



№ 9

УДК 543.422.27 + 547.96 : 541.6

КОНФОРМАЦИОННЫЕ СОСТОЯНИЯ БРАДИКИНИНА В РАСТВОРАХ

III. СПЕКТРЫ ЭПР СПИН-МЕЧЕННЫХ АНАЛОГОВ

Филатова М. П.*, Рейссманн З., Реутова Т. О.,
Иванов В. Т.**

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шелякина
Академии наук СССР, Москва*

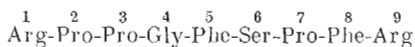
Григорян Г. Л., Шапиро А. М., Розанцев Э. Г.

Институт химической физики Академии наук СССР, Москва

Методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) исследована серия спин-меченых производных брадикинина и его укороченных аналогов с нитроксильными радикалами в положениях 1, 5, 6 и 8. В застеклованных растворах при -196° по диполь-дипольному взаимодействию определены средние расстояния между парамагнитными центрами нитроксильных, введенных в 1 и 5, 1 и 6, 1 и 8, 5 и 8-й аминокислотные остатки. На основании полученных данных высказывается предположение о присутствии в конформационном равновесии брадикинина конформеров изогнутой или псевдоциклической структуры со сближенными N- и C-концами.

В последние годы метод спиновых меток все шире используется для решения разнообразных проблем биоорганической химии [1, 2]. В 1972 г. были разработаны методы измерения из спектров электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) межспиновых расстояний между двумя нитроксильными радикалами (спиновыми метками, См), введенными в молекулу органического соединения [3—5]. Перспективность этого подхода для исследования пространственной структуры пептидов была впервые продемонстрирована на примере антибиотика грамицидина S [6] и серии его синтетических аналогов [7, 8]. В настоящей работе метод спиновых меток был использован для анализа конформационных состояний тканевого гормона брадикинина и его синтетических аналогов. Были изучены спектры ЭПР ранее полученных [9] бирадикальных производных брадикинина (II) — (X), а также монорадикального производного (I).

Предварительные сообщения о результатах работы см. [10—12].



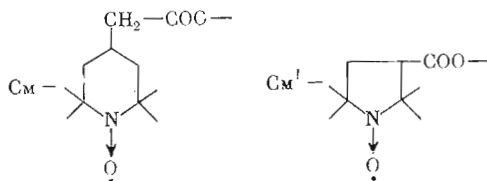
Брадикинин

- (I) См-Arg-Pro Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg
[См-Arg¹]-брадикинин
- (II) См-Arg-Pro Pro-Gly-Phe-Ser (См)-Pro-Phe-Arg
[См-Arg¹, Ser (См)⁶]-брадикинин
- (III) См'-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser (См')-Pro-Phe-Arg
[См'-Arg¹, Ser (См')]-брадикинин

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

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

- (IV) Cm-Arg-Pro-Pro-Gly-Tyr (Cm)-Gly-Pro-Phe-Arg
[Cm-Arg¹, Tyr (Cm)⁵, Gly⁶]-брадикинин
- (V) Cm-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Tyr (Cm)-Arg
[Cm-Arg¹, Gly⁶, Tyr (Cm)⁸]-брадикинин
- (VI) Вос-Arg-Pro-Pro-Gly-Tyr (Cm)-Gly-Pro-Tyr (Cm)-Arg
[Вос-Arg¹, Tyr (Cm)⁵, Gly⁶, Tyr (Cm)⁸]-брадикинин
- (VII) Вос-Pro-Pro-Gly-Tyr (Cm)-Gly-Pro-Tyr (Cm)-Arg
[Вос-Pro^{1,2}, Tyr (Cm)⁵, Gly⁶, Tyr (Cm)⁸]-брадикинин
- (VIII) Вос-Gly-Pro-Pro-Gly-Tyr (Cm)-Gly-Pro-Tyr (Cm)-Arg
[Вос-Gly¹, Tyr (Cm)⁵, Gly⁶, Tyr (Cm)⁸]-брадикинин
- (IX) Cm-Pro-Pro-Gly-Tyr (Cm)-Gly-Pro-Phe-Arg
[Cm-Pro^{1,2}, Tyr (Cm)⁵, Gly⁶]-брадикинин
- (X) Cm-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Tyr (Cm)-Arg
[Cm-Pro^{1,2}, Gly⁶, Tyr (Cm)⁸]-брадикинин



Вос — трет-бутилоксикарбонил.

