



УДК 577.112.6:541.251

## ОСТАТОК ЛИЗИНА В КАЧЕСТВЕ АМИНОКИСЛОТНОЙ ЗАМЕНЫ ДЛЯ ОГРАНИЧЕНИЯ КОНФОРМАЦИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ ФРАГМЕНТА Хаа-Asp БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ ПОСРЕДСТВОМ ЛАКТАМИЗАЦИИ БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ

© 1997 г. П. В. Костецкий<sup>#</sup>, И. В. Артемьев*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Поступила в редакцию 16.07.96 г.

На примере модельного циклического пептида Ac-Lys-Asp-NHMe были рассмотрены возможности остатка Lys в качестве аминокислотной замены для ограничения конформационной свободы пептидного фрагмента Хаа-Asp с помощью лактамиизации боковых цепей остатков Lys и Asp. Методом теоретического конформационного анализа показано, что образующийся лактам может фиксировать ряд конформаций пептидов. 32 из них принадлежат 8 низкоэнергетическим областям линейного дипептида Ac-Ala-Asp-NHMe, моделирующего пептидный фрагмент Хаа-Asp. В этом случае пространственные возможности остатка Хаа ограничиваются двумя участками на  $\phi, \psi$ -карте аминокислотных остатков областей (A + G) и C в кодах Циммермана-Шераги.

*Ключевые слова:* циклический дипептид, теоретический конформационный анализ.

Многие биологически активные пептиды являются небольшими линейными молекулами, легко меняющими свою конформацию в зависимости от состава среды. Это обстоятельство затрудняет идентификацию биологически активной конформации пептида.

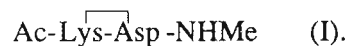
Среди методов получения конформационно затрудненных пептидов широко используется их лактамиизация с помощью  $\omega$ -функциональных групп аминокислотных остатков Lys или Orn и Glu или Asp. Этот прием был применен для повышения активности, улучшения селективности действия и метаболической устойчивости энкефалинов [1–3], релизинг-фактора гормона роста [4], холецистокинина [5–7], меланотропина [8] и других пептидов [9–14].

Лактамиизация боковых цепей применяется как для удаленных по цепи аминокислотных остатков [10, 15, 16], так и для близкорасположенных остатков, разделенных тремя [17], двумя [9–11, 13] или одним аминокислотным остатком [2, 18]. Известны также пептиды, в которых циклическая амидная связь образована боковыми цепями соседних остатков Lys и Glu (или Asp) [12, 19]. Интересно, что ограничение конформационной подвижности пептидов путем лактамиизации в ряде случаев достигалось с помощью введения в качестве аминокислотной замены остатков Asp [20], Glu [19] или Orn [2, 13, 18]. Например, если в состав исходного

пептида входит остаток Asp, то введение остатка Orn в качестве замены какой-либо другой аминокислоты позволит получить конформационно затрудненный циклический аналог.

Путем циклизации боковых цепей соседних остатков Lys и Glu L- и D-конфигурации М. Гудман с сотр. [12] синтезировали ряд дипептидов и тетрапептидов: Ac-Glu-Lys-NHMe, Ac-Lys-Glu-NHMe, Ac-Lys-Glu-Lys-Glu-NHMe, Ac-Glu-Lys-Glu-Lys-NHMe, Ac-Lys-Glu-D-Lys-D-Glu-NHMe, Ac-Glu-Lys-D-Glu-D-Lys-NHMe. С помощью физико-химических и теоретических методов были изучены конформационные возможности этих пептидов, содержащих циклические структуры из 12 атомов. Недавно циклизацией с помощью дифенилфосфорилазида был получен биологически активный циклический аналог тимопентина Arg-Lys-Asp-Val-Tyr, в котором боковые цепи соседних остатков Lys и Asp образуют лактам из 11 атомов [19].

