



УДК 547.962:541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПЕПТИДОВ
МОЗГА

I. СТИМУЛЯТОР СНА

*Попов Е. М.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР, Москва**Ажмедов Н. А., Касумов О. Г., Касумов Н. А.,
Годжаев Н. М.**Азербайджанский государственный университет им. С. М. Кирова, Баку*

Рассмотрены конформационные возможности стимулирующего сон гормона мозга $\text{Trp}^1\text{-Ala}^2\text{-Gly}^3\text{-Gly}^4\text{-Asp}^5\text{-Ala}^6\text{-Ser}^7\text{-Gly}^8\text{-Glu}^9$ (δ -пептид). Показано, что в водной среде наиболее реальна структура с псевдоциклической формой пептидного остова, стабилизация которой обусловлена главным образом дисперсионными взаимодействиями боковых цепей Trp^1 и Glu^9 с элементами основной цепи и образованием ионной пары между концевыми группами NH_3^+ и COO^- . Другая низкоэнергетическая конформация имеет более свернутую форму основной цепи с удаленными друг от друга N- и C-концами. Основной вклад в ее стабилизацию вносят дисперсионные взаимодействия между элементами пептидного остова. Ослабление электростатических взаимодействий в условиях более полярного окружения или при взаимодействии с рецептором может сделать эту структуру самой предпочтительной.

Серию работ, посвященных систематическому изучению пространственного строения пептидов мозга, мы начинаем с рассмотрения конформационных возможностей одного из стимуляторов сна — так называемого δ -пептида [1, 2]:



Введение гормона млекопитающим вызывает снижение у них психической и двигательной активности, замедление сердечных сокращений и дыхания и индуцирует ряд других проявлений ортодоксального сна [2, 3].

Аминокислотная последовательность δ -пептида весьма своеобразна. Большая ее часть состоит из остатков, у которых или вообще отсутствует боковая цепь (Gly^3 , Gly^4 , Gly^8), или она незначительна (Ala^2 , Ala^6 , Ser^7). Непосредственный вклад этих остатков в стабилизацию той или иной конформации сравнительно невелик. Он определяется главным образом взаимодействиями основных цепей, которые, однако, не отличаются в этом отношении от скелетных взаимодействий других аминокислот. Остатки Gly , Ala , Ser не обладают заметной собственной конформационной избирательностью, и их можно отнести к остаткам шарнирного типа. Они способны встраиваться во все те формы пептидной цепи, которые обеспечивают данной последовательности сближенность остатков, образующих эффективные стабилизирующие контакты. К таким остаткам в δ -пептиде относятся

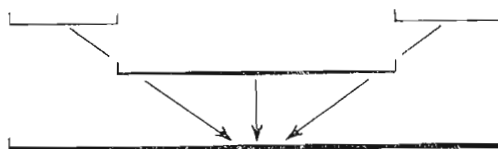


Рис. 1. Схема расчета конформаций δ -пептида

Trp^1 , Asp^5 и Glu^9 , имеющие объемные и лабильные боковые цепи. Они могут существенно влиять на величину конформационной энергии прямым участием в дисперсионных и электростатических взаимодействиях как между собой, так и с элементами основной цепи. Положительно заряженный N-концевой остаток Trp^1 и несущий отрицательный заряд остаток Asp^5 разделены конформационно подвижным участком $\text{Ala}^2\text{-Gly}^3\text{-Gly}^4$, а одноименно заряженные Asp^5 и C-концевой остаток Glu^9 — подвижным участком $\text{Ala}^6\text{-Ser}^7\text{-Gly}^8$.

Имея в виду отмеченные выше особенности аминокислотной последовательности нонапептида, можно полагать, что его конформационные свойства определяются в основном двумя факторами: с одной стороны, стремлением элементов основной цепи установить максимальное число стабилизирующих контактов, а с другой — стремлением боковых цепей Trp^1 и Asp^5 , а также Trp^1 и Glu^9 сблизиться друг с другом и образовать выгодные электростатические и дисперсионные взаимодействия при максимально возможном удалении боковых цепей Asp^5 и Glu^9 . Эти факторы не могут быть осуществлены одновременно. Для реализации первой наиболее предпочтительна спиральная структура, в которой, однако, сблизенными оказываются одноименно заряженные остатки Asp^5 и Glu^9 , для реализации второй — псевдоциклическая структура с ионной парой $\text{Trp}^{+1} \cdot \text{Glu}^{-9}$, где менее эффективны скелетные взаимодействия.

Специфика аминокислотной последовательности δ -пептида продиктовала выбор следующей схемы его конформационного анализа (рис. 1). Вначале были рассмотрены конформационные состояния концевых дипептидных участков $\text{Trp}^1\text{-Ala}^2$, $\text{Gly}^8\text{-Glu}^9$ и центрального пентапептидного участка $\text{Gly}^3\text{-Ser}^7$, энергия которых определяется главным образом дисперсионными взаимодействиями элементов основной цепи друг с другом и с боковыми цепями Trp^1 , Asp^5 и Glu^9 . Это позволило выснить значение первого из отмеченных выше структурных факторов в формировании трех локальных участков. Оценка роли второго фактора, т. е. влияния на пространственную организацию нонапептида взаимодействий трех заряженных остатков, могла быть получена только из анализа конформационных возможностей всей молекулы. Знание низкоэнергетических состояний свободных фрагментов сделало эту задачу реальной.

