



УДК 547.964.4

КОНФОРМАЦИОННО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОТНОШЕНИЯ
ДЕРМОРФИНА И ЕГО ПЕНТАПЕПТИДНЫХ АНАЛОГОВШендерович М. Д., Лисенин И. Т., Никифорович Г. В.,
Сулбатьян Н. В.*, Коршунова Г. А.*, Швачкин Ю. П.**Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига;*** Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,**Межфакультетская научно-исследовательская лаборатория им.**А. Н. Белозерского*

С помощью методов теоретического конформационного анализа определены низкоэнергетические пространственные структуры пептидного остова молекулы дерморфина (Tyr¹-DAla²-Phe³-Gly⁴-Tyr⁵-Pro⁶-Ser⁷-NH₂, ДМ), амида ее N-концевого пентапептида (Tyr¹-DAla²-Phe³-Gly⁴-Tyr⁵-NH₂, ДМ-1-5) и четырех аналогов ДМ-1-5 с заменами остатка Gly в положении 4 на остатки Leu, DGI_n, Aal и Tal. Показано, что указанные аналоги обладают различным сродством к μ-рецепторам опиатных пептидов при тестировании специфического связывания с применением меченых препаратов. Сопоставление наборов низкоэнергетических структур ДМ, ДМ-1-5 и его аналогов позволило предложить модель «биологически активной» конформации дерморфина, характерной для молекулы при связывании с рецепторами μ-типа. Можно сделать вывод, что специфичность связывания с рецепторами этого типа определяется пространственной структурой N-концевого пентапептида в целом.

Дерморфин (ДМ), природный гептапептид с последовательностью Tyr¹-DAla²-Phe³-Gly⁴-Tyr⁵-Pro⁶-Ser⁷-NH₂, — предпочтительный агонист опиатных рецепторов μ-типа, обладающий определенным сродством к рецепторам δ-типа (см., например, обзор в [1]). Систематические исследования структурно-функциональных отношений дерморфина показали, что биологическая активность молекулы практически утрачивается при любой модификации α-аминогруппы и боковой цепи в положении 1 [1, 2] (кроме замены α-аминогруппы на гуанидиновую функцию [3]), а также при заменах на аланин в положениях 2, 3 и 5 [4]. Аналогичный эффект вызывает обращение конфигурации в этих же положениях [4]. Остатки в положениях 4, 6 и 7 могут быть заменены на аланин без существенной утраты активности [4]. N-Концевой пентапептидный фрагмент ДМ-1-5 (Tyr¹-DAla²-Phe³-Gly⁴-Tyr⁵-NH₂) также обладает сравнительно высокой активностью (см. [5, 6] и данные табл. 1); в работах [3, 6] были проанализированы структурно-функциональные отношения молекулы ДМ-1-5 при заменах в положении 5.

Однако вопрос о связи конформации молекулы дерморфина с проявлениями его биологической активности до сих пор остается мало исследованным в первую очередь из-за неясности представлений о возможных конформациях дерморфина. Данные спектроскопических работ [8—13] не позволяют предложить определенную модель конформации дерморфина в растворе: авторы работ [9, 11] полагают, что для молекулы характерны в основном вытянутые структуры, в работах [8, 10, 12] допускается существование изгиба в C-концевой части пептидного остова, а в работе [13] констатируется возможность наличия свернутых структур. В то же время теоретический конформационный анализ молекулы, проведенный в работах [12—14], также дает разноречивые результаты: наиболее низкоэнергетическими оказываются в работах [13, 14] свернутые, а в работе [12] — полусвернутые конформации остова.

Сокращения: ДМ — дерморфин, Aal — (2S)-2-амино-3-(аденин-9-ил)пропионовая кислота, Tal — (2S)-2-амино-3-(тимин-1-ил)пропионовая кислота, DAGO — [DAla², Phe(Me)⁴, Gly⁵-ol]энкефалин.

Данные биологического тестирования дерморфина и его пентапептидных аналогов

Номер соединения	Соединение	Изолированный орган *		Вытеснение Н ³ -налоксона, I ₅₀ , нМ
		IC ₅₀ , нМ (GPI)	IC ₅₀ , нМ (MVD)	
I	Дерморфин	0,33 (0,27–0,39)	21,6 (15,3–28)	5,7 **
II	Тыр-DAla-Phe-Gly-Тыр-NH ₂ (DM-1-5)	23 (11,7–33,8)	82 (51,3–113)	5,3
III	Тыр-DAla-Phe-Leu-Тыр-NH ₂ ([Leu ⁴]DM-1-5)	46,5 (42,4–50,6)	91 (79,6–102,4)	46
IV	Тыр-DAla-Phe-DGln-Тыр-NH ₂ ([DGln ⁴]DM-1-5)	2100 (1420–2680)	2600 (1610–3570)	790
V	Тыр-DAla-Phe-Aal-Тыр-NH ₂ ([Aal]DM-1-5)	1800 (1390–2210)	4600 (4060–5140)	1700
VI	Тыр-DAla-Phe-Tal-Тыр-NH ₂ ([Tal ⁴]DM-1-5)	160 (108–212)	425 (419–432)	170

* В скобках пределы доверительного интервала по уровню 0,95.