Настоящая работа посвящена рассмотрению методом теоретического конформационного анализа пространственных возможностей простейшего циклопептида из соседних остатков Lys и Asp, образующих дополнительную амидную связь с помощью боковых цепей:



<sup>#</sup> Автор для переписки (e-mail: pkos@ibch.siobc.ras.ru).

Таблица 1. Число низкоэнергетических ( $\Delta E < 4.0$  ккал/моль) конформеров дипептида Ac-Lys-Asp-NHMe, объединенных в 42 группы, с буквенным обозначением конформационных состояний аминокислотных остатков по номенклатуре Циммермана-Шераги [23]

Asp Lys	A	G	B	C	D	E	F	A*	F*	G*	B*	C*	D*	E*	H	H*
A	8	10	0	8	9	13	10	0	0	0	0	0	0	2	0	0
G	4	7	0	6	5	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B	4	1	0	3	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	3	0	0	0	4
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
E	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	7	6
F	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	1	5	0	0	5	1
A*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F*	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C*	6	4	0	2	3	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H*	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0

Примечание. Жирным шрифтом отмечены группы конформеров, в которых оба аминокислотных остатка находятся в энергетически выгодных областях [23].

В качестве модельного пептидного фрагмента Хаа-Asp, конформационную подвижность которого желательно ограничить, использовали дипептид



Среди низкоэнергетических конформеров циклодипептида (I) находили те, для которых стереохимия основной цепи соответствует выгодным по энергии конформерам линейного дипептида (II). Для этих конформеров определяли положение допустимых областей на  $\phi$ ,  $\psi$ -картах остатков Asp и Lys.

С помощью компьютерного моделирования в приближении силового поля AMBER [21] с использованием программы теоретического конформационного анализа MOBY [22] сконструировали 186 конформеров дипептида (I) (см. "Экспериментальную часть"). При этом любые два конформера различались хотя бы одним торсионным углом на величину не менее  $60^\circ$ . Превышение потенциальной энергии конформеров дипептида (I) по сравнению с глобальным минимумом ограничили величиной 4 ккал/моль.

Все конформеры дипептида (I) можно разбить на группы, в которых конформационные состояния остатков Lys и Asp представлены буквенными кодами, предложенными Циммерманом и Шерагой для 16 областей  $\phi$ ,  $\psi$ -карт природных аминокислотных остатков [23]. Все 186 конформеров, энергия которых заключена в пределах 4 ккал/моль, образуют 42 группы (табл. 1). При этом 33 группы

содержат 2 и более конформеров, а 20 групп – даже от 5 до 12. Это свидетельствует о конформационных возможностях цепочки, образованной атомами боковых цепей остатков Lys и Asp.

Как показал Шерага с сотр. [23], ряд областей на  $\phi$ ,  $\psi$ -картах аминокислотных остатков являются невыгодными по энергии. Это области B\*, C\*, D\*, E\*, G\*, H, H\*. В них нет точек, отвечающих низкоэнергетическим минимумам ( $< 4$  ккал/моль) конформеров природных аминокислотных остатков, кроме остатка Gly. В случае же исследованного нами циклического дипептида (I) такие конформеры имеются в 19 группах из 42 (табл. 1). Естественно, однако, предположить, что не все конформеры циклического дипептида (I), в которых хотя бы один из остатков Lys или Asp находится в перечисленных областях, будут отвечать низкоэнергетическим нативным конформациям исходного линейного пептидного фрагмента Хаа-Asp.

Представляет интерес случай, когда содержащий фрагмент Хаа-Asp пептид при замене остатка Хаа на остаток Lys с последующей лактамизацией сохраняет свою низкоэнергетическую конформацию основной цепи и биологическую активность. В связи с этим важно провести сравнение конформационных возможностей циклического дипептида Ac-Lys-Asp-NHMe и модельного линейного дипептида (II).