Расчет δ -пептида выполнен априорно на основе предложенной одним из нас конформационной теории [4, 5] и аминокислотной последовательности гормона. Объяснение употребляемых в тексте понятий, потенциальные функции, полуэмпирические параметры, используемые для количественной оценки невалентных и электростатических взаимодействий атомов, водородных связей и торсионных взаимодействий, представлены в работах [5–7]. Там же описана система идентификаторов, характеризующая возможные конформационные состояния основных и боковых цепей аминокислотных остатков пептида, формы и шейки его пептидного скелета. В табл. 1 приведены низкоэнергетические конформации метиламидов N-ацетил- α -аминокислот, принятые для соответствующих остатков нонапептида в качестве базовых, исходных конформационных состояний.

Фрагменты $\text{Trp}^1\text{-Ala}^2$ и $\text{Gly}^8\text{-Glu}^9$. Нулевые приближения первого дипептида формировались из R- и B-форм основной цепи (L совпадает с B)

Исходные конформационные состояния аминокислот, входящих в состав δ-пептида

Остаток	Конформация *	Число конформаций	Литература	Остаток	Конформация *	Число конформаций	Литература
Trp	R (11, 13, 21, 23, 31, 33)	12	[9]	Ser	B (12, 22, 32)	9	[11]
	B (11, 13, 21, 23, 31, 33)				L (12, 22, 32)		
Ala	R, B, L	3	[10]	Glu	R (121, 131, 211, 221, 231, 311, 321, 331)	16	[12]
	R, B, L, P				L (121, 131, 211, 221, 231, 311, 321, 331)		
Gly	R (11, 21, 31)	4	[10]				
	B (11, 21, 31)						
Asp	L (11, 21, 31)	9	[11]				
	R (12, 22, 32)						
Ser	R (12, 22, 32)						

* R, B и L — низкоэнергетические области конформационной карты Φ - ψ . R $\Phi=\psi=-180-0^\circ$, B $\Phi=-180-0^\circ$, $\psi=180^\circ$, L $\Phi=\psi=0-180^\circ$. Цифры в скобках характеризуют конформационное состояние боковых цепей (χ^1, χ^2, \dots): 1 — $0-120^\circ$, 2 — $120 \div -120^\circ$, 3 — $120-0^\circ$.

Таблица 2

Относительная энергия (ккал/моль) конформаций фрагмента H-Trp¹-Ala²-NHС^α

Конформация боковой цепи Trp ¹ (χ^1, χ^2)	U				Конформация боковой цепи Trp ¹ (χ^1, χ^2)	U			
	Шейп					Шейп			
	e		f			e		f	
	$B_{ij}^1-B^2$	$R_{ij}^1-L^2$	$R_{ij}^1-B^2$	$B_{ij}^1-L^2$		$B_{ij}^1-B^2$	$R_{ij}^1-L^2$	$R_{ij}^1-B^2$	$B_{ij}^1-L^2$
11	2,8	4,4	3,8	3,6	23	0	3,2	2,4	2,6
13	1,3	3,3	3,4	4,1	31	4,0	4,2	4,2	5,2
21	1,3	5,1	4,2	3,2	33	4,0	4,5	4,4	5,2

Таблица 3

Относительная энергия (ккал/моль) конформаций фрагмента стимулятора сна C^αCO-Gly³-Glu⁹

Конформация боковой цепи Glu ⁹ (χ^1, χ^2, χ^3)	U							
	Шейп							
	e				f			
	$B^s-B_{ijk}^9$	$L^s-B_{ijk}^9$	$R^s-L_{ijk}^9$	$P^s-L_{ijk}^9$	$R^s-B_{ijk}^9$	$P^s-B_{ijk}^9$	$B^s-L_{ijk}^9$	$L^s-L_{ijk}^9$
121	0,6	1,0	9,3	8,7	1,5	1,3	9,2	9,8
131	0,2	0,2	14,8	12,9	1,6	1,8	14,9	15,2
211	2,7	3,1	5,9	5,4	3,1	2,6	5,4	5,9
221	1,6	2,0	5,4	4,8	1,9	1,5	4,7	5,3
231	4,8	5,1	8,6	7,7	5,0	4,7	7,6	8,3
311	0	0	1,8	1,9	1,0	0,8	2,9	3,2
321	0	0,3	2,9	2,3	0,9	0,6	2,9	3,5
331	0,3	0,9	3,1	2,5	2,0	1,0	3,3	3,7

остатка Trp¹ и шести положений его боковой цепи и B- и L-форм Ala² (R в данном случае изоэнергетична B). Всего были составлены 24 структурных варианта, которые имеют четыре формы основной цепи, принадлежащие двум шейпам. Результаты минимизации энергии при варьировании всех углов Φ, Ψ, ω, χ приведены в табл. 2. Наиболее предпочтительной для свободного дипептида Trp¹-Ala² оказалась развернутая форма основной цепи B^1-B^2 , в которой, как и у рассмотренного ранее аналогичного фрагмента Phe-Ala [8], реализуются наилучшие условия для стабилизи-

рующих взаимодействий между боковой цепью Trp¹ и удаленной от него пептидной группой. Взаимодействия максимальны при $\chi^1 \sim 180^\circ$ и $\chi^2 \sim 90^\circ$ и -90° , т. е. когда имидазольное кольцо нависает над пептидным остовом фрагмента. Низкоэнергетическим является также состояние B^1-B^2 с положением $\chi^1 \sim 60^\circ$ и $\chi^2 \sim -90^\circ$, при котором боковая цепь оказывается ориентированной в сторону С-конца.