** Приведены данные работы [7] по вытеснению [³H]DAGO.

В настоящей работе исследование конформационно-функциональных отношений дерморфина проводится с помощью систематического теоретического конформационного анализа молекулы дерморфина, фрагмента DM-1-5 и четырех его аналогов с аминокислотными заменами в положении 4 (соединения (III)–(VI) в табл. 1), обладающих различным сродством к опиатным рецепторам μ -типа. При этом основным направлением исследования является выделение так называемой биологически активной конформации дерморфина, т. е. низкоэнергетической структуры остова DM, обладающей выраженным геометрическим сходством с низкоэнергетическими структурами DM-1-5 и его аналогов, характеризующихся высоким сродством к рецепторам, и в то же время несходной с такими же структурами аналогов, утративших сродство к рецепторам. Для этой цели могут в особенности подойти соединения (I)–(VI), поскольку в этом случае можно ожидать, что на уровень активности влияет не характер боковой цепи в положении 4 [4], а лишь изменения локальных стерических условий пептидного остова.

Синтез соединений (II)–(VI), упомянутых в табл. 1, был описан ранее [15], так же как и результаты их тестирования на изолированных органах: подвздошной кишке морской свинки (guinea pig ileum, GPI) и семявыводящем протоке мыши (mouse vas deference, MVD) [16]. В настоящей работе приведены также данные по вытеснению аналогами (II)–(VI) меченного тритием налоксона из гомогената мозга крыс (табл. 1). Величины I₅₀ хорошо коррелируют с величинами IC₅₀ для GPI (коэффициент корреляции $r = 0,986$). По данным табл. 1, можно, по нашему мнению, с уверенностью отнести соединения (I)–(III) к соединениям с высоким сродством к рецепторам μ -типа, а соединение (IV) — к соединениям с низким сродством, используя в дальнейшем это отнесение для выделения «биологически активной» конформации дерморфина.

Поиск возможных низкоэнергетических структур пептидного остова молекулы дерморфина был проведен в два этапа. На первом из них были рассмотрены все возможные конформации остова N-концевого пентапептида, соответствующие комбинациям локальных энергетических минимумов в различных квадрантах $\varphi - \psi$ -карт потенциальной энергии дипептидных единиц: *B* ($\varphi < 0^\circ$, $\psi > 0^\circ$), *R* ($\varphi, \psi < 0^\circ$), *L* ($\varphi, \psi > 0^\circ$) и *H* ($\varphi > 0^\circ$, $\psi < 0^\circ$). Для N-концевого остатка Тыр¹ рассматривали конформации *B* и *R*, для DAla² — *H*, *L* и *R*, для Gly⁴ — *H*, *L*, *R* и *B*, для предпролинового остатка Тыр⁵ — *B* и *L* и для остальных остатков — *B*, *R* и *L*. Конформации боковых цепей оптимизировали с помощью специального алгоритма [17] для каждой структуры остова. Оказалось, что 21 тип структуры остова пентапептида характеризуется относительной конформационной энергией $\Delta U \leq 7$ ккал/моль. Затем был проведен второй этап

Описание набора низкоэнергетических структур пептидного остова молекулы дерморфина

Структура	Двугранный угол, град												ΔU , ккал/моль		
	Tyr ¹		DAla ²		Phe ³		Gly ⁴		Tyr ⁵		Pro ⁶			Ser ⁷	
	Φ	Ψ	Φ	Ψ	Φ	Ψ	Φ	Ψ	Φ	Ψ	Φ	Ψ		Φ	Ψ
1	-121	-48	121	-32	-126	118	83	-55	-107	128	156	-121	140	0	
2	-121	156	164	57	-131	129	76	-80	-117	125	105	-142	145	0,29	
3	-122	143	84	-131	-65	-42	-82	79	53	137	137	-127	142	2,10	
4	-119	136	114	-141	-113	-47	-58	-42	-127	125	153	-122	140	2,28	
5	-123	136	109	-126	39	68	76	-80	-103	122	114	-136	141	2,81	
6	-112	-47	140	-130	-57	-44	-57	-53	-142	112	123	-142	137	3,94	
7	-121	145	-57	-115	-135	144	123	-119	-126	120	117	-135	143	4,91	
8	-123	150	-32	-84	-66	-47	-76	72	53	119	119	-141	39	5,01	
9	-124	144	108	38	-137	122	48	42	-132	-32	-32	-117	145	5,03	
10	-121	141	129	-151	-134	144	81	-73	-122	118	123	-125	14	5,32	
11	-121	151	165	50	-137	150	-73	74	-128	127	95	-145	142	5,29	
12	-120	141	137	-132	-122	147	-73	57	-139	132	137	-131	141	5,53	
13	-123	150	178	46	47	32	65	32	-146	-42	-42	-99	162	5,97	
14	-127	137	126	-144	-61	113	62	28	35	125	125	-141	142	6,07	
15	-121	147	90	-130	-53	-40	-110	77	-136	122	117	-137	142	6,63	

Мо- дель	Номер структуры																			Сое- дине- ние	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
δ μ		●		○	○	●	○		○	○	●	○	○	○							I
δ μ	○	●	○	●	○	●	●	○	●	●	○	●	○		○						II
δ μ	●	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			○	○	○				III
δ μ	○	○	●	○	○	●	○	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	IV
δ μ	○		○	●	●		●	●	●	○	○										V
δ μ	○																				VI

Рис. 1. Сопоставление «биологически активных» конформаций молекулы энкефалина для рецепторов μ - и δ -типа с наборами низкоэнергетических структур остова молекулы (I)–(IV). Отмечены случаи $D \leq 0,5 \text{ \AA}^2$ (●) и $D \leq 1,0 \text{ \AA}^2$ (○)

расчета, на котором для каждой из упомянутых структур был найден наиболее низкоэнергетический вариант конформации C-концевого дипептида $\text{Pro}^6\text{-Ser}^7\text{-NH}_2$. В результате были отобраны 15 типов низкоэнергетических ($\Delta U \leq 7$ ккал/моль) структур остова молекулы дерморфина, которые легли в основу дальнейшего анализа (см. табл. 2).