Рассмотрим вначале свойства соединения (I). Его спектр ЭПР в смеси вода — этанол (9 : 1) при 25° (рис. 1) типичен для нитроксильных радикалов с заметно ограниченной подвижностью. Форма спектра не меняется в интервале концентраций 10⁻³ — 10⁻⁵ М. Из анализа относительных ширины линий компонент спектра в соответствии с формулой (1) [13] было определено время корреляции τ_c переориентации радикала в растворе в результате теплового движения, которое составило 3,9 · 10⁻¹⁰ с:

$$\tau_c = 6,65 \cdot \Delta H_{+1} \left(\sqrt{\frac{I_{+1}}{I_{-1}}} - 1 \right) \cdot 10^{-10} \text{ с}, \quad (1)$$

где ΔH_{+1} — полуширина низкочастотной компоненты спектра; I_{+1} , I_{-1} — амплитуды соответственно низкочастотной и высокочастотной компонент (см. рис. 1).

Оценка величины τ_c для вращательной подвижности молекулы соединения (I) в растворе (аппроксимированной в виде сферической частицы) по формуле Стокса — Эйнштейна (2) в предположении, что ее удельный парциальный объем V_0 соответствует величине, найденной для глобулярных белков (0,73 см³/г [14]), привела к значению 3,4 · 10⁻¹⁰ с, т. е. к величине, весьма близкой к экспериментально найденному времени корреляции:

$$\tau_c = \frac{4\pi\eta a^3}{3kT} = \frac{V_0 M \eta}{NkT}, \quad (2)$$

где $\eta = 0,0091$ пз — вязкость смеси вода — этанол (9 : 1) при 25° (из справочных данных); a — радиус частицы; $M = 1263$ — молекулярный вес соединения (I); N — число Авогадро; k — постоянная Больцмана; T — абсолютная температура, К.

Это совпадение позволяет предполагать, что время корреляции нитроксильного радикала в соединении (I) определяется подвижностью этого соединения как единого целого, а не переориентацией радикала или связанного с ним фрагмента пептидной молекулы относительно остова пептида. Другими словами, полученный результат не согласуется с присутствием статистического набора быстро конвертируемых конформеров бра-

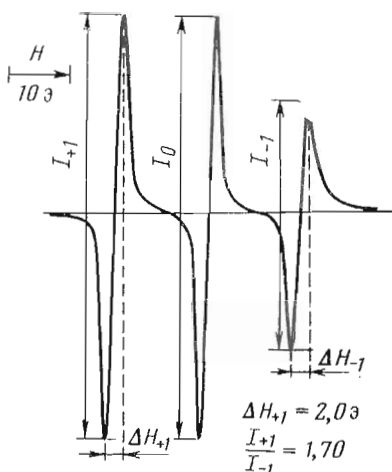


Рис. 1

Рис. 1. Спектр ЭПР [См-Arg¹]-брадикинина (I) в смеси вода — этанол (9 : 1) при 25°

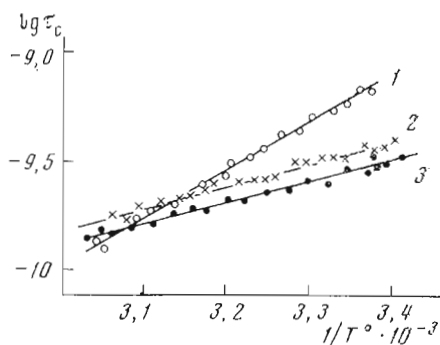


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость времени корреляции τ_c спиновой метки [См-Arg¹]-брадикинина (I) от температуры раствора, построенная в координатах уравнения Аррениуса. 1 — вода — этанол (9 : 1); 2 — 96% водный этанол; 3 — диоксан — этанол (1 : 1)

дикинина и указывает на реализацию конформеров, достаточно жестко фиксированных по крайней мере в области N-концевого радикального фрагмента и его ближайшего окружения. Сходные результаты были получены для всех исследованных растворителей (табл. 1).