Для расчета дипептида Gly⁸-Glu⁹ выбраны все формы основной цепи Gly (*R*, *B*, *L*, *P*) и *B*, *L* формы Glu (у С-концевого остатка вырождены *R*- и *B*-формы) при восьми конформационных состояниях боковой цепи (табл. 1). И здесь самыми выгодными являются развернутые формы B^8-B^9 и L^8-B^9 шейки *e*. Наиболее эффективные контакты между основной цепью фрагмента и боковой цепью Glu⁹ возникают при значении угла $\chi^1 \sim -60^\circ$, т. е. когда цепь ориентирована в сторону N-конца дипептида (табл. 3). В состояниях фрагмента с формами B^8-B^9 и L^8-B^9 , а также R^8-L^9 и P^8-L^9 , R^8-B^9 и P^8-B^9 , B^8-L^9 и L^8-L^9 величины конформационной энергии при равенстве χ^1 и χ^2 весьма близки. В каждой паре форм различие между соответствующими конформациями касается только угла Φ остатка Gly⁸ ($\sim 180^\circ$), координирующего положение крайней пептидной группы. Следовательно, состояния *B* и *L*, *R* и *P* остатка Glu в дипептиде практически изоэнергетичны.

При рассмотрении фрагментов небольшой длины величина относительной энергии не является надежным критерием отбора конформаций [5]. Поэтому, несмотря на заметную энтальпийную и энтропийную предпочтительность развернутых форм основных цепей Trp¹-Ala² и Gly⁸-Glu⁹, для дальнейшего анализа нами были оставлены низкоэнергетические представители как развернутых, так и свернутых форм шейпов *e* и *f*. Потенция остатков Trp и Glu к взаимодействиям в пределах дипептидного участка не может быть реализована достаточно полно, поэтому предпочтительность развернутых форм Trp¹-Ala² и Gly⁸-Glu⁹ очевидна лишь для свободных дипептидов. В том случае, когда они являются фрагментами более сложного участка, необходимо принимать во внимание все возможные формы, обладающие низкой энергией.

Фрагмент Gly³-Gly⁴-Asp⁵-Ala⁶-Ser⁷. Исходные приближения пентапептида составлены из *R*, *B*-форм остатка Gly³, *R*, *B*, *L*, *P*-форм Gly⁴, *R*, *B*, *L*-форм остатков Asp⁵ (каждая форма при трех состояниях боковой цепи; табл. 1) и Ala⁶ и *B*, *L*-форм остатка Ser⁷. Ориентация боковой цепи Ser⁷ ($\chi^1 \sim 60, 180, -60^\circ$) мало влияет на величину энергии. Расчет пентапептида выполнен при значении угла $\chi^1 \sim -60^\circ$, который при С-концевом положении Ser несколько предпочтительнее. Составленный таким образом набор исходных приближений включает 432 структурных варианта, которые имеют 144 различные формы основной цепи, принадлежащие 16 шейпам пептидного скелета. В табл. 4 дано энергетическое распределение конформаций исследуемого пентапептида, причем от каждой формы включено только по одному самому низкоэнергетическому представителю, имеющему наиболее выгодное для данной формы конформационное состояние боковой цепи Asp⁵. Результаты расчета Gly³-Ser⁷ свидетельствуют о резкой энергетической дифференциации конформаций. Из весьма представительного набора структурных вариантов, сформированных только из самых низкоэнергетических монопептидных состояний, в интервал 0–2 ккал/моль попадает лишь одна конформация пентапептида шейки *ffff*, а в интервал 0–4 ккал/моль — 11 конформаций семи типов. Энергетические характеристики последних приведены в табл. 5, а шейки пептидных скелетов даны на рис. 2.

Предпочтительность глобальной конформации $B^3-P^4-R_{21}^5-R^6-B_{32}^7$ * со свернутой формой основной цепи шейки *ffff* обусловлена дисперсионными

* Нижние индексы характеризуют конформационное состояние боковой цепи (см. табл. 1).

Энергетическое распределение конформаций фрагмента $C^{\alpha}CO-Gly^3-Gly^4-Asp^5-Ala^6-Ser^7-NHC^{\alpha}$ стимулятора сна

Шейп	Интервал энергии, ккал/моль						
	>6	6—5	5—4	4—3	3—2	2—1	1—0
<i>eeee</i>	9	1	—	—	—	—	—
<i>eeef</i>	8	—	1	1	—	—	—
<i>eeef</i>	5	3	—	—	—	—	—
<i>efee</i>	10	—	—	—	—	—	—
<i>feee</i>	7	2	1	—	—	—	—
<i>eeff</i>	7	—	—	1	—	—	—
<i>effe</i>	7	1	—	—	—	—	—
<i>ffee</i>	7	2	1	—	—	—	—
<i>efef</i>	8	—	2	—	—	—	—
<i>jeef</i>	8	—	—	—	2	—	—
<i>feje</i>	2	2	4	—	—	—	—
<i>efff</i>	6	1	—	1	—	—	—
<i>fffe</i>	3	3	2	—	—	—	—
<i>feff</i>	4	2	—	—	2	—	—
<i>ffef</i>	7	1	—	—	2	—	—
<i>ffff</i>	4	1	1	1	—	—	1

тетра- и пентапептидным взаимодействиями, суммарной эффект которых составляет $-8,3$ ккал/моль, а также взаимодействиями основной цепи Gly^3 со сближенной при $\chi^1 \sim 180^\circ$ боковой цепью Asp^5 (табл. 5). Энергия конформаций $B^3-P^4-B_{21}^5-R^6-B_{32}^7$ и $R^3-R^4-B_{21}^5-R^6-B_{32}^7$ шейпа *ffef* выше глобальной соответственно на 2,3 и 2,8 ккал/моль. Это связано со значительным ослаблением тетра- и пентапептидного взаимодействий (до $-0,7$ и $-0,9$ ккал/моль), которое компенсируется, правда частично, повышением эффективности ди- и трипептидных контактов остатка Asp^5 с Ala^6 , Gly^3 и Ser^7 . Подобная ситуация в той или иной степени имеет место в некоторых низкоэнергетических конформациях с преимущественно свернутой основной цепью (шейпы *feff*, *efff* и др.). Все структуры, в которых преобладают развернутые участки пептидного скелета, имеют высокую энергию. Исключение составляет конформация $B^3-B^4-B_{21}^5-R^6-B_{32}^7$ шейпа *eeef*, энергия которой относительно невелика ($E_{отн}$ 3,6 ккал/моль). Значительный вклад в стабилизацию вносят здесь взаимодействия остатка Asp^5 со свернутой C-концевой частью фрагмента. Энергетический проигрыш конформеров пентапептида с развернутыми формами объясняется прежде всего отсутствием у них значительных взаимодействий между элементами основной цепи. Одновременно у конформеров этой группы ослаблены контакты боковой цепи Asp^5 с пептидным остовом. Остаток Asp^5 имеет менее громоздкую, чем Trp^1 , и менее лабильную, чем Glu^9 , боковую цепь, и ее взаимодействия с ближайшими элементами основной цепи более эффективны, когда она образует не развернутую, как в случае Trp^1 и Glu^9 , а свернутую форму.