Низкоэнергетические области  $\phi$ ,  $\psi$ -карт остатка Lys и других аминокислотных остатков

**Таблица 2.** Характеристики наиболее выгодных по энергии конформеров Ac-Lys-Asp-NHMe ( $\Delta E < 3.8$  ккал/моль), соответствующие низкоэнергетическим конформерам ( $\Delta E < 2.3$  ккал/моль) линейного дипептида Ac-Ala-Asp-NHMe

Код группы (число конформеров)	$\Delta E$ , ккал/моль	Двугранные углы, град												$R^a$ , Å
		Lys						$\omega$	Asp					
		$\varphi$	$\psi$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$		$\chi_5^b$	$\varphi$	$\psi$	$\chi_1$	$\chi_2^b$	
AA(3)	1.4 2.6 ...	-64 -56	-30 -35	69 80	98 -75	-161 156	68 -75	-86 -63	175 -170	-105 -86	-52 -48	-57 -51	-80 -84	4.6 5.5
AC(5)	1.0 2.4 2.6 ...	-65 -60 -69	-29 -32 -23	71 81 74	98 -76 100	-161 155 -157	67 -76 79	-88 -64 69	175 -170 -171	-109 -90 -97	58 76 65	-56 -51 -48	-78 -83 126	5.0 6.8 6.4
AD(5)	0.1 0.5 2.5 ...	-65 -64 -66	-52 -59 -60	-159 -172 -176	-72 -154 -134	-66 98 69	81 -55 62	-91 -39 32	-174 -171 -178	-130 -117 -137	70 64 68	-57 -61 -63	-88 -88 -81	5.3 5.4 5.3
AE(12)	0.0 0.6 1.9 2.4 ...	-69 -69 -65 -65	-51 -55 -29 -44	-159 -169 52 42	-72 -154 138 150	-66 59 -68 -101	81 40 -50 47	-93 20 -21 27	-174 -170 -177 -170	-133 -166 -136 -164	168 168 162 163	-55 47 -50 56	-87 70 -79 87	7.2 7.8 7.0 7.6
AF(1)	1.3	-66	-28	69	98	-160	68	-87	176	-108	133	-58	-80	6.6
AG(3)	0.4 1.1 ...	-70 -70	-53 -54	-158 -170	-72 -152	-67 57	80 39	-91 17	-173 -172	-131 -158	-59 -50	-56 41	-88 79	5.9 6.5
GE(2)	1.1	-159	-56	-170	-155	59	40	21	-170	-164	169	46	69	8.6
GA*(1)	1.6	-69	109	165	57	-157	63	-85	173	59	51	-44	-56	5.5

<sup>a</sup>R – расстояние между атомами углерода ацетильной и метиламидной групп, которое можно сопоставить с расстоянием между  $C^\alpha$ -атомами соответствующих остатков  $i-1$  и  $i+2$  пептидной цепи.

<sup>b</sup>Отсчет углов  $\chi_5$  и  $\chi_2$  остатков Lys и Asp, относящихся к неканонической амидной связи, ведется в соответствии с правилами IUPAC [27].

(кроме Gly) находятся в пределах допустимых областей остатка Ala. В качестве остатка Хаа может быть и остаток Gly, обладающий большой конформационной свободой. Однако, если остаток Gly в исходном пептидном фрагменте имеет конформацию вне разрешенных областей на  $\varphi$ ,  $\psi$ -карте остатка Lys, циклический аналог не сохранит необходимую нативную конформацию и потеряет биологическую активность.

