



УДК 547.96 : 541.6

КОНФОРМАЦИОННЫЕ СОСТОЯНИЯ БРАДИКИНИНА
И ЕГО АНАЛОГОВ В РАСТВОРАХ

I. СПЕКТРЫ КРУГОВОГО ДИХРОИЗМА

Иванов В. Т., Филатова М. П., Рейссманн З.**,
Реутова Т. О., Чехляева Н. М.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Исследованы спектры кругового дихроизма (КД) брадикинина в растворителях различной полярности, широком диапазоне температур, pH, концентраций и ионной силы. Исследована также серия синтетических аналогов брадикинина с модификацией α -аминогруппы (Cm-Arg¹), ароматических ядер (Cha³, Cha⁸, Cha^{3,8}, Tyr⁵, Tyr⁸), пептидной связи (Glc⁴, Glc⁶, Pla⁸), ароматического ядра и пептидной связи одновременно (Cla⁸) и аминокислотного остатка Ser (Gly⁶). На основании полученных данных высказывается предположение о присутствии в конформационном равновесии брадикинина в растворах по крайней мере двух родственных пространственных форм, обладающих свернутым типом структуры с параметрами Ф, Ψ большинства аминокислотных остатков, отвечающими области В конформационных карт. Результаты исследования аналогов брадикинина согласуются с сохранением у них в целом пространственной структуры исходного гормона, за исключением аналога [Glc⁴]-брадикинина с резко пониженной биологической активностью.

Настоящим сообщением открывается серия статей, посвященных исследованию пространственной структуры тканевого гормона брадикинина (I) и родственных пептидов в растворах. Интерес к выяснению конформационных состояний биологически активных пептидов обусловлен тем обстоятельством, что взаимная ориентация взаимодействующих атомов и групп пептида должна решающим образом влиять на его поведение в биологических системах. Особую ценность представляют данные, полученные для возможно более широких интервалов внешних условий, поскольку при этом выявляется динамика конформационного равновесия и потенциальные возможности молекулы пептида. В этом отношении исследования в растворах имеют определенные преимущества перед рентгеноструктурным исследованием кристаллических образцов, несмотря на непревзойденную разрешающую способность последнего.

До настоящего времени основные успехи были достигнуты при изучении трехмерных структур циклических пептидов, обладающих более ограниченной конформационной подвижностью, чем линейные пептиды, и потому легче поддающихся конформационному анализу [1].

* Настоящий адрес: Москва, Институт биологической и медицинской химии АМН СССР.

** Настоящий адрес: ГДР, Йена, Университет им. Фридриха Шиллера, отделение биохимии.

Проблема же определения пространственного строения линейных пептидных гормонов, антибиотиков, рилизинг-факторов и т. д., обладающих, как правило, высокой конформационной подвижностью, до сих пор остается нерешенной, несмотря на значительные усилия, предпринятые в этом направлении (см., например, работы по ангиотензину II [2—4], грамицидину А [5], рилизинг-фактору лютеотропного гормона [6]).

Сложность задачи побудила нас использовать при исследовании брадикинина комплексный подход, включающий применение широкого набора спектральных методов в сочетании с теоретическим конформационным анализом. В данной работе изучены кривые КД брадикинина в растворителях различной полярности, в широком диапазоне температур, рН и ионной силы. Полученные данные позволяют оценить конформационную подвижность брадикинина и высказать предположение о природе наблюдаемых конформационных перестроек. Кроме того, в работе исследованы кривые КД серии синтетических аналогов брадикинина (II—XII), необходимые для интерпретации данных по природному гормону или для контроля за конформационными перестройками, вызываемыми изменениями в первичной структуре; большинство перечисленных аналогов подверглись дальнейшему исследованию в последующих работах настоящей серии.

(I)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg
	Брадикинин
(II)	Arg-Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Phe-Arg
	[Cha ⁶]-брадикинин
(III)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Cha-Arg
	[Cha ⁸]-брадикинин
(IV)	Arg-Pro-Pro-Gly-Cha-Ser-Pro-Cha-Arg
	[Cha ⁵ , Cha ⁸]-брадикинин
(V)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg
	[Gly ⁶]-брадикинин
(VI)	См-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg
	[См-Arg ¹ , Gly ⁶]-брадикинин
(VII)	Arg-Pro-Pro-Glc-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg
	[Glc ¹]-брадикинин
(VIII)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Glc-Pro-Phe-Arg
	[Glc ⁶]-брадикинин
(IX)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg
	[Gly ³ , Phe ⁸]-брадикинин
(X)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Phe-Arg
	[Gly ⁶ , Phe ⁸]-брадикинин
(XI)	Arg-Pro-Pro-Gly-Tyr-Gly-Pro-Phe-Arg
	[Tyr ⁵ , Gly ⁶]-брадикинин
(XII)	Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Tyr-Arg
	[Gly ⁶ , Tyr ⁸]-брадикинин

Cha — β-циклогексил-L-аланин; Glc — гликолевая кислота; Phe — β-фенил-L-молочная кислота; Phe — β-циклогексил-L-молочная кислота; См — 2, 2, 6, 6-тетраметил-1-оксил-4-пиперидил-уксусная кислота.