Зависимость времени корреляции спиновой метки в соединении (I) от температуры описывается уравнением Аррениуса. Найденные из соответствующих графиков (рис. 2) значения эффективных энергий актива-

Таблица 1

Время вращательной корреляции τ_c нитроксильного радикала [См-Arg¹]-брадикинина (I) в различных растворителях при 25°

Растворитель	$\tau_c \cdot 10^{-10}$, с
8 М мочевины в воде	4,2
Вода — этанол (объемные соотношения 9:1), pH 7	4,0
pH 2	3,9
96% водный этанол	3,6
Диоксан — 96% водный этанол (объемные соотношения 1:1)	3,3

Таблица 2

Значения $(d_1/d)_0$, найденные из спектров ЭПР застеклованных растворов монорадикала (I) (I) и бирадикалов (IV)–(VI) (2). В правой графе приведены средние значения по двум методам

Растворитель	$(d_1/d)_0$		$(d_1/d)_0^{cp}$
	1	2	
Вода — этанол (объемные соотношения 1:1)	0,45	0,43 *	0,44
96% водный этанол	0,47	0,45	0,46
Диоксан — 96% водный этанол (объемные соотношения 1:1)	0,47	0,45	0,46

* Значение измерено из спектров соединений (IV) и (V); соединение (VI) нерастворимо в этом растворителе.

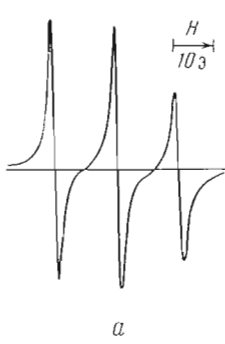


Рис. 3

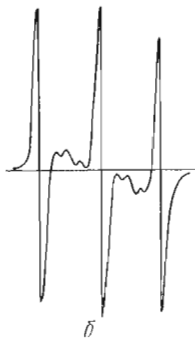


Рис. 4

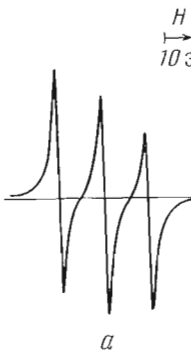
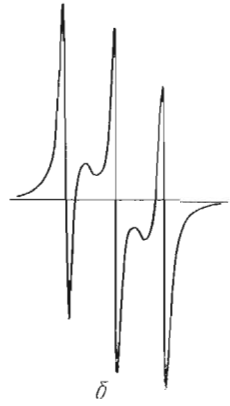
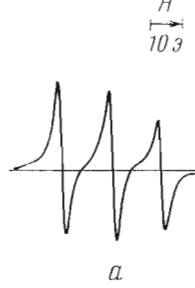


Рис. 5

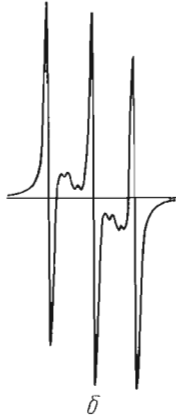


Рис. 6

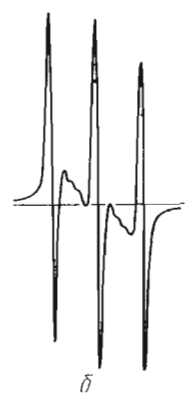


Рис. 7

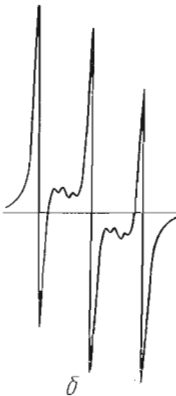


Рис. 3. Спектры ЭПР [Cm-Arg¹, Tug (Cm)⁵, Gly⁶]-брадикинина (IV) в смеси вода — этанол (1 : 1) при 25° (а) и 75° (б)

Рис. 4. Спектры ЭПР [Cm-Arg¹, Tug (Cm)⁵, Gly⁶]-брадикинина (IV) в 96% водном этаноле при 25° (а) и 75° (б)

Рис. 5. Спектры ЭПР [Cm-Arg¹, Tug (Cm)⁵, Gly⁶]-брадикинина (IV) в смеси диоксан — этанол (1 : 1) при 25° (а) и 75° (б)

Рис. 6. Спектры ЭПР [Cm-Arg¹, Ser (Cm)⁶]-брадикинина (II) в смеси вода — этанол (1 : 1) при 25° (а) и 75° (б)

Рис. 7. Спектры ЭПР [Cm-Arg¹, Gly⁶, Tug (Cm)⁸]-брадикинина (V) в смеси вода — этанол (1 : 1) при 25° (а) и 75° (б)

