



УДК 547.962:541.63

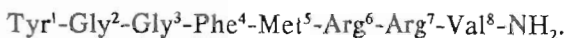
© 1993 Н. А. Ахмедов, Т. А. Махмудова,
Е. М. Попов*

ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ПРИРОДНЫХ ПЕПТИДОВ ОТ СТРУКТУРЫ
К ФУНКЦИИ
III*. СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ АДРЕНОРФИНА
И ЕГО ИСКУССТВЕННЫХ АНАЛОГОВ

Бакинский государственный университет им. М. Э. Расулзаде, Баку;
* Российский заочный институт пищевой промышленности, Москва

Идентифицирован набор низкоэнергетических, потенциально физиологически активных конформаций адренорфина. Решена обратная структурная задача и предложены синтетические аналоги нейропептида, в своей совокупности отвечающие структурно-функциональной организации природной молекулы.

Ранее для ряда опиоидных нейропептидов ([Met]- и [Leu]энкефалинов, α -, γ -, δ -, β -эндорфинов и др.) была исследована структурно-функциональная организация молекулы [1—10]. В настоящем сообщении изложены результаты решения прямой и обратной структурных задач еще для одного соединения этой серии — адренорфина, октапептида, N-концевой участок которого имеет последовательность [Met⁵]энкефалина:



Молекула адренорфина относится к описидным пептидам и проявляет различные функции [11—12].

Определение оптимальных конформационных состояний молекулы адренорфина выполнено на основе конформационной теории природных пептидов и соответствующего метода расчета, развитых одним из нас в работах [13, 14]. Используемые в расчете потенциальные функции и полуэмпирические параметры для оценки невалентных, торсионных взаимодействий и водородных связей, указаны в работе [15]. При изложении результатов использована предложенная ранее [4] классификация пептидных структур по конформациям, формам основной цепи и шейпам. Принятые обозначения двугранных углов вращения (φ , ψ , ω , χ), однозначно определяющих геометрию молекулы, и отсчеты их нулевых значений соответствуют международной номенклатуре [16].

Аминокислотная последовательность адренорфина рассматривалась нами как [Met⁵]энкефалин, к C-концу которого присоединен трипептидный фрагмент Arg⁶-Arg⁷-Val⁸-NH₂. Конформационные возможности [Met]энкефалина ранее уже были рассмотрены [2, 7]. Расчет выявил значительную лабильность пространственного строения молекулы. В интервал 0—5,0 ккал/моль попали 16 состояний [Met]энкефалина, имеющих 11 различных форм основной цепи шейпов *efff*, *fffe*, *ffff*, *effe* и

* Сообщение III см. [1].

Относительная энергия (ккал/моль) конформаций трипептидного фрагмента Arg⁶-Arg⁷-Val⁸ адренорфина

Положения боковых цепей			Шейп и форма основной цепи					
			<i>ee</i>	<i>ff</i>	<i>ef</i>		<i>fe</i>	
Arg ⁶	Arg ⁷	Val ⁸	<i>BBB</i>	<i>RRR</i>	<i>BRR</i>	<i>BBL</i>	<i>RBB</i>	<i>RRL</i>
1222	1222	2	3,6	5,9	3,9	4,6	5,9	9,1
	2222		<u>1,8</u>	3,0	<u>1,0</u>	5,9	3,0	9,3
	3222		<u>1,9</u>	8,6	<u>1,6</u>	4,5	8,6	13,5
2222	1222	2	3,7	3,7	4,6	4,6	3,7	6,5
	2222		2,5	<u>1,7</u>	<u>1,8</u>	4,8	1,7	4,5
	3222		2,2	4,1	<u>0</u>	<u>2,0</u>	4,1	6,9
3222	1222	2	3,6	3,9	4,2	4,5	3,9	<u>3,3</u>
	2222		3,3	<u>2,2</u>	<u>2,2</u>	5,8	<u>2,2</u>	4,0
	3222		3,9	4,6	3,4	5,7	4,6	6,0

Примечание. Подчеркнуты конформации, использованные в расчете адренорфина.

ffef. Все они учитывались в качестве нулевых приближений в конформационном анализе адренорфина.