Большинство структур табл. 2 относится к числу свернутых, стабилизированных водородными связями внутри пептидного остова, хотя, например, в структурах 7, 9, 12 такие связи отсутствуют. Во многих структурах возникает водородная связь $(\text{Tyr}^5)\text{NH}\dots\text{OC}(\text{Phe}^3)$, замыкающая семичленный цикл (структуры 1, 2, 3, 5, 8, 10, 11, 15). В ряде структур α -аминогруппа сближена с карбонилем остатков Gly^4 или Tyr^5 (структуры 1, 3, 4, 6, 8, 13, 15). Изгиб β -типа в районе остатков $\text{Phe}^3\text{-Gly}^4$ характерен для структур 1, 14 и особенно 6. Расчетные вицинальные константы $J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$ для структур табл. 2 не противоречат экспериментально измеренным в [8, 9, 11, 12]. В то же время экранирование от растворителя амидного протона остатка Gly^4 , предлагаемое в [11], хоть и имеет место в структурах 3, 6, 7, 8, 12, 15, не характерно для структур табл. 2 в целом.

Теоретический конформационный анализ для молекулы ДМ-1-5 и ее аналогов (III)–(VI) был проведен таким же образом, как и первый этап конформационных расчетов молекулы дерморфина; для остатка Tyr^5 рассматривалась добавочно конформация остова R. Низкоэнергетические ($\Delta U \leq 7$ ккал/моль) структуры пептидного остова указанных пептидов описаны в табл. 3. Можно отметить весьма незначительную конформационную подвижность соединения (VI): оказалось, что лишь одна конформация остова характеризуется водородными связями типов $\alpha\text{-NH}_3\dots\text{OC}(\text{Gly}^4)$ и $(\text{Tyr}^5)\text{OH}\dots\text{OC}(\text{DAla}^3)$, благодаря чему эта конформация приобретает существенный выигрыш в конформационной энергии.

Ключевыми элементами, определяющими способ взаимодействия опитных пептидов с рецепторами, являются, по общему мнению (см. обзор [18]), α -аминогруппа и боковая цепь остатка Tyr^1 , а также ароматическая боковая цепь остатка Phe (в случае дерморфина — Phe^3 , хотя не исключено также участие Tyr^5 [4]). В работе [19] с помощью алгоритма оценки геометрического сходства пар конформаций, изложенного в методической части, были предложены модели «биологически активных» конформаций остова молекулы $[\text{Leu}]$ энкефалина для взаимодействия с рецепторами μ - и δ -типов. Модели различаются по пространственному расположению пяти «центров»: группы $\alpha\text{-NH}_3$, C^α - и C^β -атомов остатков Tyr и Phe ,

Описание наборов низкоэнергетических структур молекул пентапептидных аналогов дерморфина

Соединение	Структура	Двугранный угол, град												ΔU , ккал/моль
		Tyr ¹		DAla ²		Phe ³		Gly, Leu, DGlut ⁴ , Ala, Val		Tyr ⁵		Φ		
		φ	ψ	φ	ψ	φ	ψ	φ	ψ	φ	ψ			
DM-1-5 (II)	1	-125	140	135	-132	-128	151	94	62	-139	138	0		
	2	-121	153	157	47	-159	153	-85	62	-144	140	1,34		
	3	-124	141	138	-133	-127	152	91	59	-133	-47	1,87		
	4	-121	153	157	47	-158	148	-83	67	-143	-47	2,17		
	5	-119	141	149	-131	-116	126	78	-66	-123	-42	2,57		
	6	-121	155	156	50	-117	-46	-98	124	-120	142	3,75		
	7	-121	156	154	53	-121	-47	-94	115	-118	-42	4,5		
	8	-124	147	143	39	-138	113	81	-59	-127	146	4,9		
	9	-121	156	155	53	-118	-48	91	46	-138	141	5,29		
	10	-119	150	152	-171	38	49	92	-65	-140	-52	5,30		
	11	-123	144	104	32	-137	123	50	46	-126	139	6,15		
	12	-121	154	156	47	-160	157	-80	64	-46	31	6,55		
	13	-127	141	117	-143	-111	-48	-76	-34	-117	-4	6,75		
	14	-121	146	-46	-36	-120	171	-65	88	-140	135	6,98		
	15	-121	146	125	-121	-84	-40	-94	59	-138	-48	7,08		
	[Leu ⁵]DM-1-5 (III)	1	-121	153	152	52	-112	-40	-109	135	-132	142	0	
		2	-122	153	153	52	-112	-40	-110	133	-129	-47	0,94	
3		-125	135	133	-148	-127	-55	-114	141	-132	139	1,22		
4		-121	141	143	-130	-118	118	-128	130	-135	143	4,08		
5		-123	145	141	44	-134	126	-429	132	-136	141	4,48		
6		-121	147	96	55	57	26	-140	140	-142	141	5,00		
7		-126	139	98	35	-134	-53	-114	-42	-125	140	5,12		
8		-121	144	102	57	59	23	-161	109	-139	-49	5,31		
9		-117	140	113	-117	-89	-28	-120	139	47	36	5,65		
10		-121	139	125	-141	-126	144	-114	134	-112	-41	5,88		
11		-118	139	153	-134	-109	-44	-115	-48	-131	-50	6,01		
12		-124	145	141	45	-134	126	-129	132	-134	-48	6,02		
13	-102	-34	134	-80	-123	-43	-107	145	-143	144	6,12			
14	-135	158	-49	-99	-117	157	-108	136	-131	142	6,29			
15	-115	-53	123	-121	-117	144	-102	128	-114	-41	6,58			
16	-134	157	-51	-99	-134	149	-105	128	-116	-40	6,62			
17	-114	-52	130	-116	-118	141	-116	137	-132	142	6,91			