ции (ΔE , ккал/моль) составили: для смеси вода — этанол (9 : 1) 8,2, для 96%-ного водного этанола 5,5; для смеси диоксан — этанол (1 : 1) 5,0. По-видимому, в последних двух случаях они складываются из энергии активации вязкости растворителя (3—4 ккал/моль [13]) и барьеров внутреннего вращения вокруг отдельных связей нитроксилсодержащего фрагмента; в первом случае к двум названным факторам может добавляться энергия разрушения гидрофобных контактов между нитроксильным фрагментом и другими гидрофобными участками пептида.

Следующий этап работы включал в себя исследование бирадикальных производных (II) — (X). При сопоставлении спектров ЭПР соедине-

ний (II) — (X), снятых при 25° в различных растворителях, со спектром монорадикала (ср. рис. 1, 3а, 4а, 5а, 6а, 7а) хорошо заметны искажения, вносимые обменным взаимодействием между парамагнитными центрами (например, асимметричное расположение компонент сигнала относительно нулевой линии). Однако дополнительные компоненты, характерные для нитроксильных бирадикалов со сближенными N → O'-функциями, четко проявляются только при повышенных температурах (см. рис. 3б, 4б, 5б, 6б и 7б). В целом величина обменного взаимодействия у бирадикальных производных брадикинина невелика. Например, она существенно ниже, чем у спин-меченого производного указанного выше грамицидина S, на что указывает меньшая интенсивность дополнительных компонент в спектрах на рис. 3б, 4б, 5б, 6б и 7б по сравнению со спектрами на рис. 2 в работе [6]. Отсюда следует, что в растворах производных брадикинина доля конформаций, допускающих тесное ($\lesssim 6 \text{ \AA}$) сближение спиновых меток, введенных в положения 1—5, 1—6, 1—8 и 5—8 пептидной цепи, невелика.

Основная цель настоящей работы — определение средних расстояний между парамагнитными центрами соединений (II) — (X). Такого рода измерения основаны на определении вклада, вносимого диполь-дипольным взаимодействием свободных радикалов в ширину линий спектра ЭПР. Однако в растворах диполь-дипольное взаимодействие между неспаренными электронами, так же как и электрон-ядерное анизотропное взаимодействие [13], усредняется тепловым движением, и поэтому измерения обычно проводят в застеклованных растворах при температуре кипения жидкого азота (—196°). В этих условиях вклад электрон-ядерного анизотропного взаимодействия в ширину линий постоянен и дополнительное уширение, связанное со взаимодействием между парамагнитными центрами, может быть использовано в качестве меры расстояния между ними.

Для определения расстояний между парами нитроксильных соединений (II) — (X) был использован эмпирический метод, разработанный в работах [4,15] на большой серии бирадикалов с известными межспиновыми расстояниями. Расчет расстояний проводился по формуле [15]

$$R = 9,3 + \frac{0,77}{\Delta}, \quad (3)$$

где R — среднее расстояние между спиновыми метками, \AA ; Δ — параметр, учитывающий вклад в спектры ЭПР диполь-дипольного взаимодействия между центрами*. В свою очередь

$$\Delta = d_1/d - (d_1/d)_0, \quad (4)$$

где d_1/d — отношение суммарной интенсивности крайних компонент спектра к интенсивности центральной компоненты в исследуемом бирадикале (см. рис. 8); $(d_1/d)_0$ — та же величина для исследуемых нитроксильных соединений в отсутствие диполь-дипольного взаимодействия.

Отношение d_1/d может быть измерено непосредственно из спектров ЭПР с высокой степенью точности, поэтому основную трудность при определении расстояний представляла проблема корректного выбора параметра $(d_1/d)_0$, зависящего от природы растворителя, окружения и химической структуры радикалов. Значения $(d_1/d)_0$ определяли двумя способами.

1. Непосредственно из спектров ЭПР монорадикала (I) (см. рис. 8). При этом оставались неучтенными различия в пептидном окружении нитроксильного соединения (I), с одной стороны, и нитроксильных соединений (II) — (X) — с другой. Однако из данных расчета по методу 2 следует, что эти различия практически не влияют на измеряемый параметр.