Была вычислена потенциальная энергия конформеров линейного дипептида (II), имеющих те же значения двугранных углов основной цепи, что и конформеры циклического дипептида (I) табл. 1:  $\varphi_{Ala} = \varphi_{Lys}$ ,  $\psi_{Ala} = \psi_{Lys}$ ,  $\omega_{Ala-Asp} = \omega_{Lys-Asp}$ ,  $\varphi_{Asp}$ ,  $\psi_{Asp}$ . При этом стартовые значения двугранных углов боковой цепи остатка Asp  $\chi_1$  и  $\chi_2$  вследствие размыкания цикла могли изменяться в процессе предварительной минимизации энергии. Оказалось, что для всех конформеров с аминокислотными остатками в энергетически менее благоприятных областях В\*, С\*, D\*, Е\*, G\*, Н и Н\* по-

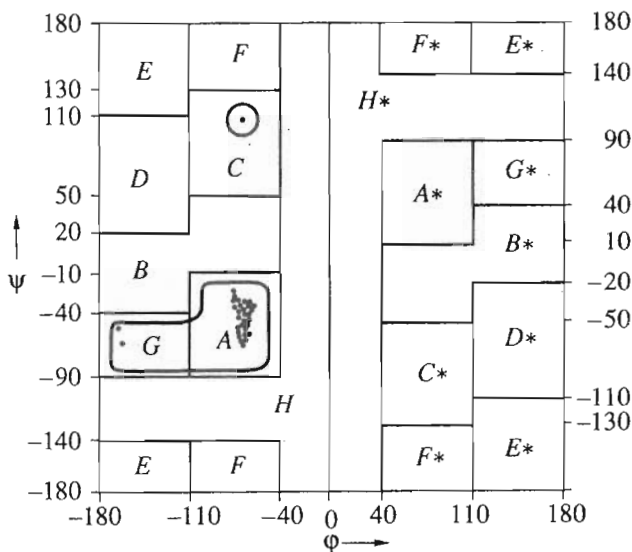
тенциальная энергия превышает 2.3 ккал/моль по сравнению с самым выгодным конформером дипептида (II). Если при этом уровень низкоэнергетических конформеров Ac-Lys-Asp-NHMe ограничить 3.8 ккал/моль, то в числе возможных “биологически активных” останутся только 32 конформера (табл. 2), в которых аминокислотные остатки имеют конформации, разрешенные в белковых молекулах [24]. Отметим, что для всех конформеров, представленных в табл. 2, амидная группа, соединяющая остатки Lys и Asp, отклоняется от планарности не более чем на  $10^\circ$ . Можно прийти к заключению, что лактамизация боковых групп соседних в пептидной цепи остатков Lys ( $i$ ) и Asp ( $i+1$ ) в ряде случаев возможна без нарушения низкоэнергетической нативной конформации исходного линейного пептида.

Как и следовало ожидать, все 32 “биологически активных” низкоэнергетических конформера циклического дипептида (I) содержат остатки Lys и Asp в энергетически выгодных областях А, С, D,

*E, F, G* и *A\** (табл. 2). При этом остаток Asp может находиться в любой из семи отмеченных конформационных областей, тогда как остаток Lys встречается только в трех из них – *A, G* и *C*. Таким образом, применение остатка Lys в качестве аминокислотной замены в минимальном пептидном фрагменте Хаа-Asp с последующим образованием конформационно ограниченного дипептидного участка  $\text{Lys-Asp}$  позволяет предсказывать биологически активные конформации остатка Хаа, предшествующего остатку Asp. Если такая замена не ведет к потере биологической активности, то двугранные углы  $\phi$  и  $\psi$  остатка Хаа располагаются в одной из трех областей – *A, G* или *C*. Исследование окрестностей 32 локальных минимумов  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$  с энергией, не превышающей 3.8 ккал/моль, соответствующих выгодным (<2.3 ккал/моль) конформерам  $\text{Ac-Ala-Asp-NHMe}$ , приводит к выявлению областей значений двугранных углов, в которых выполнены оба указанных ограничения. Две изолированные области занимают достаточно ограниченную часть  $\phi, \psi$ -карты (рисунок).