В литературе уже имеется ряд работ, посвященных анализу хироптических свойств брадикинина. В первой работе Боданского и сотр. [7] и выполненной на более современном оборудовании работе Тониоло [8] авторы ограничились констатацией схождения кривых КД/ДОВ брадикинина в водных растворах при нейтральных рН с соответствующими кривыми полипептидов в конформации «статистического клубка», откуда был сделан вывод об отсутствии α-спиральных и β-участков в молекуле гормона. Бреди и сотр. [9] изучили влияние растворителя, кислотности среды и температуры на параметры кривых КД брадикинина и серии его аналогов, на основании чего пришли к заключению о неупорядоченной структуре гормона во всех исследованных условиях. Кани и сотр. [10—12], напротив, показали, что при переходе от воды к 90%-ному водному диоксану или при повышении температуры водного раствора наблюдаются су-

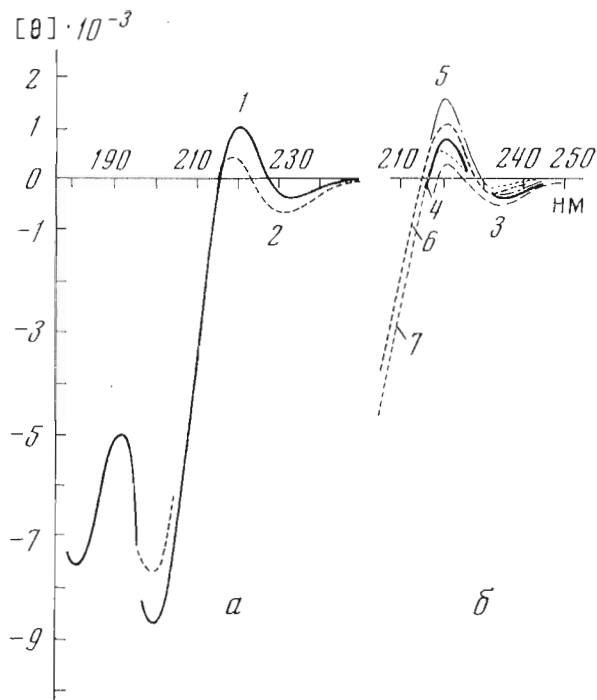


Рис. 1. Кривые КД брадикинина в водных растворах: 1 — pH 1,2; 2 — pH 8,2; 3 — 1 М хлоридрат гуанидина, 36°; 4 — 1 М хлоридрат гуанидина; 5 — 1 М хлоридрат гуанидина, 6°; 6 — 1 М NaCl; 7 — 1 М KCl. Здесь и в последующих рисунках, если температура не указана, измерения проводились при 20°

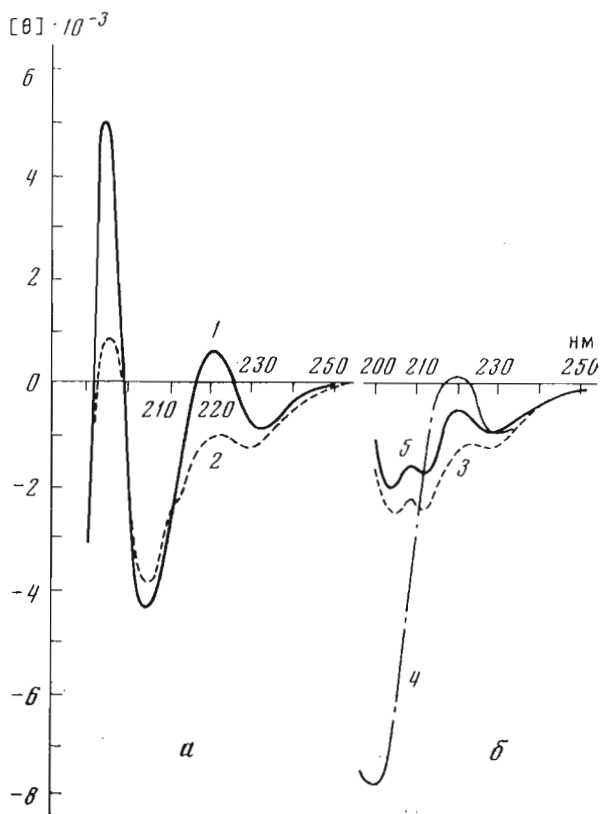


Рис. 2. Кривые КД брадикинина в 96% этаноле: 1 — pH 2,0; 2 — pH 8,2; 3 — $2,0 \cdot 10^{-2}$ М NaCl; 4 — 1 М NaClO₄, 5 — $0,7 \cdot 10^{-2}$ М KCl

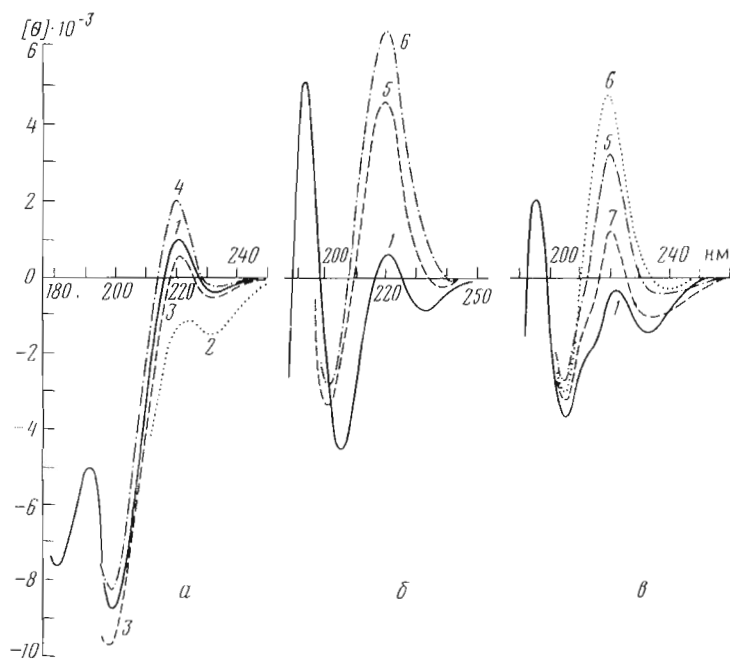


Рис. 3. Кривые КД брадикинина в воде (а), этаноле (б), смеси гептан — этанол (1 : 1) (а) (здесь и ниже — соотношения объемные). 1 — 20°; 2 — 60; 3 — 40; 4 — 5; 5 — 50; 6 — 100; 7 — 20°