Величина относительной энергии фрагмента Gly^3-Ser^7 наиболее чувствительна к дисперсионным взаимодействиям остатков. Различия в величинах энергии электростатических и торсионных взаимодействий у низкоэнергетических конформаций, приведенных в табл. 5, не превышают соответственно 1,5 и 1,1 ккал/моль; еще меньше отличаются их суммарные вклады. Поэтому в данном случае распределение конформаций в энергетической пикиле практически полностью определяется дисперсионными взаимодействиями, энергия которых в том же ряду структур изменяется симбатно от $-12,6$ до $-8,1$ ккал/моль. Этот же вид взаимодействий в значительной степени определяет стабильность конформационных состояний свободных фрагментов Trp^1-Ala^2 и Gly^8-Glu^9 . Однако доминирующее влияние невалентных взаимодействий может претерпеть изменение при объ-

Энергетические характеристики низкоэнергетических конформаций фрагмента C α -Gly³-Gly⁴-Asp⁵-Ala⁶-Ser⁷-NHС α стимулятора сна

Шейп	Конформация	E _{отн}	Энергии взаимодействий, ккал/моль												
			МОНО-		ДИ-				ТРИ-				ТЕТРА-		ПЕНТА-
			$\sum_{i=1}^7$ X _i	$\sum_{i=1}^3$ X _i	Gly ³ ... Gly ⁴	Gly ⁴ ... Asp ⁵	Asp ⁵ ... Ala ⁶	Ala ⁶ ... Ser ⁷	Gly ³ ... Asp ⁵	Ala ⁶ ... Ser ⁷	Gly ⁴ ... Ala ⁶	Asp ⁵ ... Ser ⁷	Gly ³ ... Ala ⁶	Gly ⁴ ... Ser ⁷	
<i>fiff</i>	<i>B³-P⁴-R⁵-R⁶-B⁷</i>	0	8,9	0,2	-0,4	-1,1	-1,9	-2,1	-0,9	-0,5	-2,2	-2,8	-3,3		
	<i>R-R-R₂₁-R-B₃₂</i>	3,4	9,1	-0,6	0,7	-1,2	-1,9	-3,1	-0,9	-0,5	-2,2	-1,5	-1,4		
<i>ffef</i>	<i>B-P-B₂₁-R-B₃₂</i>	2,3	8,5	-1,1	-0,4	-2,2	-1,9	-3,2	-0,3	-2,4	-0,6	0	-0,1		
	<i>R-R-B₂₁-R-B₃₂</i>	2,8	8,3	-0,7	-0,6	-2,0	-1,9	-2,3	-0,3	-3,0	-0,7	0	-0,2		
<i>teff</i>	<i>B-L-R₂₁-R-B₃₂</i>	2,4	8,4	-1,5	-0,9	-1,1	-1,4	-3,5	-1,4	-0,6	0	-2,1	-0,1		
	<i>R-B-R₃₁-R-B₃₂</i>	2,7	8,0	-0,5	-0,7	-1,1	-1,4	-4,5	-0,4	-0,6	-0,1	-1,8	-0,2		
<i>feef</i>	<i>B-L-B₂₁-R-B₃₂</i>	2,6	8,4	-1,3	-0,3	-2,3	-1,9	-2,7	-0,2	-3,0	0	0	-0,1		
	<i>R-B-B₂₁-R-B₃₂</i>	2,9	8,3	-0,6	-0,2	-2,3	-1,9	-3,5	-0,2	-3,1	0	0	-0,3		
<i>eeff</i>	<i>B-B-R₃₁-R-B₃₂</i>	3,3	8,5	-1,3	-0,7	-1,1	-1,4	-2,9	-0,5	-0,6	-0,1	-2,2	-0,2		
<i>eeef</i>	<i>B-B-B₂₁-R-B₃₂</i>	3,6	8,5	-1,3	-0,1	-2,3	-1,8	-1,9	-0,2	-2,8	0	0	0		
<i>efff</i>	<i>R-P-R₂₁-R-B₃₂</i>	3,7	9,2	-0,5	-0,3	-1,2	-1,9	-1,5	-1,0	-0,7	-0,5	-2,4	-2,1		