Как видно из данных табл. 2, только восемь парных комбинаций конформационных кодов остатков Lys и Asp встречаются среди 32 “биологически активных” конформеров  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$ . Можно видеть также, что еще более ограничены возможности участка основной цепи, определяемого двугранными углами  $\psi_{\text{Lys}}$  и  $\phi_{\text{Asp}}$ . Только две области значений этих углов наблюдаются в 32 низкоэнергетических конформерах  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$ :  $\psi_{\text{Lys}} = -60^\circ \dots -29^\circ$ ,  $\phi_{\text{Asp}} = -180^\circ \dots -86^\circ$  и  $\psi_{\text{Lys}} = 109^\circ$ ,  $\phi_{\text{Asp}} = 59^\circ$ . Тем не менее пространственные возможности  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$  достаточны, чтобы расстояние между атомами углерода ацетильной и метиламидной групп изменялось в широких пределах: от 4.6 до 8.6 Å (табл. 2). Это расстояние можно сопоставить с расстоянием между  $\text{C}^\alpha$ -атомами аминокислотных остатков  $i-1$  и  $i+2$  моделируемого участка пептидной цепи.

Среди рассматриваемых 32 конформеров дипептида  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$  имеются три низкоэнергетических *AA*-конформера (табл. 2). Интересно, что один из них,  $\phi_{\text{Lys}} = -56^\circ$ ,  $\psi_{\text{Lys}} = -35^\circ$ ,  $\phi_{\text{Asp}} = -86^\circ$ ,  $\psi_{\text{Asp}} = -48^\circ$ , близок по геометрии к канонической  $\alpha$ -спирали ( $\phi = -55^\circ \pm 20^\circ$ ,  $\psi = -55^\circ \pm 20^\circ$  [25]). По-видимому, протяженные  $\alpha$ -спирали из 5–6 и более аминокислотных остатков с прочной системой водородных связей могут существовать в модифицированных пептидах с циклической структурой, образованной боковыми цепями соседних остатков Lys и Asp. Возможное при этом небольшое напряжение не превышает, по нашим данным, 2–3 ккал/моль.



$\phi, \psi$ -Карта с буквенным обозначением пространственных областей по Циммерману–Шераге [23] остатка Lys при его применении в качестве аминокислотной замены для ограничения конформационной подвижности фрагмента Хаа-Asp биологически активного пептида посредством лактамизации боковых цепей. Точки соответствуют значениям двугранных углов остатка Lys в локальных минимумах энергии ( $\Delta E < 3.8$  ккал/моль)  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$ , отвечающих выгодным конформациям линейного дипептида  $\text{Ac-Ala-Asp-NHMe}$  ( $\Delta E < 2.3$  ккал/моль). Жирным контуром обозначены границы низкоэнергетических областей.

Из табл. 2 видно, что среди выгодных по энергии конформеров  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$  совсем не представлены *EE*-конформеры, соответствующие полностью развернутой  $\beta$ -структуре. Большинство конформеров циклопептида (I) (табл. 2) можно отнести к нерегулярным пространственным структурам.

Большое число допустимых конформеров дипептида  $\text{Ac-Lys-Asp-NHMe}$  с разными сочетаниями конформационных кодов повышает вероятность успешного создания конформационно жестких участков пептидной цепи с сохранением нативной конформации фрагмента Хаа-Asp. Следует отметить также, что переход между конформерами затруднен, если необходимо изменить угол  $\psi$  остатка Lys или угол  $\phi$  остатка Asp, определяющих одновременно стереохимию основной и боковой цепей пептида (I). Дело в том, что даже небольшие вариации этих углов (на  $15\text{--}20^\circ$ ) требуют серьезной трансформации стереохимии циклической дипептидной структуры с одновременным изменением сразу нескольких торсионных углов на  $60^\circ$  и более (табл. 2). Например, конформер *AD* с энергией 0.5 ккал/моль отличается от конформера *AE* с энергией 0 значением угла  $\phi$  остатка Asp на  $16^\circ$ , что сопровождается изменением

других торсионных углов циклической части молекулы  $\chi_2$ ,  $\chi_3$  и  $\chi_4$  остатка Lys на  $82^\circ$ ,  $164^\circ$  и  $136^\circ$  соответственно. В этом, очевидно, и состоит конформационная жесткость участка пептида, содержащего остатки Lys и Asp, связаных амидной связью с участком боковых цепей.