Соединение	Двугранный угол, градус												ΔU , ккал/моль
	Структура		Tур ¹		DAla ²		Phe ³		Gly, Leu, DGIa ⁴ , Ala, Tal		Tур ⁵		
	Ф	ψ	Ф	ψ	Ф	ψ	Ф	ψ	Ф	ψ	Ф	ψ	
[DGIa ⁴]DM-1-5 (IV)	1	-123	141	132	-132	-129	142	114	46	-133	138	0	
	2	-120	142	136	-133	-128	144	110	44	-128	-44	1,6	
	3	-121	157	152	53	-118	-50	99	29	-139	-56	3,43	
	4	-122	140	118	-132	-106	-39	129	137	-131	140	4,08	
	5	-122	143	-49	-98	-142	132	114	49	-141	152	4,37	
	6	-121	147	139	49	-140	-50	128	-142	-137	139	5,11	
	7	-121	170	118	-132	-132	-39	129	-138	-125	-47	5,43	
	8	-114	-50	129	-123	-124	130	127	-136	-131	131	5,46	
	9	-119	146	-33	-85	-96	104	-50	-97	-136	147	5,63	
	10	-120	141	146	-138	-104	-31	128	49	-137	146	5,66	
	11	-113	-50	123	-112	-99	136	-57	-117	-145	137	5,7	
	12	-122	140	107	-120	-108	125	-58	-112	-137	143	5,88	
	13	-136	153	-47	-96	-135	151	113	-126	-129	147	6,01	
	14	-111	-50	125	-126	-122	137	130	-131	-131	-52	6,04	
	15	-123	139	141	-136	-125	141	120	-122	-49	30	6,31	
	16	-124	146	113	45	-136	150	120	48	-133	142	6,51	
	17	-135	155	-50	-98	-136	146	127	-124	-120	-38	6,75	
	18	-121	153	161	50	-105	-30	126	-122	48	32	6,81	
	19	-121	143	107	-123	-113	108	111	-116	-128	-52	6,98	
[Aal ⁴]DM-1-5 (V)	1	-178	153	99	-122	-62	-36	-128	127	-101	-30	0	
	2	-69	137	98	-130	-72	-30	-103	126	44	73	2,43	
	3	-62	139	128	-124	-123	107	-132	113	-133	133	3,80	
	4	-64	153	164	54	-116	-47	-119	126	-110	2	3,86	
	5	-64	157	138	59	-132	163	-99	145	-134	133	4,48	
	6	-65	148	96	-113	-67	-82	-115	116	-146	136	4,54	
	7	-64	155	166	53	-109	-43	-147	148	-129	133	5,21	
	8	-53	-53	114	-112	-100	-30	-100	124	-118	6	5,29	
	9	-64	-56	155	57	-137	144	-99	124	-100	-15	6,54	
	10	-53	-53	109	-115	-131	163	-101	146	-133	135	6,55	
[Tal ⁴]DM-1-5 (VI)	1	-66	154	111	-102	-76	-24	-86	-37	-136	108	6,89	
	2	-66	153	105	-103	-105	-3	-136	141	-143	-55	0	
		-69	148	89	-66	-111	129	-131	20	-133	142	8,64	

