл. 3) выигрыш за счет дальних взаимодействий в лучшей  $U$ -конформации составляет  $\sim 6$  ккал/моль, что, однако, значительно меньше, чем в конформациях с  $W$ - и  $S$ -формами основной цепи. Боковая цепь  $-\text{Arg}^4$ - при  $U$ -форме остова располагается в стороне от двух жестких концов молекулы и эффективно с ними не взаимодействует. Даже в самых выгодных конформациях формы  $U$  проигрыш энергии за счет менее эффективных по сравнению с конформациями формы  $S$  даль-

них взаимодействий составляет  $\sim 5$  ккал/моль. Таким образом, высокая энергия  $U$ -конформаций обусловлена более слабыми стабилизирующими взаимодействиями как между соседними, так и между удаленными остатками. Сопоставление структур нонапептида со свернутыми  $W$ -,  $S$ - и  $U$ -формами основной цепи указывает на наличие у самых предпочтительных конформаций молекулы весьма совершенной согласованности между средними и дальними взаимодействиями. Конформации молекулы, составленные из наилучших по средним взаимодействиям форм отдельных фрагментов, оказываются самыми предпочтительными и по дальним взаимодействиям. Наиболее полная реализация последних возможна, таким образом, без нарушения самых выгодных взаимодействий между соседними остатками. Однако эта возможность реализуется в структурах, число которых очень мало даже по сравнению с количеством конформаций, составленных только из низкоэнергетических форм фрагментов. В этом заключается одна из основных причин резкой энергетической дифференциации конформаций с удлинением пептидной цепи. Другая причина более очевидна и связана с перекрыванием ван-дер-ваальсовых радиусов.

Таким образом, теоретический конформационный анализ молекулы БПП<sub>9</sub> приводит к заключению о реализации в полярной среде компактной структуры нонапептида с  $R^1-B^2-B^3-B^4-R^5-R^6-B^7-B^8-B^9$  ( $W$ ) формой основной цепи, 3232-м состоянием боковой цепи  $-Arg^4-$  и 33-м  $-Phe^7-$ . Что же касается конформационных состояний боковых цепей  $-Trp^2-$  и  $-Gln^6-$ , то наиболее предпочтительными являются соответственно 12 и 311.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова С. Ф., Севастьянова Н. Н., Липкинд Г. М., Попов Е. М. (1977) Биорган. химия, 3, 335—347.

Поступила в редакцию  
7.IX.1976

#### THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF BRADYKININ-POTENTIATING PEPTIDE < Glu-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro. II

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

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

Basing on previously performed conformational analysis of the fragments, a spatial structure of the nonapeptide < Glu<sup>1</sup>-Trp<sup>2</sup>-Pro<sup>3</sup>-Arg<sup>4</sup>-Pro<sup>5</sup>-Gln<sup>6</sup>-Ile<sup>7</sup>-Pro<sup>8</sup>-Pro<sup>9</sup> is studied. The most probable is shown to be the compact structure, wherein Arg<sup>4</sup> side-chain is situated in the core of the molecule. The hydrophobic part of this residue provides a considerable stabilization due to interacting with Trp<sup>2</sup>, Pro<sup>3</sup>, Pro<sup>8</sup>, Pro<sup>9</sup>, and Ile<sup>7</sup>, whereas polar guanidine group forms an ion pair with Pro<sup>9</sup> carboxyl group. The analysis was confined to consideration of the optimal structures having *trans* configuration of peptide units.