В основу расчета трипептидного фрагмента Arg⁶-Arg⁷-Val⁸-NH₂ положены низкоэнергетические конформационные состояния соответствующих аминокислотных остатков [17, 18]. В табл. 1 приведены относительные энергии пространственных структур трипептида, полученных после минимизации энергии при варьировании двугранных углов $\phi, \psi, \omega, \chi^1, \chi^2 \dots$ всех остатков. Как видно из таблицы, относительная энергия рассчитанных конформаций изменяется в интервале 0—13,3 ккал/моль. Для дальнейшего расчета выбраны 12 наиболее низкоэнергетических представителей цепи четырех шейпов.

Исходные для минимизации энергии структурные варианты адренорфина формировались из отмеченных выше 16 конформаций N-концевого пентапептида (Tyr¹-Met⁴) и 12 конформаций трипептида (Arg⁶-Val⁸). После оптимизации энергии, выполненной при варьировании значений двугранных углов основной и боковых цепей всех остатков, были уточнены ориентации боковых цепей Arg⁶ и Arg⁷ в отношении углов χ^3 и χ^4 .

Из рассмотренных 192 структурных вариантов адренорфина около половины оказались стерически запрещенными; относительная энергия остальных распределилась от 0 до 35 ккал/моль. В табл. 2 приведены лучшие оптимальные конформации молекулы, энергия которых не превышает 8,0 ккал/моль. Они имеют 17 различных форм основной цепи, принадлежащих 13 шейпам. Там же для каждой конформации даны энергетические вклады от невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий; в значение $U_{\text{нес}}$ входит энергия водородных связей.

В отношении геометрии [Met]энкефалинового фрагмента представленные в табл. 2 низкоэнергетические конформации адренорфина распадаются на четыре группы (A—D). Наименьшую свободную энергию имеют состояния группы A, предпочтительные и по внутренней энергии, и по энтропии. Впрочем, в отношении обоих факторов им сравнительно немного уступают наборы конформаций B и C. Представители этих групп, как правило, менее выгодны, чем конформации группы A, по энергии дисперсионных взаимодействий и водородных связей, но предпочтительнее последних по энергии электростатических и торсионных взаимодействий. Состояния группы D, заметно проигрывая по электростатике,

Относительная энергия ($U_{отн}$) и энергетические вклады невалентных ($U_{нев}$), электростатических ($U_{эл}$), торсионных ($U_{торс}$) взаимодействий оптимальных конформаций адренорфина

Конформация		Шейп	Пространственная группа	$U_{отн}$	Энергетический вклад		
Группа	№				$U_{нев}$	$U_{эл}$	$U_{торс}$
A	1	<i>ffffeef</i>	$B_{211}HRR_{21}B_{332}B_{2222}R_{3222}R_2$	0	-37,3	21,3	4,5
	2		$B_{2222}B_{3222}L_2$	2,5	-35,7	20,8	5,3
	3	<i>eff</i>	$R_{3222}R_{2222}R_2$	1,1	-38,5	20,4	7,6
	4	<i>efe</i>	$R_{3222}R_{2222}B_2$	1,6	-33,5	19,3	4,3
	5		$R_{3222}R_{1222}L_2$	5,6	-35,0	21,8	5,1
	6	<i>eee</i>	$B_{1222}B_{2222}B_2$	2,1	-33,6	19,3	4,3
B	7	<i>effeef</i>	$B_{131}BHB_{21}B_{212}B_{1222}R_{2222}R_2$	0,5	-34,1	19,6	3,5
	8		$B_{2222}B_{3222}L_2$	3,7	-33,5	20,8	4,7
	9	<i>eee</i>	$B_{1222}B_{2222}B_2$	1,8	-33,6	19,4	4,3
	10	<i>eff</i>	$R_{2222}R_{2222}R_2$	5,3	-36,6	21,4	8,9
C	11	<i>fffeef</i>	$B_{132}HRB_{33}B_{222}B_{1222}R_{2222}R_2$	2,5	-33,0	20,6	3,3
	12		$B_{2222}B_{3222}L_2$	3,2	-35,0	21,7	4,9
	13	<i>eee</i>	$B_{1222}B_{2222}B_2$	3,1	-32,4	20,0	4,1
	14	<i>fef</i>	$B_{132}HRB_{22}R_{222}B_{1222}R_{3222}R_2$	3,3	-33,3	21,5	3,4
	15	<i>eeef</i>	$B_{323}LHB_{22}B_{222}B_{2222}R_{3222}R_2$	5,9	-33,0	21,6	5,7
D	16	<i>efffef</i>	$B_{212}BHR_{21}R_{212}B_{1222}R_{2222}R_2$	5,2	-37,2	24,0	6,3
	17	<i>fee</i>	$B_{1222}B_{2222}B_2$	6,5	-35,8	22,9	7,4