СОЕДИНЕНИЕ

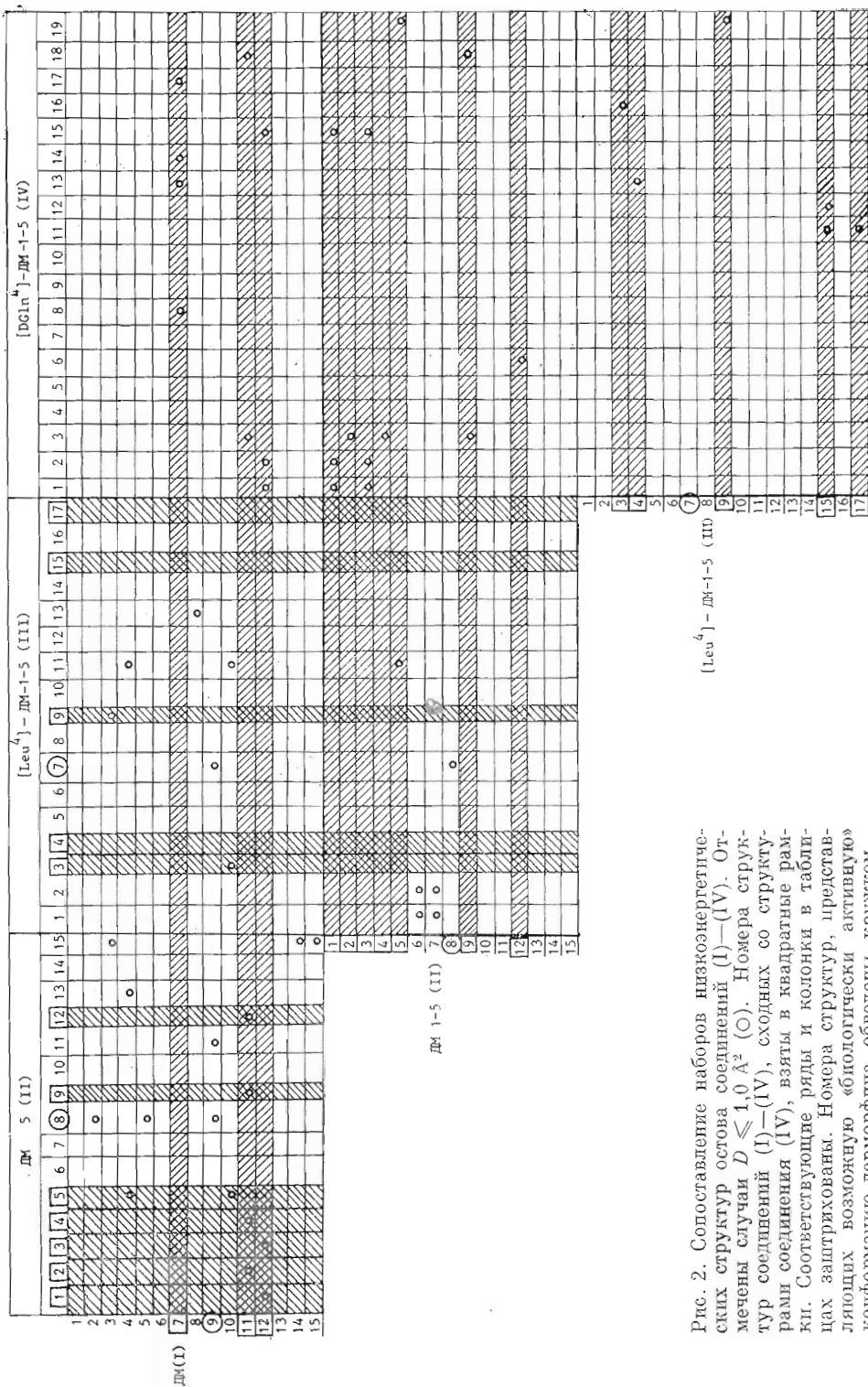


Рис. 2. Сопоставление наборов низкоэнергетических структур остова соединений (I)–(IV). Отмечены случаи $D \leq 1,0 \text{ \AA}^2$ (O). Номера структур соединений (I)–(IV), сходных со структурой соединения (IV), взяты в квадратные рамки. Соответствующие ряды и колонки в таблицах заштрихованы. Номера структур, представляющих возможную «биологически активную» конфигурацию дерморфина, обведены кружком