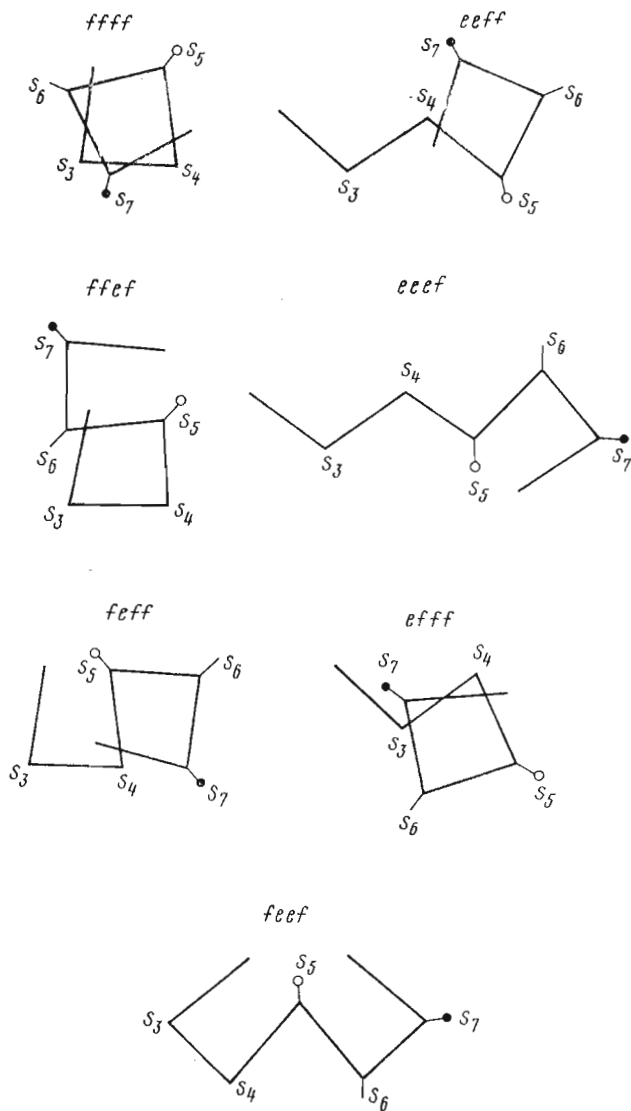


Рис. 2. Шейны низкоэнергетических конформаций фрагмента Gly³-Gly⁴-Asp⁵-Ala⁶-Ser⁷ δ-пептида

единении трех рассмотренных участков δ-пептида в единую молекулу, где важную структурную роль приобретают электростатические взаимодействия между заряженными остатками Trp¹, Asp⁵ и Glu⁹. Поэтому, несмотря на существенную энергетическую дифференциацию конформационных состояний фрагмента Gly³-Ser⁷ по шейпу пептидного скелета (табл. 4), в окончательный расчет δ-пептида нами были включены самые низкоэнергетические варианты всех 16 шейпов пентапептида.

Молекула δ-пептида. На последнем этапе решения конформационной задачи нонапептида были проанализированы 288 структурных вариантов. Они включали в себя лучшие состояния каждого шейпа дипептидов Trp¹-Ala², Gly⁸-Glu⁹ и пентапептида Gly³-Ser⁷. Состыковка конформаций фрагментов осуществлена двумя способами: с помощью свернутой и развернутой форм основных цепей граничных участков Ala²-Gly³ и Ser⁷-Gly⁸. Поэтому весь набор структурных вариантов δ-пептида может быть описан всеми возможными комбинациями четырех шейпов участка Trp¹-Ala²-Gly³

Энергетическое распределение конформаций δ-пептида

Шейп				Интервал энергии, ккал/моль									
				>7	7-6	6-5	5-4	4-3	3-2	2-1	1-0		
ee ef fe ff	 	eeee eeef eefe efee feee eeff efje fjee efef feef fefe efff ffje feff ffef ffff	 	ee ef fe ff	16	—	—	—	—	—	—	—	—
					15	—	—	—	—	1	—	—	
					16	—	—	—	—	—	—	—	
					16	—	—	—	—	—	—	—	
					16	—	—	—	—	—	—	—	
					15	—	1	—	—	—	—	—	
					14	—	2	—	—	—	—	—	
					16	—	—	—	—	—	—	—	
					15	1	—	—	—	—	—	—	
					15	1	—	—	—	—	—	—	
					25	1	2	1	—	1	1	1	
					16	—	—	—	—	—	—	—	
					14	1	—	—	—	1	—	—	
					15	1	—	—	—	—	—	—	
					13	2	—	—	—	1	—	—	
					15	—	—	—	—	—	1	—	
20	4	5	2	—	—	1	—						

Таблица 7

Низкоэнергетические конформации δ-пептида

Шейп	Конформация	E _{отн}	Энергетические вклады, ккал/моль *		
			E _{нев}	E _{тор}	E _{эл}
ee eefee	B ₂₁ ¹ -B ² -B ³ -L ⁴ -B ₂₁ ⁵ -R ⁶ -B ₃₂ ⁷ -B ⁸ -B ₃₂₁ ⁹	0	-26,7	4,0	14,1
	B ₂₁ -B-R-B-B ₂₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	2,3	-27,1	4,0	16,7
ee eefef	B ₂₁ -B-B-L-B ₂₁ -R-B ₃₂ -R-B ₃₂₁	1,9	-25,1	4,1	14,4
	B ₂₁ -B-R-B-B ₂₁ -R-B ₃₂ -R-B ₃₂₁	4,4	-26,7	4,0	18,5
fe ffffee	R ₂₁ -B-B-P-R ₂₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	2,4	-28,7	5,3	17,2
	B ₂₁ -R-B-P-R ₂₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	4,8	-29,4	6,3	19,2
ff ffffee	R ₂₁ -R-B-P-R ₂₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	4,9	-28,3	4,6	19,9
	R ₂₁ -R-B-B-B ₂₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	2,6	-25,4	6,2	13,2
ff fefef	R ₂₁ -R-R-R-B ₂₁ -R-B ₃₂ -R-B ₃₂₁	2,9	-27,0	6,4	15,0
	B ₁₁ -R-B-L-R ₁₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	3,4	-27,7	6,8	15,7
ff efffee	B ₂₁ -R-R-P-R ₂₁ -R-B ₃₂ -B-B ₃₂₁	3,8	-25,0	4,8	15,3

* Энергия водородных связей включена в E_{нев}.