оказываются весьма выгодными по невалентным взаимодействиям. Поэтому суммарное значение конформационной энергии ($U_{отн}$) этих состояний может претерпевать заметное изменение под влиянием растворителя или контактов с рецепторами. Из-за высокой чувствительности положения конформационного равновесия адренорфина к природе внешней среды и характеру межмолекулярных взаимодействий все состояния групп А—D потенциально физиологически активны и должны учитываться в последующем изучении структурно-функциональной организации гормона.

Численные значения геометрических параметров лучших конформаций каждой группы приведены в табл. 3.

Установление зависимости между структурой и функцией природного олигопептида, согласно предложенному в работах [19, 20] подходу, требует решения обратной структурной задачи, т. е. целенаправленного конструирования искусственных аналогов, пространственное строение которых отвечает набору низкоэнергетических конформационных состояний исходного гормона. Такая задача нами решена, и ниже приводится набор синтетических аналогов, удовлетворяющих отмеченному требованию.



* MeMet, MeArg, MeVal — соответствующие N^α-метиламинокислоты.

Геометрические параметры (град) предпочтительных конформаций различных шейпов пептидного скелета адренорфина

Остаток	Номер конформации (см. табл. 2)											
	1			7			11			16		
	Шейп											
	ffifeef			effeef			ffjeef			efffef		
Tyr	-173	154	178	-93	158	-179	167	158	179	-59	140	-177
	-177	75	0	50	-98	0	59	-95	178	-169	92	180
Gly	80	-83	180	-86	92	175	80	-71	180	-151	79	172
Gly	-67	-42	-176	90	-60	179	-161	-70	178	80	-79	176
Phe	-84	-52	180	-139	148	-179	-137	63	179	-94	-43	-172
	180	74		180	71		-60	-77		179	-113	
Met	-148	130	-170	-73	109	180	-155	142	-178	-135	-69	-159
	-75	-60	180	174	58	-179	-167	177	-177	-171	60	-178
	180			180			180			180		
Arg	-139	127	175	-163	158	180	-146	158	180	-157	156	180
	177	180	178	60	-179	-179	60	-179	-179	60	-179	-179
	179			180			180			180		
Arg	-101	-63	178	-92	-54	-179	-92	-54	-179	-92	-54	-179
	-61	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180
	180			180			180			180		
Val	-104	-62	180	-102	-61	180	-102	-61	180	-102	-61	180
	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180
$U_{отн}$	0			0,5			2,5			5,2		

Примечание. Значение двугранных углов даны в последовательности $\varphi, \psi, \omega, \chi^1, \chi^2 \dots$

Предложенные для синтеза и последующих биологических испытаний аналоги отличаются от природного гормона только своими конформационными возможностями. Результатом замен остатков Gly на Ala и D-Ala, как и последовательного N-метилирования остатков Met, Arg и Val, при сохранении всех функциональных атомных групп молекулы может быть лишь избирательное ограничение конформационной свободы адренорфина или даже полное запрещение всех его предпочтительных состояний. Помимо этого использованные химические модификации не могут привести к появлению у аналогов новых низкоэнергетических конформаций, отсутствующих у природного пептида.