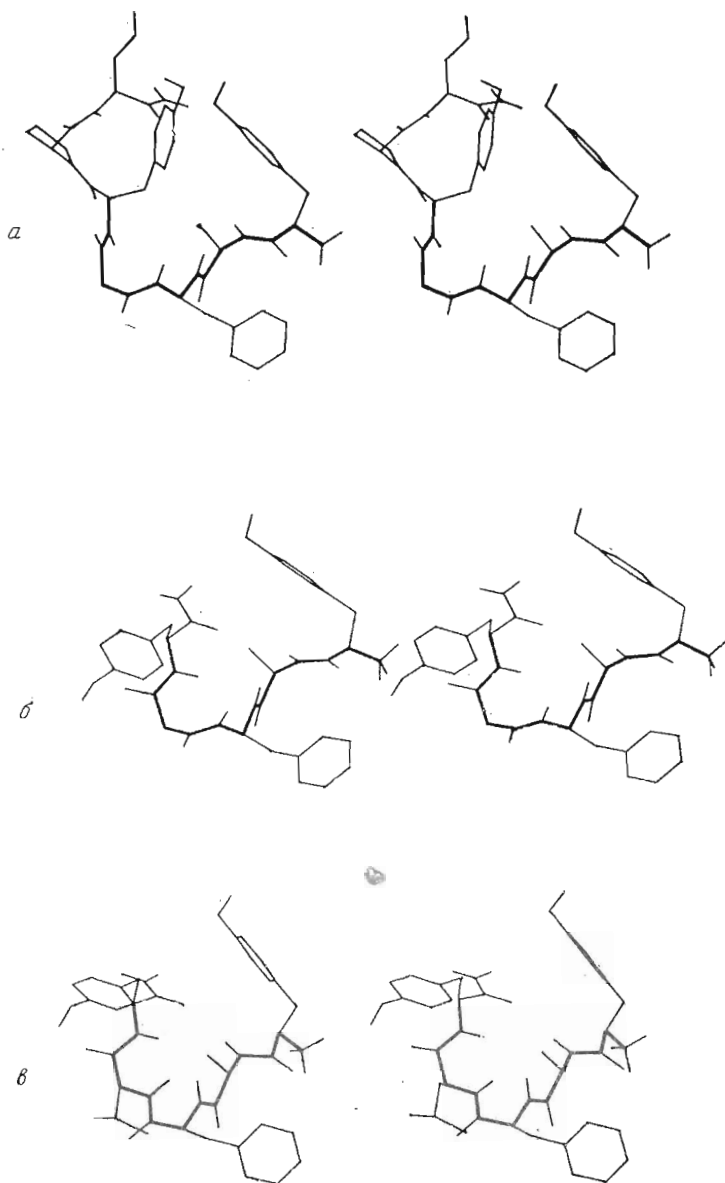


Рис. 3. Стереонизображение предлагаемых «биологически активных» структур молекул дерморфина (а), ДМ-1-5 (б) и [Leu¹]ДМ-1-5 (в). Ход пептидного остова фрагмента 1—5 выделен жирной линией

хотя величина D , характеризующая различие, оказывается скорее символической — $D \leq 0,60 \text{ \AA}^2$. На рис. 1 проиллюстрированы результаты сопоставления моделей из [19] с низкоэнергетическими конформациями соединений (I)—(VI); учитывалось пространственное расположение указанных пяти центров. Видно, что, как и ожидалось, конформации дерморфина и его аналогов сходны лишь с «биологически активной» конформацией энкефалина для рецепторов μ -типа, но не δ -типа. (Интересно, что та же процедура сравнения конформаций, проведенная с участием остатка Tyr⁵ вместо Phe³, не дает столь четкого различия между конформациями, характерными для разных типов рецепторов.) В то же время из рис. 1 видно, что, принимая во внимание только пять указанных центров, не удастся отделить молекулы с высоким сродством к μ -рецепторам (I)—(III) от молекулы с низким сродством (IV).

Можно полагать, таким образом, что в определении степени сродства дерморфина и его аналогов к опиатным рецепторам μ -типа принимают

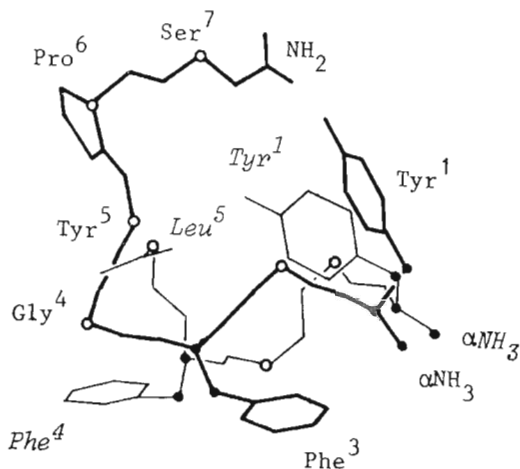


Рис. 4. Наилучшее геометрическое соответствие предлагаемой «биологически активной» конформации дерморфина (жирная линия) и «биологически активной» конформации энкефалина (светлая линия) для рецепторов μ -типа с учетом пространственного расположения α -аминогруппы, C^α - и C^β -атомов остатков Tyr и Phe (отмечены черными кружками). Остальные атомы C^α обозначены светлыми кружками. Кроме боковых цепей Tyr, Phe и Pro показан лишь основной ход пептидного остова. Обозначения, относящиеся к энкефалину, выделены курсивом

участие не только элементы, указанные в [18], но и другие функциональные группы в составе N-концевого пентапептида. На рис. 2 приведены результаты сопоставления конформаций молекул I—IV, описанных в табл. 1 и 2 с учетом пространственного расположения всех C^α - и C^β -атомов, а также атомов азота α -аминогруппы и C-концевого амида. Как видно из рис. 2 в данном случае у молекул (I)—(III) можно выделить структуры остова, сходные между собой (по уровню $D \leq 1,0 \text{ \AA}^2$) и в то же время не сходные со структурами остова молекулы (IV). Это конформации 9 молекулы дерморфина, 8 — ДМ-1-5 и 7 — молекулы [Leu⁴]ДМ-1-5. О степени их соответствия друг другу можно судить по рис. 3.

Конформации, изображенные на рис. 3, могут рассматриваться как вероятные «биологически активные» конформации дерморфина и его аналогов для связывания с рецепторами μ -типа, что подтверждается их сопоставлением с соответствующими моделями конформаций энкефалина (см. рис. 4 и 5, демонстрирующие обсуждаемый уровень сходства). Наиболее характерными чертами пространственной организации этих структур можно считать несколько искаженный β -витик в районе остатков Phe³-Gly/Leu⁴ (для молекул (I) и (II) — типа II, для молекулы III — типа III [20]), в котором, однако, отсутствуют стабилизирующие водородные связи, и Z-образное строение пептидного остова N-концевого трипептида Tyr¹-DAla²-Phe³. Следует особо отметить, что изображенное на рис. 3 пространственное расположение ароматических боковых цепей энергетически оптимально для данных структур остова, но не единственное: по углам внутреннего вращения χ_1 возможна, вообще говоря, значительная конформационная подвижность.