Таким образом, показано, что для ограничения конформационной подвижности биологически активных пептидов, содержащих минимальный фрагмент Хаа-Asp, можно использовать остаток Lys в качестве аминокислотной замены с последующей циклизацией боковых цепей остатков Lys и Asp. Стереохимия получаемого при этом конформационно ограниченного участка может отвечать низкоэнергетической биологически активной конформации исходного пептида. В этом случае пространственные возможности остатка, предшествующего Asp, ограничиваются двумя участками на  $\phi$ ,  $\psi$ -карте аминокислотных остатков областей (A + G) и C в кодах Циммермана-Шераги [23].

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Серии конформеров циклического дипептида (I) и линейного дипептида (II) конструировали с помощью программы теоретического конформационного анализа MOBY, использующей силовое поле AMBER [21, 22]. Программа позволяет находить минимумы потенциальной энергии валентных и невалентных взаимодействий молекул, содержащих до 150 атомов. Энергия валентных взаимодействий включает составляющие для отклонений длин связей и для отклонений валентных и торсионных углов от стандартных и наиболее выгодных значений. Энергия невалентных взаимодействий учитывает составляющие для ван-дер-ваальсовых и электростатических взаимодействий ( $\epsilon = 10$ ), но не включает возможные водородные связи в связи с небольшим размером изучаемых молекул.

Для расчетов использовали персональный компьютер IBM-486. Время поиска локального минимума потенциальной энергии одного конформера дипептида (I) или (II) составляет 4 мин. В качестве начального приближения брали с помощью датчика случайных чисел произвольные значения торсионных углов. Длина ОС-NH-связи и величины нескольких валентных углов циклизуемой части молекулы оказывались при этом далекими от стандартных значений. В процессе минимизации энергии происходило автоматическое устранение стереохимических дефектов в месте циклизации молекулы.

Каждую серию конформеров циклического дипептида (I) получали из 500 случайных начальных приближений, для которых осуществляли по 30 итераций минимизации потенциальной энергии

с последующим отбрасыванием конформеров с энергией более 500 ккал/моль и конформеров, поменявших L-конфигурацию аминокислотного остатка на D-конфигурацию. Потенциальную энергию (E) оставшихся конформеров минимизировали. Итерации заканчивались при соблюдении условия  $|\Delta E/E| < 10^{-4}$ . Из двух конформеров, двугранные углы которых различались не более чем на  $\pm 10^\circ$ , оставляли один, с меньшим значением энергии.

В каждой очередной серии минимизированных конформеров подсчитывали число конформеров (N) с заданным уровнем энергии и среди них количество ранее встречавшихся конформеров (N1). При этом два конформера считались различными, если они различались хотя бы одним торсионным углом на величину не менее  $60^\circ$ . Степень полноты выборки суммарного числа различающихся конформеров (p) оценивали соотношением  $p = N1/N$  [26]. Для циклического дипептида (I) накопили 186 конформеров с транс-конфигурацией амидных связей основной цепи и с величинами энергии менее 4 ккал/моль, что соответствует 92% предполагаемого суммарного числа различающихся конформаций. При этом для последних трех серий по 500 стартовых приближений  $N = 63, 60$  и  $61$ ,  $N1 = 50, 55$  и  $56$ ,  $p = 0.80, 0.91$  и  $0.92$  соответственно. Для достижения 95% полноты выборки потребовалось бы не менее 200 ч счета на IBM-486, что представлялось достаточно затруднительным.