ществленные изменения кривых КД брадикинина, отражающие его конформационную перестройку. Были определены термодинамические параметры взаимного перехода найденных форм и высказано предположение о том, что в воде при охлаждении преобладает неупорядоченная конформация брадикинина, параметры которой определяются специфической структурой жидкой воды, а при нагревании или переходе к диоксану по мере деструктурирования водной фазы брадикинин принимает конформацию, стабилизированную одной или несколькими внутримолекулярными водородными связями $\text{CO} \cdots \text{HN}$, замыкающими семичленные циклы (связи типа $3 \rightarrow 1$). Рассмотренная интерпретация спектров основана на формальном соответствии данных по брадикинину и модельным производным аминокислот и пептидов. В отсутствие каких-либо независимых данных о пространственной структуре модельных пептидов, могущих существенно отличаться в этом отношении от соответствующих участков брадикинина, полученные при этом выводы представляются недостаточно обоснованными и поэтому нуждаются в пересмотре.

Спектры КД брадикинина в области 180—250 мн представлены на рис. 1—3. Отрицательные полосы дихроичного поглощения при ~ 200 и ~ 182 нм мы относим к компонентам расщепленных $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходов амидных групп, а при ~ 233 нм — к амидным $n \rightarrow \pi^*$ -переходам. В области 210—230 нм Phe-содержащих пептидов, как известно [13, 14], перекрываются полосы коротковолновых амидных $n \rightarrow \pi$ -переходов и переходов $A_{1g} \rightarrow B_{1u}$ фенильных групп. Первые располагаются при ~ 221 нм (обоснование такого отнесения см. ниже), а последние отчетливо проявляются в виде впадины при 212—213 нм на кривых 3 и 5 (рис. 2б) и плеча при 211—214 нм на кривых 2 (рис. 2а), а также 1, 5 и 7 (рис. 3в). Область 250—270 нм, где находятся полосы переходов $A_{1g} \rightarrow B_{2u}$ фенильных хромофоров, не дает сколько-нибудь существенной информации о пространственной структуре брадикинина и его аналогов [8, 9], поэтому она не приводится на рисунках и далее не рассматривается.

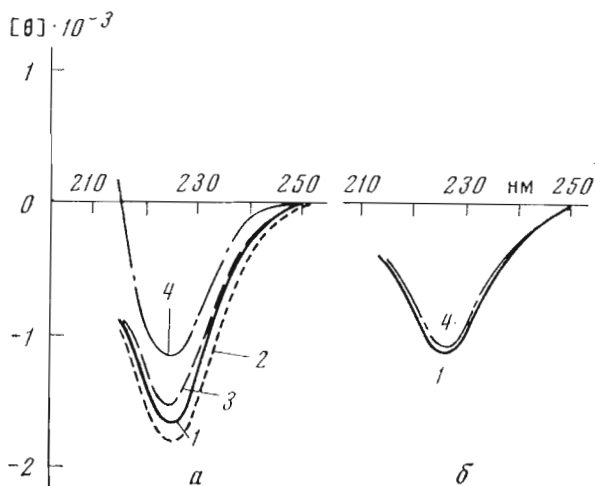


Рис. 4. Кривые КД брадикинина в трифторэтаноле (а) и гексафторацетоне (б). 1 — 20°; 2 — 60; 3 — 20; 4 — 40°.

Положение, знаки и интенсивности эффектов Коттона на кривых КД брадикинина в водных растворах при 20° весьма слабо (на уровне ошибки измерения) изменяются в интервале концентраций 10^{-2} — 10^{-4} М, в интервале рН 1,2—8,2 (рис. 1а) или при добавлении солей (рис. 1б); выдерживание растворов в течение 14 дней в указанных диапазонах рН и концентраций также не приводит к изменению кривых КД. Снижение полярности растворителя при переходе к этанолу и смеси гептан — этанол сопровождается изменениями интенсивностей эффектов Коттона при сохранении их знака и положения (ср. кривые 1а, 1б, 1в на рис. 3). При этом вид кривой в этаноле становится более чувствительным к рН (ср. кривые 1 и 2 на рис. 2) и к добавлению солей (ср. кривые 1 и 3—5 на рис. 2). Весьма характерна температурная зависимость кривых КД брадикинина в воде, спирте и смеси этанол — гептан (рис. 3а—в и 4а). Во всех перечисленных растворителях охлаждение сопровождается резким ростом интенсивности эффекта Коттона при ~ 220 нм, а нагревание — снижением его интенсивности. В остальных областях спектра изменение выражено значительно слабее (рис. 3а—в и 4а). Такая же зависимость сохраняется и в водных растворах гуанидина (рис. 1б). Аналогичные, хотя и меньшие по величине, изменения наблюдаются в трифторэтанол; в гексафторацетоне температурные изменения практически отсутствуют (рис. 4б).