2. Из спектров ЭПР исследуемого бирадикала измерялась величина $A \parallel$ (половина расстояния между крайними компонентами спектра в эрсте-

* Подробное изложение этой методики см.: Пармон В. Н., Кокорин А. И., Жидомпров Г. М. (1977) Ж. структ. химии, 18, 132—177.

дах, см. рис. 8), не зависящая от величины диполь-дипольного взаимодействия, и исходя из нее рассчитывался параметр $(d_1/d)_0$ по эмпирической формуле [15]

$$(d_1/d)_0 = 1,76 - 0,036A \parallel \quad (5)$$

По методу 2 значения $(d_1/d)_0$ были определены для соединений (IV) — (VI). Оказалось, что они не меняются от соединения к соединению и поэтому могут быть использованы для расчета межспиновых расстояний R всех соединений исследуемой серии, кроме соединения (III), где величина $(d_1/d)_0 = 0,40$ оценивалась из спектра застеклованного этанольного раствора $\text{См}'$. Как видно из табл. 2, результаты определения $(d_1/d)_0$ методами 1 и 2 весьма близки друг к другу, и при расчете R были использованы их усредненные значения; полученные результаты приведены в табл. 3.

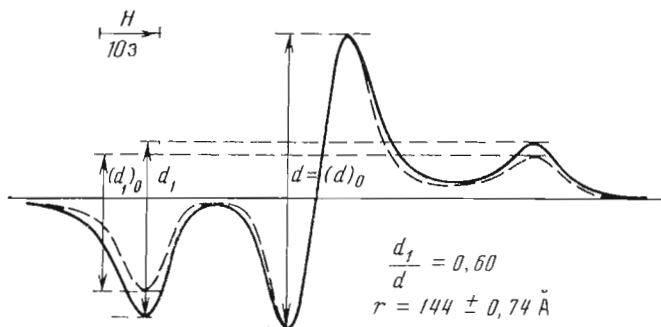


Рис. 8. Спектры ЭПР $[\text{См-Arg}^1, \text{Gly}^6, \text{Tyr}(\text{См})^8]$ -брадикинина (V) в застеклованном 96% этаноле при -196° ; штриховой линией показан спектр $[\text{См-Arg}^1]$ -брадикинина в тех же условиях

В первую очередь обращает на себя внимание то обстоятельство, что по мере удаления места присоединения второй спиновой метки от N-концевой метки в ряду соединений (IV) — (II) — (V) не наблюдается постепенного увеличения расстояния между этими метками, чего следовало бы ожидать для вытянутой или неупорядоченной конформации пептидной цепи брадикинина. Напротив, значение $R^{1,5}$ (расстояние между спиновыми метками, введенными в первое и пятое положение брадикинина) в этаноле существенно больше, чем $R^{1,6}$ в этом же растворителе (на 2,6 Å), и даже больше, чем $R^{1,8}$ (на 1,5 Å). Отсюда следует, что исследованные пептиды имеют «изогнутую» или «псевдоциклическую» пространственную структуру. Корректность этого вывода может быть поставлена под сомнение, если допустить возможность специфических взаимодействий (гидрофобных или через образование водородных связей) радикальных фрагментов с пептидным остовом, поскольку это взаимодействие должно сопровождаться существенным смещением спиновой метки от среднего положения, отвечающего свободному вращению радикального фрагмента. Однако у исследованных нами производных указанные взаимодействия, по-видимому, отсутствуют, о чем свидетельствует слабая зависимость расстояний $R^{1,5}$, $R^{5,8}$ и $R^{1,8}$ от природы растворителя. Этот же факт говорит об отсутствии существенных конформационных перестроек пептидного остова в широком диапазоне полярности среды. Таким образом, данные по монорадикалу (I) в жидких растворах ($20-75^\circ$) и по бирадикалам (II), (IV) и (V) в застеклованных растворах (-196°) хорошо согласуются друг с другом и указывают на реализацию специфических, достаточно жестких конформеров во всех исследованных условиях.