В табл. 4 для предложенных синтетических аналогов приведены значения относительной энергии конформаций, отвечающих наиболее предпочтительным состояниям адренорфина (табл. 2). Из сопоставления видно, что произведенные замены приводят к резкой энергетической дифференциации потенциально физиологически активных пространственных форм гормона с различным в каждом случае положением конформационного равновесия. В результате из наиболее представительного у природной молекулы набора низкоэнергетических конформаций реальными у синтетических аналогов остаются лишь несколько структур одной группы. Так, у молекулы [Ala²]A¹Ph это конформации группы В, у [D-Ala²]A¹Ph — группы С, у [Ala³]A¹Ph — группы А. Некоторые химические модификации ведут к дифференциации в пределах отдельной группы. Например,

Относительная энергия (ккал/моль) оптимальных конформаций адренорфина (APh) и его синтетических аналогов

Конформация		Шейп	Форма основной цепи	APh	[Ala ²]APh	[D-Ala ²]APh	[Ala ³]APh	[D-Ala ³]APh	[MeMet ⁵]APh	[MeArg ⁶]APh	[MeArg ⁷]APh	[MeVal ⁸]APh
группа	№											
A	1	<i>ffjfeef</i>	<i>BHRRBBRR</i>	0	3,6	—	0	0	—	0	—	—
	2		<i>BBL</i>	2,5	—	—	2,7	1,9	—	0,7	—	—
	3	<i>eef</i>	<i>RRR</i>	1,1	5,1	6,2	0,5	0,1	—	4,6	—	—
	4	<i>efe</i>	<i>RBB</i>	1,6	4,7	—	1,5	0,7	—	—	—	0
	5		<i>RRL</i>	5,6	6,0	—	2,9	1,7	—	—	—	—
	6	<i>eee</i>	<i>BBB</i>	2,1	4,0	—	2,0	1,5	—	—	0,8	0,6
B	7	<i>effeef</i>	<i>BBHBBRR</i>	0,5	—	—	—	7,4	—	—	—	—
	8		<i>BBL</i>	3,7	0	—	—	1,5	—	2,5	—	1,3
	9	<i>eee</i>	<i>BBB</i>	1,8	3,5	—	—	5,0	—	—	—	5,7
	10	<i>eff</i>	<i>RRR</i>	5,3	—	—	—	3,0	—	—	—	—
C	11	<i>fffeef</i>	<i>BHRRBBRR</i>	2,5	7,2	0	4,2	2,6	1,4	—	—	—
	12		<i>BBL</i>	3,2	—	0,8	4,9	7,3	0	—	—	0,9
	13	<i>eee</i>	<i>BBL</i>	3,1	7,6	0,6	3,3	3,3	2,7	—	—	1,7
	14	<i>fef</i>	<i>BHRBRBRR</i>	3,3	7,9	0,8	5,3	6,7	0	—	5,1	—
	15	<i>eef</i>	<i>BLHBBRR</i>	5,9	—	—	—	1,8	—	—	—	—
D	16	<i>efffef</i>	<i>BBHRBBRR</i>	5,2	—	—	—	2,8	—	—	—	—
	17	<i>fee</i>	<i>BBB</i>	6,5	—	7,7	—	3,8	—	—	—	4,5

Примечание. Прочерк означает, что относительная энергия конформаций превышает 8,0 ккал/моль.

последовательные замены остатков Gly³, Arg⁶ и Val⁸ соответственно на Ala³, MeArg⁶ и MeVal⁸ не только выделяют в качестве самых предпочтительных состояния группы А, но существенно и каждый раз по-разному дифференцируют их по энергии. Аналогичная ситуация с состояниями группы С наблюдается при заменах остатков адренорфина Gly², Met⁵ и Arg⁷ на Ala², MeMet⁵ и MeArg⁷.