Изложенные данные позволяют следующим образом охарактеризовать конформационное состояние брадикинина в растворах. Изменение кривых КД в зависимости от полярности растворителя, температуры раствора, его рН и ионной силы указывает на участие в равновесии сравнимых количеств двух или более пространственных форм, существенно отличающихся друг от друга набором поворотных углов Φ , Ψ , ω и χ (относительно конформационной номенклатуры пептидов см. [15]). Поскольку различия в кривых КД носят количественный, а не качественный характер, естественно предположить, что участвующие в равновесии конформеры переходят друг в друга в результате локальных конформационных перестроек, а не общей перестройки цепи. Чувствительность параметров КД к рН и присутствию солей в этаноле можно объяснить электростатическими взаимодействиями карбоксильной и гуанидильных (или amino) групп, зависящих от ионного состояния этих групп. В воде с ее высокой диэлектрической постоянной электростатические взаимодействия ослабляются, что приводит к уменьшению чувствительности кривых КД в этом растворителе,

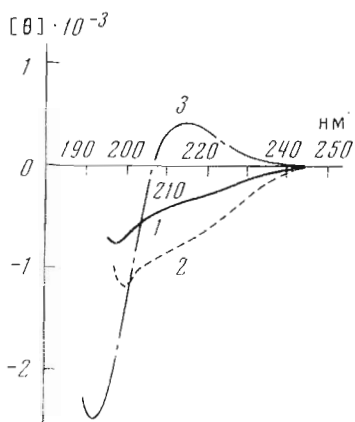


Рис. 5. Кривые КД Ac-L-Ala-NHMe в этаноле: 1 — 20°; 2 — 35; 3 — 90°

что температурно-зависимая полоса при ~ 221 нм сопряжена с электронными переходами фенильных групп. Однако все увеличивающееся число примеров аналогичного поведения, в том числе и у перечисленных выше полипептидов, не содержащих фенильных хромофоров, склонило нас к выводу о том, что обсуждаемая полоса сопряжена с пептидными $n \rightarrow \pi^*$ -переходами. Еще одним доводом в пользу этого отнесения явились результаты измерения температурной зависимости кривых КД метиламида ацетил-L-аланина, выполненного с целью выяснения границ распространения рассматриваемой закономерности. Как видно из рис. 5, даже эта простейшая пептидная модель обнаруживает существенное усиление положительной полосы дихроичного поглощения амидного $n \rightarrow \pi^*$ -перехода при охлаждении этанольного раствора. Судя по опубликованным ранее данным [26], набор конформеров исследованного диамида в полярных средах при комнатной температуре сильно «размазан» по потенциальной поверхности конформационной карты; при охлаждении следует ожидать увеличения доли конформеров, отвечающих так называемой области \underline{V} с центрами в точке $\Phi \sim -90^\circ$, $\Psi \sim 90^\circ$, что и является причиной наблюдаемых изменений спектров КД.

Переноса данные по регулярным полипептидам на исследованные ими олигопептиды, авторы работ [18, 19] объясняют усиление положительной полосы $n \rightarrow \pi^*$ -перехода стабилизацией при охлаждении левоспиральных конформаций типа пролин II. Однако такое объяснение не является универсальным. Например, оно не применимо для окситоцина и его аналогов с их циклической структурой, исключающей реализацию спиральных конформеров. Мы считаем, что для объяснения наблюдаемого эффекта у брадикинина достаточно предположить стабилизацию при охлаждении конформеров, у которых большая часть аминокислотных остатков (но не обязательно все) имеет параметры Φ , Ψ в области \underline{V} конформационных карт, характерной как для полиспирали полипролин II, так и для Ac-L-Ala-NHMe.

Последующее обсуждение посвящено аналогам брадикинина (II) — (XII). Кривые КД аналогов (II), (III) и (IV), у которых соответственно остатки Phe^5 , Phe^8 и $\text{Phe}^{5,8}$ заменены на остатки Cha , в целом подобны кривым брадикинина, что говорит о близости конформационных состояний исследованной серии соединений: в воде в широком интервале рН наблюдаются слабые отрицательные полосы при ~ 230 нм и более интенсивные при ~ 200 нм; снижение полярности сопровождается некоторым изменением интенсивности полос (рис. 6). Анализ области ~ 220 нм приводит к выводу

к изменениям рН и присутствию солей. Низкая склонность к ассоциации согласуется скорее со свернутым, чем вытянутым, типом структуры.

Температурные зависимости кривых КД, аналогичные рассмотренным выше, наблюдались ранее как для разнообразных олигопептидов (окситоцин и его аналог [16, 17], $[\text{Val}^8]$ -ангиотензин II и $[\text{Phe}^5, \text{Ala}^8]$ -ангиотензин II [4], β -меланоцитостимулирующий гормон свиньи и ряд фрагментов β -липотропина [18, 19], десмозин-содержащий фрагмент эластина [20]), так и для регулярных полипептидов (поли-L-глутамат, поли-L-аспартат и поли-L-лизин с ионизованными функциональными группами боковых цепей [21], $(\text{Ala-Gly-Gly})_n$ [22], $(\text{Ala-Ala-Gly})_n$ [23] и поли-L-пролин II [21]). В наших предварительных сообщениях [24, 25] мы предположили,

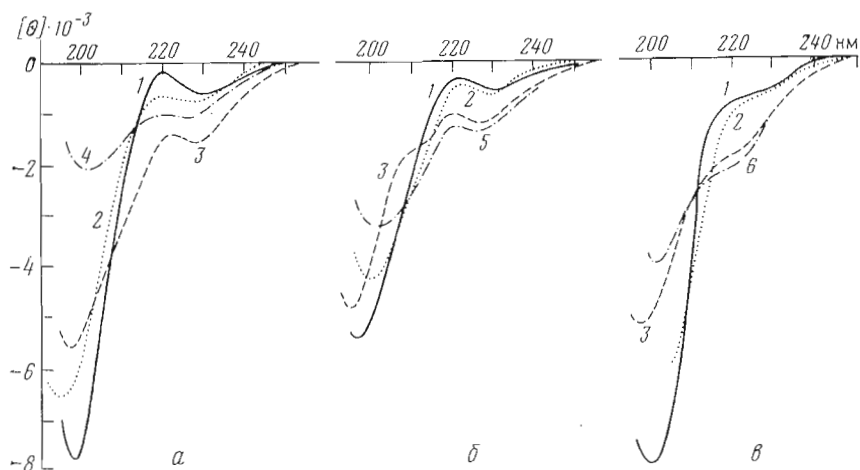


Рис. 6. Кривые КД [Cha⁵]-, [Cha⁸]- и [Cha⁵, Cha⁸]-брадикинина (соответственно а, б и в): 1 — вода, рН 2,8; 2 — вода, рН 13,5; 3 — этанол; 4 — гептан — этанол (20 : 15); 5 — гептан — этанол (20 : 13); 6 — гептан — этанол (2 : 1)