«Изгиб» пептидной цепи должен сохраняться и в отсутствие N-концевого аргининового остатка, о чем свидетельствуют данные табл. 3 по соединениям (IX) и (X): здесь, как и в случае пары (IV) — (V), удаление метки от

Таблица 2

Значения d_1/d и межспинные расстояния R соединений (II) - (X) в различных растворителях

№	Соединение	d_1/d				R, Å		
		Вода — этанол, 1:1	Этанол	Диок- сан — этанол, 1:1	Вода — этанол, 1:1	Этанол	Диок- сан — этанол, 1:1	
(II)	1 См-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser(Cm)-Pro-Phe-Arg	—	0,64	—	—	13,6	—	
(III)	2 См'-Arg-Pro-Gly-Phe-Ser(Cm')-Pro-Phe-Arg	—	0,72	—	—	14,7	—	
(IV)	3 См-Arg-Pro-Gly-Tyr(Cm)-Gly-Pro-Phe-Arg	0,58	0,57	0,57	14,8	16,3	16,3	
(V)	4 См-Arg-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Tyr(Cm)-Arg	0,60	0,60	0,60	14,1	14,8	14,8	
(VI)	5 Вос-Arg-Pro-Gly-Tyr(Cm)-Gly-Pro-Tyr(Cm)-Arg	—	0,65	0,65	—	12,4	12,4	
(VII)	6 Вос-Pro-Pro-Gly-Tyr(Cm)-Gly-Pro-Tyr(Cm)-Arg	—	0,56	—	—	17,0	—	
(VIII)	7 Вос-Gly-Pro-Gly-Tyr(Cm)-Gly-Pro-Tyr(Cm)-Arg	—	0,65	—	—	13,4	—	
(IX)	8 См-Pro-Pro-Gly-Tyr(Cm)-Gly-Pro-Phe-Arg	—	0,54	—	—	18,9	—	
(X)	9 См-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-Pro-Tyr(Cm)-Arg	—	0,58	—	—	15,7	—	

N-конца вдоль цепи сопровождается уменьшением соответствующих межспинных расстояний (от 18,9 до 15,7 Å). Вместе с тем модификация N-концевого участка не проходит без последствий для конформации пептида на участке 5-6-7-8: расстояние $R^{5,8} = 12,4 \text{ Å}$ в соединении (VI) увеличивается при замене $\text{Woc-Arg}^1 \rightarrow \text{Woc-Gly}^1$ (до 13,4 Å, соединение (VIII)), и особенно при удалении остатка Arg^1 (до 17 Å, соединение (VII)). Такого рода эффекты вполне естественны в «изогнутых» конформациях пептидов со сближенными C- и N-концами, поэтому их обнаружение может рассматриваться как добавочное подтверждение основного вывода статьи. Анализ изложенных результатов в свете данных, полученных по брадикинину с помощью других спектральных [10—12, 16, 17] и расчетных [18] методов, будет выполнен в наших последующих сообщениях.

Наконец, необходимо отметить, что замена свободнорадикальных фрагментов Cm соединения (II) на меньшие по размеру фрагменты Cm' (переход к соединению (III)), как и ожидалось, привела к уменьшению расстояния $R^{1,6}$. По-видимому, при дальнейшем использовании метода спинных меток в конформационном анализе пептидов следует отдать предпочтение именно таким меткам, что позволит уменьшить ошибку определения R и облегчит интерпретацию полученных данных.

Экспериментальная часть

Синтез спин-меченых аналогов брадикинина (I) — (X) описан в работе [9]. Введение нитроксильной метки в пептид осуществлялось с помощью активированных производных [19] следующих стабильных радикалов: 2,2,6,6-тетраметил-1-оксил-4-пиперидил уксусной кислоты (Cm) [3] и 2,2,5,5-тетраметил-1-оксил-3-пирролидил карбоновой кислоты (Cm') [20]. Соединения (I) — (VI) представляли собой хлористоводородные соли.

Для приготовления растворов спин-меченых пептидов использовали без дополнительной очистки 96% этанол (ректификат) и диоксан. Концентрации исследуемых растворов составляли не более $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, что исключает проявление в спектрах ЭПР межмолекулярных взаимодействий. Спектры ЭПР регистрировали на радиоспектрометре ЭПР-2 (СССР) или E-4 Varian (США). Температуру в резонаторе поддерживали с точностью до 1° .

Авторы выражают глубокую благодарность А. Б. Шапиро за предоставление Cm и Cm' .