Таким образом, каждый из рассмотренных искусственных аналогов может принимать очень ограниченное количество конформаций (иногда только одну) из набора низкоэнергетических и, следовательно, физиологически активных пространственных форм природного пептида. В той же мере суживаются спектры их биологических действий по сравнению с полифункциональным спектром гормона. Знание конформационных возможностей адренорфина и рассмотренных синтетических аналогов достаточно при наличии результатов соответствующих биологических испытаний для идентификации всех активных конформаций и их отнесения к функциям гормона [18, 20].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ахмедов Н. А., Ахмедов Н. Ф., Аббаслы Р. М., Попов Е. М. // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 12. С. 1464—1472.
2. Попов Е. М., Годжаев Н. М., Ахмедов Н. А., Сулейманова Е. В. // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16. № 4. С. 482—491.
3. Сулейманова Е. В., Годжаев Н. М., Ахмедов Н. А., Попов Е. М. // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16. № 5. С. 649—660.
4. Ахмедов Н. А., Годжаев Н. М., Сулейманова Е. В., Попов Е. М. // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16. № 5. С. 661—667.

5. Ахмедов Н. А., Аббаслы Р. М., Попов Е. М.//Молекулярн. биология. 1989. Т. 23. Вып. 3. С. 676—682.
6. Ахмедов Н. А.//Молекулярн. биология. 1989. Т. 23. Вып. 1. С. 240—248.
7. Ахмедов Н. А.//Структура и функции биомолекул и клеточных систем. Баку, 1988. С. 3—8.
8. Ахмедов Н. А., Шевченко А. А.//Молекулярные процессы в биологических системах. Баку. С. 3—6.
9. Ахмедов Н. А., Махмудова Т. А.//Изв. АН АзССР. Сер. физ.-тех. мат. н. 1988. № 2. С. 83—87.
10. Попов Е. М., Ахмедов Н. А., Махмудова Т. А.//Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 12. С. 1454—1463.
11. Hruby V. J., Gehrig C. A.//Med. Res. Rev. 1989. V. 9. № 3. P. 343—401.
12. Ollat H., Parvez S., Parvez H.//Biogenic Amines. 1989. V. 6. № 4. P. 381—410.
13. Попов Е. М. Структурная организация белков. М.: Наука, 1989. 339 с.
14. Popov E. M.//Int. J. Quant. Chem. 1979. № 16. P. 707—737.
15. Akhmedov N. A., Akhverdiev G. A., Godjaev N. M., Popov E. M.//Int. J. Peptide and Protein Res. 1986. V. 27. № 2. P. 95—111.
16. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature//Biochim. et biophys. acta. 1971. V. 229. P. 1—17.
17. Жоров Б. С., Попов Е. М., Говырин В. А.//Молекулярн. биология. 1975. Т. 9. Вып. 5. С. 710—715.
18. Попов Е. М., Липкин Г. М., Архипова С. Ф., Дашевский В. Г.//Молекулярн. биология. 1968. Т. 2. Вып. 4. С. 622—630.
19. Попов Е. М.//Молекулярн. биология. 1985. Т. 19. № 4. С. 1107—1138.
20. Попов Е. М.//Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 9. С. 1229—1243.

Поступила в редакцию
22.XII.1992

*N. A. Akhmedov, T. A. Makhmudova, E. M. Popov**

APPROACH TO STUDY OF NATIVE PEPTIDES FROM STRUCTURE
TO FUNCTION. III. STRUCTURAL ORGANIZATION
OF ADRENORPHIN AND ITS SYNTHETIC ANALOGUES

*Baku State University, Baku;
* Russian Institute for Food Industry, Moscow*

Spatial structure of the peptide hormone adrenorphin was investigated by the theoretical conformational method. A solution of the «reverse conformational problem» for adrenorphin made it possible to predict a series of the modified synthetic analogues, which may assume one of the low-energy conformations of the native hormone.