При поиске конформера линейного дипептида (II) с наименьшей потенциальной энергией исходили из серий по 500 случайных стартовых приближений, как и в случае циклического дипептида (I). Сравнивали друг с другом только минимизированные до конечных условий конформеры с энергией не более 1 ккал/моль. Число серий увеличивали до тех пор, пока в трех последних сериях не изменялось значение потенциальной энергии самого выгодного конформера. При этом степень полноты суммарного набора конформеров, оцениваемая по вышеприведенному соотношению, соответствовала 90% предполагаемого общего числа конформеров с энергией не более 1 ккал/моль.

При поиске областей значений двугранных углов  $\phi$  и  $\psi$  остатка Lys, ограничивающих (рисунк) низкоэнергетические области пептида Ac-Lys-Asp-NHMe (I), исходили из локальных минимумов, которые соответствовали конформерам линейного дипептида Ac-Ala-Asp-NHMe (II) с наиболее выгодной энергией для каждой из областей A (1.4 ккал/моль), G (1.9 ккал/моль) и C (2.2 ккал/моль). В циклических конформерах разрывали амидную группу боковой цепи. Изменяя углы  $\phi$  и  $\psi$  остатка Lys на сетке с шагом  $\pm 5^\circ$  и зафиксировав их значения, вновь циклизовали молекулу, варьируя остальные двугранные углы. Для конформеров