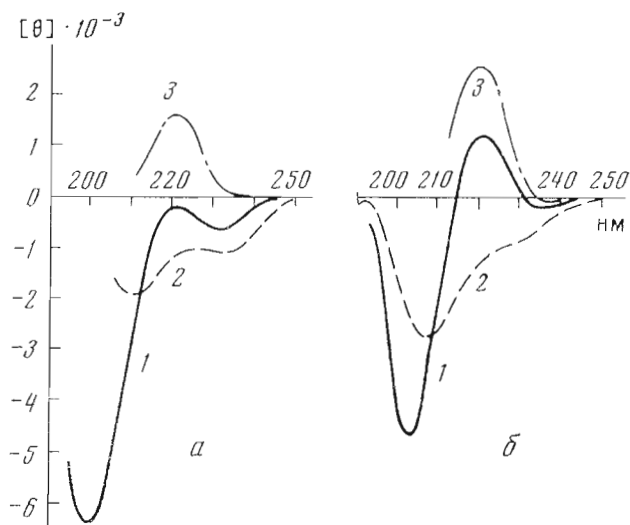


Рис. 7. Кривые КД [Gly⁶]- и [Cm-Arg¹, Gly⁶]-брадикинина (соответственно а и б). 1 — вода, рН 4; 2 — этанол; 3 — этанол, -100°

о снижении интенсивности положительного хирооптического эффекта по мере замены фенильных групп на циклогексильные, что послужило основанием для упоминавшегося выше первоначального отнесения этого эффекта электронным переходом фенильных хромофоров. Учитывая принятое в настоящей работе альтернативное отнесение полосы при ~220 нм (см. выше), причины изменения ее интенсивности следует искать в изменении пространственной структуры пептидного остова. Из рис. 6 видно, что последовательная замена одной и двух фенильных групп брадикинина на циклогексильные приводит приблизительно к таким же изменениям кривой КД, как и нагревание раствора. Отсюда следует, что фенильные группы брадикинина принимают участие в стабилизации специфической структуры гормона, доминирующей при низких температурах растворов. Этот вывод хорошо согласуется с результатами теоретического конформационного анализа брадикинина [27].

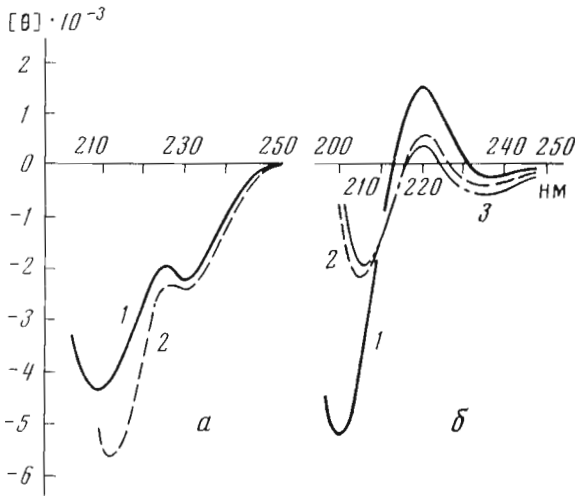


Рис. 8. Кривые КД [Glc⁴]- и [Glc⁶]-брадикинина (соответственно а и б). 1 — вода, рН 3,5; 2 — этанол; 3 — гептан — этанол (1 : 1)

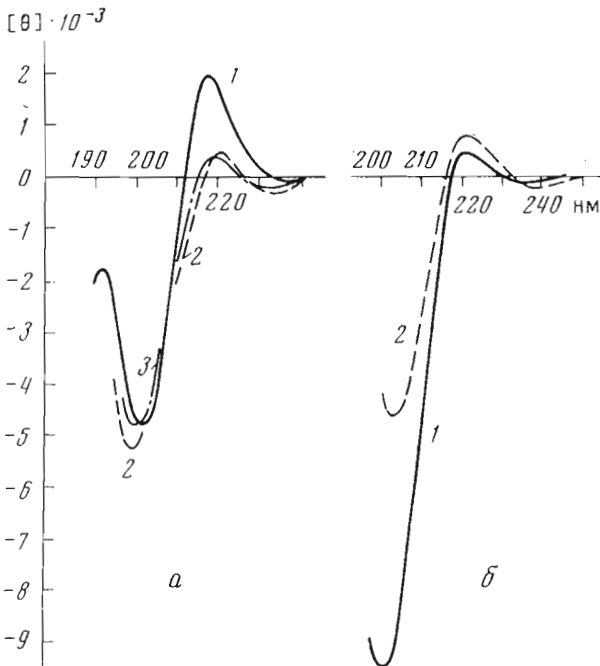


Рис. 9. Кривые КД [Phe⁸]- и [Cis⁸]-брадикинина (соответственно а и б). 1 — вода, рН 3,5; 2 — этанол; 3 — гептан — этанол (1 : 1)

Замена Ser⁶ → Gly⁶ (аналог (V), обладающий полной биологической активностью природного гормона [28]) не приводит к сколько-нибудь существенным изменениям пространственной структуры, как видно из сопоставления кривых КД на рис. 3а, 3б и 7а. Сходными параметрами КД (рис. 7б) и, следовательно, близкой конформацией обладает также аналог (VI), получаемый из соединения (V) введением нитроксильного фрагмента См.