Предлагаемая «биологически активная» конформация дерморфина (структура 9 табл. 2) прекрасно согласуется с данными биологического тестирования аналогов дерморфина с изменением локальных стерических условий остова [4]. Например, то, что D-аминокислотный остаток не может находиться в конформации остова типа B, вероятно, объясняет причину утраты активности аналогами [D Phe³]- и [D Tyr⁵]ДМ, и наоборот, то, что остаток Gly¹ в «биологически активной» структуре находится в конформации типа L (а не H или R соответственно), позволяет объяснить сохранение уровня активности у аналогов [Ala⁴]- и [Tyr(Me)⁵]ДМ.

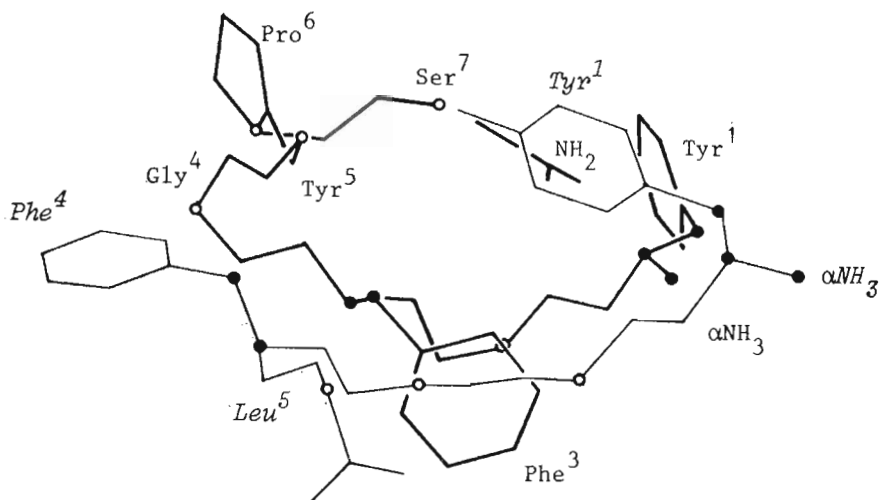


Рис. 5. То же, что и на рис. 4, для рецепторов δ -типа

Заметим, что данные об обсуждаемых аналогах никак не использовались при выделении «биологически активной» конформации дерморфина.

Сопоставление со структурами рис. 3 низкоэнергетических конформаций остова соединений с включением нуклеоаминокислотных остатков —(V) и(VI), проведенное с учетом всех C^{α} - и C^{β} -атомов, а также атомов азота концевых групп, показало, что по критерию $D \leq 1,0 \text{ \AA}^2$ ни одна из конформаций не сходна с предполагаемыми «биологически активными». Наименьшие значения D при сравнении с соединениями (I)—(III) соответственно были: для аналога (V) — $1,7 \text{ \AA}^2$ (структура 7 из табл. 3), $3,1 \text{ \AA}^2$ (структура 7) и $2,2 \text{ \AA}^2$ (структура 11), а для аналога (VI) — $9,5$; $7,6$ и $4,2 \text{ \AA}^2$. Это обстоятельство дает возможность предположить, что причиной обнаруженного сниженного сродства аналогов к μ -опиатным рецепторам (табл. 1) является не только наличие в составе молекулы «необычной» нуклеоаминокислоты, но и конформационные факторы.

Таким образом, основные выводы настоящего исследования:

- 1) предложена модель «биологически активной» конформации дерморфина и его аналогов при связывании с опиатными рецепторами μ -типа;
- 2) специфичность взаимодействия с рецепторами определяется, по-видимому, пространственной структурой N-концевого пентапептида в целом;
- 3) на взаимодействие с рецепторами пентапептидных аналогов дерморфина с заменами в положении 4 на нуклеоаминокислотные остатки Aal и Tal влияют конформационные факторы.

Методическая часть

Специфическое связывание синтетических пептидов с опиатными рецепторами мембран головного мозга крыс линии Вистар изучали в отделе биокинетики Межфакультетской НИЛ им. А. Н. Белозерского, МГУ. О степени специфичности связывания судили по результатам конкурентного вытеснения исследуемым соединением стандартного лиганда опиатных рецепторов — меченного тритием налоксона.

Теоретический конформационный анализ проводили в предположении жесткой валентной геометрии аминокислотных остатков (*транс*-конформация остатка Pro для дерморфина; см. [11]) с использованием системы потенциальных функций межатомных взаимодействий, описанной в [21], которая неоднократно применялась для поиска моделей «биологически активных» конформаций [22]. Значение макроскопической диэлектрической постоянной принимали равным $3,5$ для симулирования условий на поверхности рецепторных структур. Валентная геометрия и заряды на

атомах остатков Aal и Tal были установлены по результатам квантово-химических расчетов методом CNDO/2.