циклического дипептида (I) с энергией менее 3.8 ккал/моль по найденным значениям двугранных углов  $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$  остатка Lys и  $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\chi_1$ ,  $\chi_2$  остатка Asp строили конформеры линейного дипептида (II). При фиксированных значениях двугранных углов основной цепи линейного пептида —  $\phi_{Ala} = \phi_{Lys}$ ,  $\psi_{Ala} = \psi_{Lys}$ ,  $\omega_{Ala-Asp} = \omega_{Lys-Asp}$ ,  $\phi_{Asp}$ ,  $\psi_{Asp}$  — производили минимизацию его энергии. Если энергия полученного линейного конформера не превосходила 2.3 ккал/моль, то выбранные  $\phi_{Lys}$  и  $\psi_{Lys}$  относили к искомой области значений двугранных углов. Увеличивая текущие значения  $\phi_{Lys}$  и  $\psi_{Lys}$  на величину шага сетки, анализировали следующую точку  $\phi$ ,  $\psi$ -карты. Таким образом доходили до границ областей, указанных на рисунке.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Schiller P.W., Nguyen T.M.D., Lemieux C., Maziak L.A. // J. Med. Chem. 1985. V. 28. P. 1766–1771.
- Schiller P.W., Nguyen T.M.D., Maziak L.A., Wilkes B.C., Lemieux C. // J. Med. Chem. 1987. V. 30. P. 2094–2099.
- Mierke D.F., Schiller P.W., Goodman M. // Biopolymers. 1990. V. 29. P. 943–952.
- Fry D.C., Madison V.S., Greeley D.N., Felix A.M., Heimer E.P., Frohman L., Campbell R.M., Mowels T.F., Toome V., Wegrzynski B.B. // Biopolymers. 1992. V. 32. P. 649–666.
- Charpentier B., Pelapart D., Durieux C., Dor A., Reibaud M., Blanchard J.C., Rooques B.P. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. P. 1968–1972.
- Charpentier B., Dor A., Roy P., England P., Pham H., Durieux C., Rooques B.P. // J. Med. Chem. 1989. V. 32. P. 1184–1190.
- Rooques B.P. // Biopolymers. 1992. V. 32. P. 407–410.
- Al-Obeidi F., Castrucci A.M., Hadley M.E., Hruby V.J. // J. Med. Chem. 1989. V. 32. P. 2555–2561.
- Rao M.H., Yang W., Joshua H., Becker J.M., Naider F. // Int. J. Pept. Protein Res. 1995. V. 45. P. 418–429.
- Анцанс Ю.Е., Бисенице Д.А., Восекална И.А., Мьшлякова Н.В., Чипенс Г.И. // Биооргани. химия. 1990. Т. 16. С. 358–369.
- Hoelzelmann G., Pachler K.G.R., Eberhart B., Hoelzel H., Kraft M., Barnickel G. // Int. J. Pept. Protein Res. 1991. V. 37. P. 283–292.
- Rone R., Manesis N., Hassan M., Goodman M. // Tetrahedron. 1988. V. 44. P. 895–924.
- Schmidt R., Neubert K. // Int. J. Pept. Protein Res. 1991. V. 37. P. 502–507.
- Боброва И.В., Мьшлякова Н.А., Пансевич О.С., Восекална И.А., Мекшун Е.И. // Биооргани. химия. 1995. Т. 21. С. 275–281.
- Bitar K.G., Somogyvari-Vigh A., Coy D.H. // Peptides. 1994. V. 15. P. 461–466.
- Valero M.-L., Camarero J.A., Adeva A., Verdaguier N., Fita I., Mateu M.G., Domingo E., Giralt E., Andreu D. // Biomed. Pept., Proteins Nucl. Acids. 1995. V. 1. P. 133–140.
- Campbell R.M., Bongers J., Felix A.M. // Biopolymers (Peptide Sci.). 1995. V. 37. P. 67–88.
- Schiller P.W., Nguyen T.M.-D., Maziak L.A., Lemieux C. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1985. V. 127. P. 558–564.
- Heavner G.A., Audhya T., Doyle D., Tjoeng F.-S., Goldstein G. // Int. J. Pept. Protein Res. 1991. V. 37. P. 198–209.
- Bolin D.R., Michalewsky J., Wasserman M.A., O'Donnell M. // Biopolymers (Peptide Sci.). 1995. V. 37. P. 57–66.
- Weiner S.J., Kollman P.A., Nguyen D.T., Case D.A. // J. Comput. Chem. 1986. V. 7. P. 230–252.
- Howeler U. Moby. Molecular Modelling on the PC. Berlin; Heidelberg; New York; Tokio: Springer Verlag, 1991.
- Zimmerman S.S., Pottle M.S., Nemethy G., Scheraga H.A. // Macromolecules. 1977. V. 10. P. 1–8.
- Попов Е.М. Структурная организация белков. М.: Наука, 1989. С. 80–81.
- Robson B., Garnier J. Introduction to Proteins and Protein Engineering. Amsterdam; New York; Oxford: Elsevier, 1988. P. 86.
- Соболь И.М. Метод Монте-Карло. М.: Наука, 1968. С. 5–8.
- Kendrew J.C., Klyne W., Lifson S., Miyazawa T., Nemethy G., Phillips D.C., Ramachandran G.N., Scheraga H.A. // Arch. Biochem. Biophys. 1971. V. 145. P. 405–421.

## Substitution of an Amino Acid Residue by Lys for Conformational Constraint of Xaa–Asp Fragment in Biologically Active Peptides by Side Chain Lactamization

P. V. Kostetsky and I. V. Artem'ev

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia

**Abstract**—The model cyclopeptide Ac–Lys–Asp–NHMe was used to test Lys as a possible substitute for Xaa in peptide fragment Xaa–Asp whose conformational mobility would be constrained by lactamization of the Lys and Asp side chains. By means of theoretical conformational analysis, such a lactam was shown to be capable of fixing several conformations of the peptide. Among them, 32 conformations corresponded to 8 low-energy regions of the linear peptide Ac–Ala–Asp–NHMe, which was chosen as a model for the peptide fragment Xaa–Asp. In this case, the conformational possibilities of the Xaa residue were constrained to two regions of the  $\phi$ ,  $\psi$ -map, (A + G) and C according to Zimmermann–Scheraga notation.

**Key words:** cyclic dipeptide, theoretical conformational analysis.