Кривые КД депептидных аналогов (VII)—(X) представлены на рис. 8 и 9. Из них аналоги (VIII), (IX) и (X) имеют кривые КД брадики-

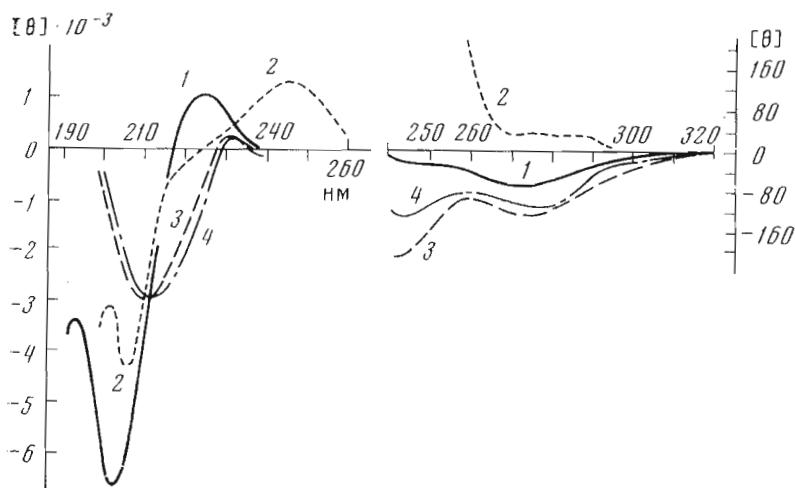


Рис. 10. Кривые КД [Tyr⁵, Gly⁶]-брадикинина. 1 — вода, рН 2,5; 2 — вода, рН 9,7; 3 — этанол; 4 — гептан — этанол (15 : 22)

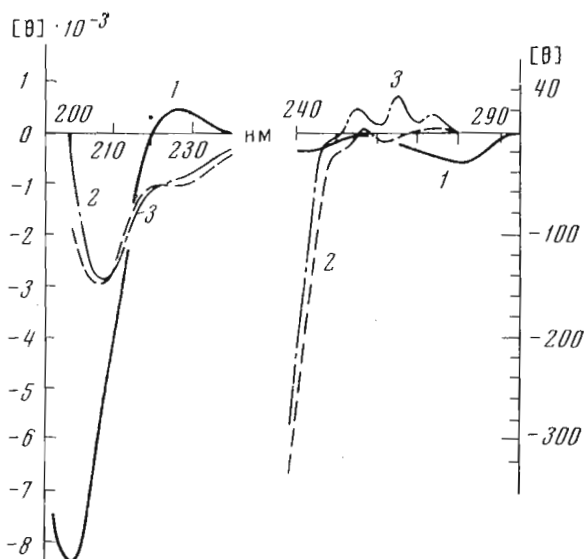


Рис. 11. Кривые КД [Gly⁶, Tyr⁸]-брадикинина. 1 — вода, рН 3,5; 2 — этанол; 3 — гептан — этанол (4 : 5)

нинового типа, откуда следует, что замена амидных групп на сложноэфирные на участках 5—6 и 7—8 пептидной цепи брадикинина несущественно влияет на характер внутримолекулярных взаимодействий. Можно утверждать на этом основании, что указанные амидные группы не являются донорами протонов для внутримолекулярных водородных связей.

[Glc⁴]-брадикинин более существенно отличается от исходного гормона по параметрам КД (смещение полосы амидного $\pi \rightarrow \pi^*$ -перехода от ~ 200 к ~ 212 нм, ср. рис. 3а, 3б и 8а). Причины повышенной чувствительности пространственной структуры брадикинина к модификации в четвертом положении остаются неясными; можно лишь отметить, что этот факт коррелирует с резким падением биологической активности при любых аминокислотных заменах в четвертом положении [29].

Сравнительный анализ кривых КД брадикинина и его Tyr-содержащих аналогов (XI) и (XII) (рис. 10 и 11) затруднен из-за присутствия у по-

следних новой оксифенильной хромофорной группы, существенно отличающейся по своим хироптическим свойствам от фенильной. Так, у аналогов (XI) и (XII) появляются интенсивные положительные полосы перехода $A_{1g} \rightarrow B_{1u}$ при 225 нм, идентифицируемые по их смещению к 245 нм при ионизации в щелочной среде (рис. 10). Тем не менее имеется ряд общих особенностей у кривых КД аналогов (XI) и (XII), с одной стороны, и брадикинина и его производных с близкими конформационными параметрами — с другой. Сюда относятся, например, интенсивные отрицательные полосы амидных $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходов при ~ 200 нм в водных растворах и снижение их интенсивности в менее полярных растворителях. Кроме того, спектры аналога (XII) в неполярных средах (где, судя по низкой интенсивности полос $A_{1g} \rightarrow B_{2u}$ при 275—280 нм, вклад оксифенильного хромофора в общую кривую КД невелик) близки спектрам ближайшего аналога, не содержащего тирозинового остатка — [Gly⁶]-брадикинина (V), а также его спин-меченого производного (VI) в этаноле (см. кривые 2, 3 на рис. 11 и кривые 2 на рис. 7а и 7б). В целом данные КД по соединениям (XI) и особенно (XII) согласуются с сохранением у них пространственной структуры исходного гормона, хотя и не доказывают этого с определенностью.

Экспериментальная часть

Синтез соединений (I), (II), (III), (IV), (VIII) и (IX) описан в работе [30], соединения (V) — в работе [31], соединения (VI) — в работе [32], соединения (VII) — в работе [33], соединения (X) — в работе [34], соединений (XI) и (XII) — в работе [35], синтез Ac-L-Ala-NHMe — в работе [36].

Спектры КД трихлоргидрата брадикинина снимали на дихрографе Dichrograph Mark III Jobin Ivon (Франция), низкотемпературные спектры — на том же приборе с использованием криостата 006. Доведение рН до заданной величины осуществляли титрованием водных или этанольных растворов HCl или NaOH; измерения рН проводили на рН-метре рН ASAR (Beckman, США). Калибровку прибора проводили по стандартам, прилагаемым фирмой.