(ee, ef, fe и ff), 16 шейпов Gly³-Gly⁴-Asp⁵-Ala⁶-Ser⁷ (табл. 4) и четырех шейпов Ser⁷-Gly⁸-Glu⁹ (ee, ef, fe, ff). Каждый тип структуры фрагмента представлен одним, наиболее предпочтительным конформационным состоянием. Только шейпы ffff и feef фрагмента Gly³-Ser⁷ были представлены двумя низкоэнергетическими состояниями с различными формами основной цепи. Таким образом, все 288 рассмотренных структурных вариантов δ-пептида различались по форме и принадлежали к 256 (максимально возможному числу для нонапептида) шейпам пептидного скелета. Перебор различных положений боковых цепей Trp¹, Asp⁵ и Glu⁹ выполнен для низкоэнергетических конформаций нонапептида, а также в ряде случаев при снятии стерических напряжений у остатков противоположных концов цепи. Как правило, ориентация боковых цепей у предпочтительных конформаций молекулы δ-пептида оставалась прежней, т. е. отвечала наилучшим фрагментарным ситуациям.

Результаты минимизации энергии нонапептида при варьировании всех двугранных углов Φ, Ψ, ω, χ молекулы отражены в табл. 6. В каждой строке таблицы приведено энергетическое распределение конформаций,

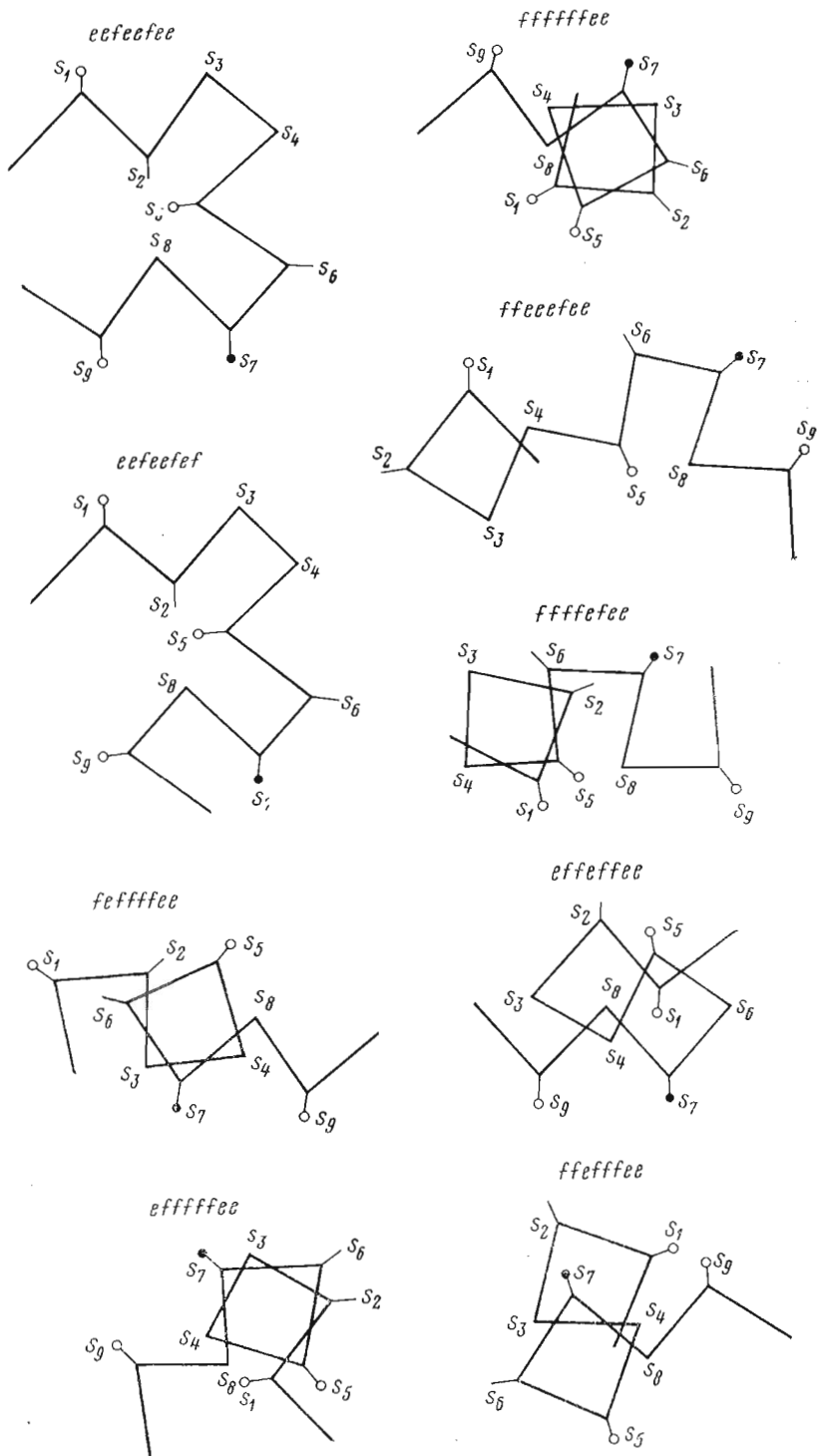


Рис. 3. Шейны низкоэнергетических конформаций δ -пептида Trp¹-Ala²-Gly³-Gly⁴-Asp⁵-Ala⁶-Ser⁷-Gly⁸-Glu⁹

имеющих одинаковое состояние центрального пентапептидного участка Gly³-Ser⁷ и различные состояния (*ee*, *ef*, *je* и *ff*) N- и C-концевых трипептидных участков. Представленные данные позволяют прежде всего сделать важное заключение общего характера: молекула δ-пептида имеет строго детерминированное пространственное строение, т. е. не является флуктуирующим клубком. Относительной энергией от 0 до 2,0 ккал/моль обладают лишь две родственные конформации. В широкой энергетической интервал 0–5,0 ккал/моль попадает 11 конформаций. Они приведены в табл. 7, где также указаны их величины $E_{отн}$ и энергетические вклады невалентных, торсионных и электростатических взаимодействий. На рис. 3 схематически изображены шейки пептидных скелетов этих конформаций.