ЛИТЕРАТУРА

1. Гампльтон К. Л., Макконел Г. М. (1970) Успехи химии, **39**, 534—558.
2. Kalmanson A. E., Grygoryan G. L. (1973) in *Experimental methods in biophysical chemistry* (Nicolau C., J. Willey sons, eds.), p. 589, Interscience, London, New York, Sydney, Toronto.
3. Шапиро А. Б., Баймагамбетов К., Гольдфельд М. Г., Розанцев Э. Г. (1972) Ж. орган. химии, **VIII**, 2263—2269.
4. Кокорин А. И., Замараев К. И., Григорян Г. Л., Иванов В. П., Розанцев Э. Г. (1972) Биофизика, **17**, 34—41.
5. Куликов А. В., Лихтенштейн Г. И., Розанцев Э. Г., Сускина В. И., Шапиро А. Б. (1972) Биофизика, **17**, 42—48.
6. Иванов В. Т., Мирошников А. И., Снежкова Э. Г., Овчинников Ю. А., Куликов А. В., Лихтенштейн Г. И. (1973) Химия природн. соедин., 91—98.
7. Ovchinnikov Yu. A. (1973) in *Peptides-1972* (Hanson H., Jakubke H.-D., eds.), North-Holland/American Elsevier, pp. 3—37, Amsterdam-New York.
8. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. (1975) *Tetrahedron*, **31**, 21—77.
9. Reissmann S., Filatova M. P., Reutova T. O., Ivanov V. T., Arold H. (1976) *J. Prakt. Chem.*, **318**, 429—440.
10. Filatova M. P., Reissmann S., Ravdel G. A., Ivanov V. T., Grygoryan G. L., Shapiro A. B. (1973) in *Peptides-1972* (Hanson H., Jakubke H.-D., eds.), North-Holland/American Elsevier, pp. 333—340, Amsterdam-New York.
11. Иванов В. Т., Филатова М. П., Рейссманн С., Реутова Т. О., Коган Г. А., Ефремов Е. С., Пашков В. С., Галактионов С. Г., Григорян Г. Л., Быстров В. Ф. (1975) Биоорганич. химия, **1**, 1241—1244.

12. Ivanov V. T., Filatova M. P., Reissmann S., Reutova T. O., Efremov E. S., Pashkov V. S., Galaktionov S. G., Grygoryan G. L., Ovchinnikov Yu. A. (1975) in *Pep-tides: Chemistry, Structure and Biology* (Walter R., Meienhofer J., eds.), Ann. Arbor. Science, pp. 151—157.
13. Бучаченко А. Л., Вассерман А. М. (1973) Стабильные радикалы, «Химия», М.
14. Белки (1956) пер. с англ. под ред. Г. Нейрата и К. Байли, т. 2, с. 191, Изд-во иностр. лит., М.
15. Кокорин А. И. (1973) Канд. дис., Ин-т хим. физики, М.
16. Иванов В. Т., Филатова М. П., Рейссманн З., Реутова Т. О., Чехляева Н. М. (1977) *Биоорган. химия*, 3, 1157—1168.
17. Ефремов Е. С., Филатова М. П., Реутова Т. О., Степанова Л. Н., Рейссманн З., Иванов В. Т. (1977) *Биоорган. химия*, 3, 1169—1180.
18. Галактионов С. Г., Шерман С. А., Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Леонова В. И. (1977) *Биоорган. химия*, 3, 1190—1197.
19. Reissmann S., Arnold H., Filatova M. P., Reutova T. O., Ivanov V. T. (1975) *Z. Chem.*, 15, 399—400.
20. Rozantsev E. G., Krinitzkaya L. A. (1965) *Tetrahedron*, 21, 491—497.

Поступила в редакцию
21.III.1977

CONFORMATIONAL STATES OF BRADYKININ AND ITS ANALOGS IN SOLUTION. III. ESR SPECTRA OF SPIN-LABELED ANALOGS

■ FILATOVA M. P., REISSMANN Z., REUTOVA T. O., IVANOV V. T.,
GRIGORYAN G. L., SHAPIRO A. M., ROZANTSEV E. G.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry and Institute
[of Chemical Physics, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

ESR studies were made on a series of spin-labeled derivatives of bradykinin and its shortened analogs bearing nitroxyl radicals in positions 1,5, 6, and 8. The average 1-5, 1-6, 1-8 and 5-8 distances between paramagnetic nitroxyl centers were determined by dipole-dipole interaction measurements in frozen (glass) solutions at -196° . The results obtained are indicative of the presence of folded structures in conformation equilibrium.