Спектры КД аналогов брадикинина снимали на спектрополяриметре Cary-60, снабженном приставкой модели CD-6003 (Varian, США). Прибор калибровали по аналитически чистым образцам эпиандростерона ($\Delta\epsilon_{304 \text{ нм}} = +3,294$) и D-камфорсульфоновой кислоты ($[\theta]_{290 \text{ нм}} = +7,146$). Толщину слоя меняли от 1 см в области 350—250 нм до 0,01 см в области 260—190 нм. Спектры регистрировали при щелевой программе, соответствующей ширине полосы пропускания, равной 15 Å в диапазоне 350—190 нм. Концентрации растворов составляли 10^{-3} — 10^{-4} М.

Молекулярная эллиптичность ($\text{град}\cdot\text{см}^2/\text{дмоль}$) вычислялась по формуле

$$[\theta] = \frac{\theta_0 M}{10cl}, \quad (1)$$

где θ_0 — наблюдаемая эллиптичность, град; M — молекулярный вес; c — концентрация, г/см³; l — длина оптического пути, см.

Наблюдаемая эллиптичность определялась по уравнению

$$\theta_0 = \frac{\Delta\epsilon \cdot 3300}{n}, \quad (2)$$

где $\Delta\epsilon = \epsilon_L - \epsilon_R$, а ϵ_L и ϵ_R — молекулярные коэффициенты поглощения света, поляризованного по кругу влево и вправо соответственно; n — число аминокислотных остатков в молекуле пептида.

Авторы выражают благодарность доктору И. Фрич из Института органической химии и биохимии АН ЧССР за снятие спектров температур-

ных зависимостей брадикинина в гексафторацетоне и трифторэтаноле, а также Т. Н. Дешко (Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР) за снятие спектров Ac-L-Ala-NHMe.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. (1975) *Tetrahedron*, **31**, 2177—2209.
2. Weinkam R. J., Jorgensen E. C. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 7033—7038.
3. Weinkam R. J., Jorgensen E. C. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 7038—7044.
4. Fermandjian S., Morgat J.-L., Fromageot P. (1971) *Eur. J. Biochem.*, **24**, 252—258; Zimmer S., Haar W., Maurer W., Rüterjans H., Fermandjian S., Fromageot P. (1972) *Eur. J. Biochem.*, **29**, 80—97; Printz M. P., Williams H. P., Craig L. C. (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 378—382; Deslauriers R., Walter R., Smith I. C. P. (1973) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **53**, 244—250; Vine W. H., Bruckner D. A., Needleman P., Marshall G. R. (1973) *Biochemistry*, **12**, 1630—1637; Fermandjian S., Greff D., Fromageot P. (1972) in *Chemistry and Biology of Peptides* (Meienhofer J., ed.), Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor, p. 545; Fermandjian S., Morgat J.-L., Fromageot P., Legressus C., Maire P. (1971) *FEBS Lett.*, **16**, 192—194; Fermandjian S., Morgat J.-L., Fromageot P., Lutz M., Leicknam J. P. (1971) in *Structure-activity relationships of protein and polypeptide hormones* (Margoulies M., Greenwood F. C., eds.), *Excerpta Medica Publ.*, Amsterdam, **2**, p. 447; Fermandjian S., Fromageot P. (1973) in *Peptides — 1972* (Hanson H., Jakubke H.-D., eds.), North-Holland/American Elsevier, p. 303; Amsterdam — New York; Printz M. P., Nemethy G., Bleich H. (1972) *Nature New Biol.*, **237**, 135—140; Glickson J. D., Cunningham W. D., Marshall G. R. (1973) *Biochemistry*, **12**, 3684—3692; Nemethy G., Printz M. (1972) *Macromolecules*, **5**, 755—762; Marshall G. R., Bosshard H. E., Vine W. H., Glickson J. D. (1973) *Nature New Biol.*, **245**, 125—126; Bleich H. E., Galardy R. E., Printz M. P., Craig L. C. (1973) *Biochemistry*, **12**, 4950—4957; Glickson J. D., Dadok J., Marshall G. R. (1974) *Biochemistry*, **13**, 11—14; Deslauriers R., Paiva A. C. M., Schaumburg K., Smith I. C. P. (1975) *Biochemistry*, **14**, 878—886; Greff D., Fermandjian S., Fromageot P., Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M. (1976) *Eur. J. Biochem.*, **61**, 297—305; Galardy R. E., Bleich H. E., Ziegler P., Craig L. C. (1976) *Biochemistry*, **15**, 2303—2309.
5. Urry D. W. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 672—676; Urry D. W., Geodall M. C., Glickson J. D., Mayers D. F. (1971) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 1907—1911; Urry D. W. (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 1610—1614; Glickson J. D., Mayers D. F., Settine J. M., Urry D. W. (1972) *Biochemistry*, **11**, 477—486; Urry D. W., Glickson J. D., Mayers D. F., Haider J. (1972) *Biochemistry*, **11**, 487—493; Veatch W. R., Fossel E. T., Blout E. R. (1974) *Biochemistry*, **13**, 5249—5256; Veatch W. R., Blout E. R. (1974) *Biochemistry*, **13**, 5257—5264; Fossel E. T., Veatch W. R., Ovchinnikov Yu. A., Blout E. R. (1974) *Biochemistry*, **13**, 5264—5275.
6. Deslauriers R., Somorjai R. L. (1976) *J. Amer. Chem. Soc.*, **98**, 1931—1939; Moman F. A. (1976) *J. Amer. Chem. Soc.*, **98**, 2990—2996; Moman F. A. (1976) *J. Amer. Chem. Soc.*, **98**, 2996—3000; Deslauriers R., Levy C., McGregor W. H., Sarantakis D., Smith I. C. P. (1975) *Biochemistry*, **14**, 4335—4343; Mabrey S., Klotz I. M. (1976) *Biochemistry*, **15**, 234—242.
7. Bodanszky A., Bodanszky M., Jorpes E. J., Mutt V., Ondetti M. A. (1970) *Experientia*, **26**, 948—950.
8. Toniolo C. (1972) *Il Farmaco*, **27**, 156—178.
9. Brady A. H., Ryan J. W., Stewart J. M. (1971) *Biochem. J.*, **124**, 179—184.
10. Cann J. R. (1972) *Biochemistry*, **11**, 2654—2659.
11. Cann J. R., Stewart J. M., Matsueda G. R. (1973) *Biochemistry*, **12**, 3780—3788.
12. Cann J. R., Stewart J. M., London R. E., Matwiyoff N. (1976) *Biochemistry*, **15**, 498—504.
13. Peggion E., Palumbo M., Bonora G. M., Toniolo C. (1974) *Bioorgan. Chem.*, **3**, 125—132.
14. Frič I., Kодиček M., Flegel M., Zaoral M. (1975) *Eur. J. Biochem.*, **56**, 493—502.
15. IUPAC—IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1970) *Biochemistry*, **9**, 3471—3479.
16. Urry D. W., Quadrifoglio F., Walter R., Schwartz I. L. (1968) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **60**, 967—974.
17. Frič I., Kодиček M., Jost K., Blaha K. (1974) *Cell*, **39**, 1271—1289.
18. Makarov A. A., Esipova N. G., Pankov Yu. A., Lobachev V. M., Grishkovsky B. A. (1973) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **67**, 1378—1383.
19. Макаров А. А., Есипова Н. Г., Пацков Ю. А., Лобачев В. М., Гришковский Б. А. (1976) *Биофизика*, **21**, 233—237.
20. Foster J. A., Brucenger E., Rubin L., Imberman M., Kagan H., Mecham R., Franzblau C. (1976) *Biopolymers*, **15**, 833—841.
21. Tiffany M. L., Krimm S. (1972) *Biopolymers*, **11**, 2309—2316.
22. Rippon W. B., Walton A. G. (1971) *Biopolymers*, **10**, 1207—1212.