Самые низкоэнергетические конформации δ-пептида (семь из 11, приведенных в табл. 7) принадлежат к двум немногочисленным семействам. Первое семейство включает четыре структурных варианта с состоянием пентапептидного участка Gly³-Ser⁷ типа *feef*, второе состоит из трех несколько менее предпочтительных конформаций с состоянием центрального участка типа *fff*.

В вводной части сообщения, рассматривая особенность аминокислотной последовательности δ-пептида, мы отмечали, что его конформационные свойства определяются главным образом двумя факторами, которые, однако, не могут быть в полной мере реализованы одновременно. Представители первого семейства являются псевдоциклическими конформерами, в которых отрицательно заряженные аминокислотные остатки максимально удалены друг от друга. Поэтому они наиболее предпочтительны в отношении энергии электростатических взаимодействий, но уступают по энергии невалентных, дисперсионных взаимодействий, особенно между элементами пептидного остова. У лучшей конформации этого типа величина $E_{эл}$ на 3,1 ккал/моль меньше, чем у самого низкоэнергетического представителя второго семейства. В конформациях со свернутой формой пентапептидного участка Gly³-Ser⁷ типа *fff* максимальна стабилизация за счет дисперсионных скелетных взаимодействий. Следовательно, в одном случае доминирующей оказывается роль электростатического фактора, а в другом — дисперсионного. Полярные взаимодействия по сравнению с невалентными обладают значительно меньшим градиентом и особенно чувствительны к влиянию внешней среды. В условиях более полярного окружения или при взаимодействии с рецептором роль электростатического фактора может стать менее важной и тогда возможно смещение конформационного равновесия в сторону более свернутых форм второго семейства. На реальность индуцированных средой вполне определенных конформационных перестроек указывает наличие нескольких сравнительно низкоэнергетических структурных вариантов δ-пептида с промежуточными между *feef* и *fff* состояниями центрального участка Gly³-Ser⁷ (*ffef*, *jeff* и *eeff*) и состояния *eeef* (табл. 7).

Рассмотрим более детально характер межостаточных взаимодействий в двух самых низкоэнергетических конформациях шейпов пептидного скелета *eejeefee* ($E_{отн}$ 0 ккал/моль) и *jeffffee* ($E_{отн}$ 2,4 ккал/моль). В табл. 8 приведены треугольные матрицы энергетических составляющих, а в табл. 9 — значения геометрических параметров этих конформаций. В глобальной структуре δ-пептида ($E_{отн}$ 0 ккал/моль) сближены N- и C-концевые остатки (Trp¹ и Glu⁹), несущие противоположные заряды. Энергия их взаимодействий составляет –10,7 ккал/моль. Боковая цепь Trp¹ ориентирована к последующим остаткам ($\chi^1 \sim 180^\circ$) и нависает над участком Ala²-Gly²; энергия взаимодействий между ними равна –6,0 ккал/моль. Боковая цепь Glu⁹ направлена в сторону предшествующих остатков ($\chi^1 \sim -60^\circ$) и взаимодействует с участком Ser⁷-Gly⁸ (–4,0 ккал/моль). Центральное положение в конформации занимает остаток Asp⁵ (рис. 3), и в силу этого он образует весьма эффективные контакты со всеми остатками молекулы. Энергия стабилизирующих взаимодействий Asp⁵ с участками

Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях δ -пептида шейпов *eeffee* ($E_{\text{отн}}=0$ ккал/моль, верхняя строка) и *feffffee* ($E_{\text{отн}}2,4$ ккал/моль, нижняя строка) *

	Trp ¹	Ala ²	Gly ³	Gly ⁴	Asp ⁵	Ala ⁶	Ser ⁷	Gly ⁸	Glu ⁹
Trp ¹	-0,5 0,3	-4,0 -4,2	-2,0 -0,4	-0,2 0	-3,1 -3,4	0 -1,4	-0,1 -1,0	-0,1 0	-10,7 -5,7
Ala ²		1,2 1,3	-0,3 -0,4	-1,5 -0,6	-1,3 -0,8	0 -1,5	-0,2 -2,6	-0,9 0	-0,1 0,1
Gly ³			1,3 1,3	-0,2 0,8	-0,6 -1,0	0 -0,2	0 -1,0	0 -0,1	0 -0,4
Gly ⁴				1,3 1,2	-0,3 -0,3	-0,2 -0,9	0 -2,2	0 -1,6	-0,2 -0,1
Asp ⁵					2,9 3,4	-2,3 -0,8	-3,2 -0,7	-1,3 -0,4	7,2 5,1
Ala ⁶						1,3 1,2	-0,9 -1,0	-1,1 -1,0	0 0
Ser ⁷							1,6 1,6	-0,2 -0,1	-2,9 -2,9
Gly ⁸								1,3 1,3	-1,1 -1,2
Glu ⁹									8,8 8,8

* Энергия внутростаточного взаимодействия оценена на фрагменте $-\text{NH}-\text{C}^{\alpha}-\text{HR}-\text{CO}-$.