Геометрическое сходство конформаций пептидов определяли по величине дисперсии наилучшего пространственного совмещения координат N атомов, принадлежащих двум сопоставляемым конформациям, A и B , которая рассчитывалась по формуле

$$D = 1/N \sum_{i=1}^N [(x_i^A - x_i^B)^2 + (y_i^A - y_i^B)^2 + (z_i^A - z_i^B)^2],$$

где x, y, z — декартовы координаты этих атомов (см. также [23]). Наилучшее пространственное совмещение достигалось при использовании алгоритма [24].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *De Castiglione R.* // Highlights in Receptor Chemistry / Eds Helehorre C., Gran-nela M. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1984. P. 149—168.
2. *Darlak K., Grzonka Z., Janicki P., Czlonkowski A., Cumulka S. W.* // J. Med. Chem. 1983. V. 26. P. 1445—1447.
3. *Cervini M. A., Rossi A. C., Perseo G., De Castiglione R.* // Peptides. 1985. V. 6. № 3. P. 433—437.
4. *Darlak K., Grzonka Z., Krzascik P., Janicki P., Gumulka S. W.* // Peptides. 1984. V. 5. P. 687—689.
5. *Tomatis R., Salvadori S., Sarto G. P.* // Farmaco. Ed. sci. 1981. V. 36. № 11. P. 957—959.
6. *Salvadori S., Marastoni M., Tomatis R., Sarto G.* // Farmaco. Ed. sci. 1982. V. 38. № 3. P. 153—160.
7. *Marastoni M., Salvadori S., Balboni G., Borea P. A., Mazzola G., Tomatis R.* // J. Med. Chem. 1987. V. 30. № 9. P. 1538—1542.
8. *Toma F., Femandjian S., Darlak K., Grzonka Z.* // Spectros. Int. J. 1984. V. 3. P. 465—472.
9. *Pastore A., Temussi P. A., Tancredi T., Salvadori S., Tomatis R.* // Biopolymers. 1984. V. 23. P. 2349—2360.
10. *Gryczynski J., Kawski A., Darlak K., Grzonka Z.* // J. Photochem. 1985. V. 30. P. 371—377.
11. *Arlandini E., Ballabio M., De Castiglione R., Giola B., Malnati M. L., Perseo G., Rizzo V.* // Int. J. Peptide and Protein Res. 1985. V. 25. P. 33—46.
12. *Toma F., Dive V., Femandjian S., Darlak K., Grzonka K.* // Biopolymers. 1985. V. 24. P. 2417—2430.
13. *Pattabiraman N., Sorensen K. R., Langridge R., Bhatnagar R. S., Renugopalakrishnan V., Rapaka R. S.* // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1986. V. 140. P. 342—349.
14. *Ranghino G., Tosi C., Barino L., Scordamaglia R., Fusco R.* // J. Mol. Structure (THEOCHEM). 1988. V. 164. P. 153—164.
15. *Сумбатян М. В., Греггер К., Коршунова Г. А., Швачкин Ю. П.* // Журн. общ. химии. 1987. Т. 57. Вып. 11. С. 2647—2648.
16. *Чиченков О. Н., Сумбатян Н. В., Рябцева О. Н., Коршунова Г. А., Шорр В. А., Швачкин Ю. П.* // Фармакология и токсикология. 1988. № 5. С. 17—20.
17. *Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Балодис Ю. Ю.* // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 2. С. 179—188.
18. *Paterson S. J., Robson L. E., Kosterlitz H. W.* // The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. V. 6. // Eds Udenfriend S., Meienhofer J. N. Y.: Acad. Press, 1984. P. 147—189.
19. *Nikiforovich G. V., Shenderovich M. D., Vesterman B. G., Betins J.* // Peptides — 1988. Proc. 20th Eur. Pept. Symp. In press.
20. *Zimmerman S. S., Scheraga H. A.* // Biopolymers. 1977. V. 16. P. 811—843.
21. *Nikiforovich G. V., Leonova V. I., Galaktionov S. G., Chipens G. I.* // Int. J. Peptide and Protein Res. 1979. V. 13. P. 363—373.
22. *Nikiforovich G. V.* // J. Mol. Structure (THEOCHEM). 1986. V. 134. P. 325—340.
23. *Никифорович Г. В., Балодис Ю. Ю., Чипенс Г. И.* // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 3. С. 308—312.
24. *Nyburg S. C.* // Acta Cryst. 1974. V. B30. P. 251—253.

Поступила в редакцию
11.11.1989

CONFORMATION-FUNCTION RELATIONSHIPS FOR DERMORPHINE AND ITS
PENTAPEPTIDE ANALOGUES

SHENDEROVICH M. D., LIEPINA I. T., NIKIFOROVICH G. V., SUMBATYAN N. V.*,
KORSIUNOVA G. A.*, SHVACHKIN Yu. P.*

Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences of the Latvian SSR, Riga;
** A. N. Belozersky Laboratory, M. V. Lomonosov Moscow State University*

Low-energy peptide backbone structures of dermorphine (DM), amide of its N-terminal pentapeptide (DM 1—5) and DM 1—5 analogues with substitutions of Gly⁴ for Leu, D-Gln, Aal or Tal were determined by energy calculations. The above analogues were shown to possess different affinities toward opiate receptors of μ -type. The comparison of low-energy backbone structures of DM, DM 1—5 and its analogues resulted in development of the dermorphine «biologically active» conformation being characteristic of its binding with μ -type receptors. The specific binding of dermorphine to this receptor apparently depends on the conformation of the whole N-terminal pentapeptide.