23. Doyle B. B., Traub W., Lorenzi G. P., Brown F. R., Blout E. R. (1970) *J. Mol Biol.*, **51**, 47—59.
24. Иванов В. Т., Филатова М. П., Райссман З., Реутова Т. О., Коган Г. А., Ефремов Е. С., Пашков В. С., Галактионов С. Г., Григорян Г. Л., Быстров В. Ф. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1241—1244.
25. Ivanov V. T., Filatova M. P., Reissman Z., Reutova T. O., Efremov E. S., Pashkov V. S., Galaktionov S. G., Grigoryan G. L., Ovchinnikov Yu. A. (1975) in *Peptides: Chemistry, Structure and Biology* (Walter R., Meienhofer J., eds.), Ann. Arbor. Science, pp. 151—157.
26. Иванов В. Т., Костецкий П. В., Мещерякова Е. А., Ефремов Е. С., Попов Е. М., Овчинников Ю. А. (1973) *Химия природн. соедин.*, 363—378.
27. Галактионов С. Г., Шерман С. А., Шендерович Н. Д., Никифорович Г. В., Леонова В. И. (1977) *Биоорган. химия*, **3**, 1190—1197.
28. Bodanszky M., Sheehan J. T., Ondetti M. A., Lande S. (1963) *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 991—997.
29. Schröder E., Hempel R. (1964) *Experientia*, **20**, 529—592.
30. Филатова М. П., Крит Н. А., Сучкова Г. С., Равдель Г. А., Иванов В. Т. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 437—446.
31. Вировец С. И., Мартынов В. Ф., Титов М. И. (1968) *Ж. общ. химии*, **38**, 2337.
32. Reissmann Z., Arold H., Filatova M. P., Reutova T. O., Ivanov V. T. (1975) *Z. Chem.*, **15**, 399—400.
33. Щукина Л. А., Равдель Г. А., Филатова М. П. (1966) *Химия природн. соедин.*, 265—271.
34. Крит Н. А., Равдель Г. А., Иванов В. Т. (1976) *Биоорган. химия*, **2**, 1455—1463.
35. Reissmann Z., Filatova M. P., Reutova T. O., Arold H., Ivanov V. T. (1976) *J. prakt. Chem.*, **318**, 429—440.
36. Костецкий П. В., Цетлин В. И., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. (1973) *Химия природн. соедин.*, 319—322.

Поступила в редакцию
21.III.1977

CONFORMATIONAL STATES OF BRADYKININ AND ITS ANALOGS IN SOLUTION. I. CIRCULAR DICHROISM SPECTRA

IVANOV V. T., FILATOVA M. P., REISSMANN Z.,
REUTOVA T. O., CHEKHLIAEVA N. M.

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

CD-spectra of bradykinin were studied in solvents of various polarity, as well as over a wide range of temperatures, pH, concentrations and ionic strength. A series of synthetic bradykinin analogs with modified α -amino-group (SL-Arg⁴), aromatic ring (Cha⁵, Cha⁸, Cha^{5,8}, Tyr⁵, Tyr⁸), peptide bond (Glc⁴, Glc⁶, Pla⁸), aromatic ring and peptide bond simultaneously (Cla⁸) and amino acid residue Ser (Gly⁶) were also investigated. For bradykinin the results obtained are indicative of participation of at least two related folded structures in the equilibrium, the Φ , Ψ -parameters of the majority of amino acid residues corresponding to the \underline{B} region on conformational maps. The bradykinin analogs resemble the parent hormone in conformational properties, except for [Glc⁴]-bradykinin with its low biological activity.