Таблица 9

Геометрические параметры (град) конформаций δ -пептида шейпов *eeffee* ($E_{\text{отн}}0$ ккал/моль, верхняя строка) и *feffffee* ($E_{\text{отн}}2,4$ ккал/моль, нижняя строка)

Остаток	Конформации	Основная цепь			Боковая цепь		
		Φ	Ψ	ω	χ^1	χ^2	χ^3
Trp ¹	B_{21}^1	-60	140	180	177	89	
	R_{21}^1	-60	-70	176	166	66	
Ala ²	B^2	-122	146	-179			
	B^2	-113	146	179			
Gly ³	B^3	-80	72	176			
	B^3	-62	125	172			
Gly ⁴	L^4	84	57	179			
	P^4	98	-68	-170			
Asp ⁵	B_{21}^5	-118	153	175	-173	87	
	R_{21}^5	-63	-61	-179	-176	89	
Ala ⁶	R^6	-68	-44	176			
	R^6	-88	-52	-177			
Ser ⁷	B_{32}^7	-89	65	-178	-60	179	
	B_{32}^7	-96	61	179	-58	179	
Gly ⁸	B^8	-81	70	-177			
	B^8	-81	68	-177			
Glu ⁹	E_{321}^9	-109	148		-59	179	89
	D_{321}^9	-110	148		-59	179	89

Trp¹-Gly⁴ и Ala⁶-Gly⁸ равна соответственно -5,2 и -6,8 ккал/моль, а дестабилизирующих с Glu⁹ - 7,2 ккал/моль. Конформационные состояния фрагментов Trp¹-Ala², Gly⁸-Glu⁹ и Gly³-Ser⁷ в глобальной структуре полностью отвечают наиболее выгодным конформациям свободных ди- и пентапептидов (табл. 2-5), что свидетельствует о согласованности всех межостаточных взаимодействий.

В конформации типа *jeffffee* ($E_{\text{отн}}$ 2,4 ккал/моль) противоположные концы молекулы удалены друг от друга (рис. 3) и электростатические взаимодействия между Trp¹ и Glu⁹ составляют всего -5,7 ккал/моль, т. е. на 5,0 ккал/моль меньше, чем у глобальной структуры. Вместе с тем в этой конформации на 2,1 ккал/моль ослабляется дестабилизирующий эффект электростатических взаимодействий между Glu⁹ и Asp⁵. Вследствие свернутого (но не α -спирального) характера основной цепи центрального участка сближенными в этой конформации оказываются многие остатки: Trp¹ с Ala⁶ и Ser⁷, Ser⁷ с Ala², Gly³ и Gly⁴, Gly⁴ с Gly⁸ (рис. 3). Общий эффект взаимодействий между ними равен -10,8 ккал/моль, тогда как у глобальной конформации он составляет -0,4 ккал/моль (табл. 8). Однако более слабыми становятся взаимодействия остатка Asp⁵ с Ala⁶, Ser⁷ и Gly⁸ (-1,9 ккал/моль; у конформации с $E_{\text{отн}}=0 \div 6,8$ ккал/моль).

Изложенные результаты конформационного анализа одного из гормонов, стимулирующих сон, - δ -пептида, могут быть использованы для целенаправленного синтеза соединений, моделирующих вполне определенные конформации природной молекулы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Monnier M., Hösli L. (1964) *Science*, **146**, 796-798.
2. Schoenenberger G., Monnier M. (1974) in: *Brain and Sleep* (van Praag H. M., Meinardi H., de Erven Bohn B. V., eds), p. 39-69, Amsterdam.
3. Monnier M., Dudler L., Gächter R., Maier P. F., Tebler H., Schoenenberger G. (1977), *Experientia*, **33**, 548-552.
4. Попов Е. М. (1975) *Молекулярн. биология*, **9**, 578-593.
5. Попов Е. М. (1979) *Int. J. Quant. Chem.*, **16**, 707-737.
6. Попов Е. М., Мельников П. Н. (1979) *Биоорган. химия*, **5**, 828-847.
7. Попов Е. М., Касумова Л. И., Ахмедов Н. А., Максумов И. С., Годжаев Н. М. (1979) *Препринт ИТФ-79-43Р*, Киев.
8. Попов Е. М., Ахмедов Н. А., Липкинд Г. М. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1268-1279.
9. Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Попов Е. М. (1970) *Ж. структурн. химии*, **11**, 121-126.
10. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Дашевский В. Г. (1968) *Молекулярн. биология*, **2**, 622-630.
11. Lipkind G. M., Arkhipova S. F., Popov E. M. (1973) *Int. J. Peptide Protein Res.*, **5**, 381-397.
12. Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Будковская В. Н., Попов Е. М. (1974) *Молекулярн. биология*, **8**, 902-912.

Поступила в редакцию
29.I.1980

THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF BRAIN PEPTIDES. I. A SLEEP STIMULATOR

POPOV E. M., AKHMEDOV N. A., KASUMOV O. K., KASUMOV I. A.,
GODZHAEV N. M.

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow; S. M. Kirov Azerbaijanian State University, Baku

The conformational properties of a sleep stimulating brain hormone Tyr¹-Ala²-Gly³-Gly⁴-Asp⁵-Ala⁶-Ser⁷-Gly⁸-Glu⁹ (δ -peptide) have been considered. In aqueous solution the structure of the molecule with the pseudocyclic form of the backbone is the most preferred. The principal nonbonded interactions which stabilize this structure are those between the backbone and the side chains of Trp¹ and Glu⁹. A factor further lowering the energy of this structure is a strong electrostatic attraction of the NH₃⁺ and COO⁻ groups. Another low energy conformation has a folded shape of the backbone where end groups are remote. This conformation is stabilized by the interactions of the main chain atoms. A possibility is discussed that this conformation might be preferable at binding to the receptor in polar environment or under the conditions of weak intramolecular electrostatic contacts.