



УДК 547.466.1 + 541.69

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОТ СТРУКТУРЫ В РЯДУ ПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ

Кауров О. А.

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова

Рассмотрена модель, являющаяся основой для количественной оценки данных по зависимости биологической активности от структуры (ЗАС) в ряду пептидных гормонов. Предложен метод расчета величин, определяющих разницу в изменении свободной энергии при образовании комплексов аналог — рецептор и природный гормон — рецептор. Эти величины обозначены как  $\sigma_{aa}^{(c)}$ . Между биологической активностью аналогов пептидных гормонов (люлиберин, ангиотензин, окситоцин) и расчетными величинами  $\sigma_{aa}^{(c)}$  для ряда модифицируемых положений наблюдается удовлетворительная корреляция. Показано, что для оценки ЗАС при модификации многофункциональных аминокислот можно также использовать метод сопоставления логарифмов относительной биологической активности одинаково модифицированных препаратов различных по природе гормонов. Предлагаемые методы могут являться рациональной основой для количественной оценки ЗАС пептидных препаратов.

Успехи в области синтетической пептидной химии привели к тому, что в настоящее время синтезированы целые серии аналогов ряда пептидных гормонов. Целью такого рода исследований является попытка установления зависимости биологической активности от структуры пептида, что является основой для поиска новых препаратов, представляющих интерес в медицинской практике (антагонисты природных гормонов, соединения с пролонгированным действием или селективной биологической активностью). Практический интерес представляют также аналоги, которые, обладая биологической активностью, могут быть получены в больших количествах более дешевым способом, чем природный гормон (укороченные пептиды, пептиды, содержащие более простые аминокислоты, и т. п.).

Поиски новых лекарственных препаратов, а также работы в области ЗАС чаще всего носят случайный характер, так как для каждого пептида можно придумать огромное количество аналогов, обосновав необходимость синтеза каждого из них тем или иным, часто довольно субъективным, способом, и даже по принципу «интересно, что будет, если...». Вместе с тем синтез каждого нового пептида — дорогостоящий и трудоемкий процесс, причем тем более сложный, чем большее количество аминокислот содержит модифицируемый гормон. Поэтому важно разработать такой метод оценки получаемых данных в области ЗАС для пептидных гормо-

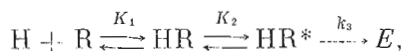
Сокращения для остатков аминокислот: Aad — амид  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты, Abu — аминокислотная кислота, Ala(Et)<sub>2</sub> — диэтилаланин, Cha — циклогексилаланин, A<sub>2</sub>bu — диаминокислотная кислота, Nag — гомоаргинин, alle — аллоизолейцин, Nor — нораргинин, Nle — норлейцин, Nva — норвалин, Phe(Me)<sub>3</sub> — триметилфенилаланин, Phe(OMe) — *p*-метоксифенилаланин, Thr(OMe) — *O*-метилловый эфир треонина. Все аминокислоты, кроме глицина, *L*-конфигурации. LH-RH — рилизинг-гормон лютеинизирующего гормона (люлиберин).

нов, который бы позволял обобщать уже имеющийся экспериментальный материал и на основании этого, во-первых, обоснованно ограничивал количество вновь синтезируемых аналогов, не дающих существенно новой информации, и, во-вторых, являлся рациональной основой для поиска новых препаратов, представляющих практический интерес.

Для большого числа разнообразных лекарственных препаратов непептидной природы разработано несколько вариантов такого метода оценки экспериментальных данных [1]. Наиболее распространен подход, основанный на взаимосвязи физико-химических свойств лекарственных препаратов и их биологической активности [1, 2]. Найдены статистически достоверные корреляции между физико-химическими параметрами (расчетными или полученными экспериментальным путем) и биологическими свойствами серий различных лекарственных препаратов. Вместе с тем необходимо иметь в виду, что полагаться только на статистические критерии при оценке подобного рода корреляций крайне опасно [3—5]. Необходимо, чтобы любая количественная корреляция между биологическими свойствами и какими-либо параметрами имела в своей основе качественную модель, не противоречащую принятым представлениям как в биохимии и молекулярной биологии, так и в физической органической химии [6]. Большая часть опубликованных в литературе корреляций отвечает этим требованиям.

Основой для оценки данных по ЗАС для самых разнообразных биологически активных соединений, в том числе и гормонов, является оккупационная теория Ариэнса [7]. Согласно этой теории, бимолекулярная реакция образования комплекса гормона (H) с рецептором (R) представляет собой лимитирующую стадию в цепи событий, приводящих к наблюдаемому биологическому эффекту (E), который пропорционален концентрации образовавшегося гормон-рецепторного комплекса (HR). Ариэнс предположил также, что при ассоциации биологически активного соединения с рецептором происходит быстрая перегруппировка образовавшегося комплекса. Таким образом, постулируется существование двух форм гормон-рецепторного комплекса — «активного» (HR\*) и «неактивного» (HR); их соотношение определяет «внутреннюю активность» соединения [8]. (Зависимость биологического эффекта от логарифма концентрации препарата носит обычно S-образный характер, напоминая изотерму Лэнгмюра. При определенной концентрации достигается такая величина эффекта, которая уже не меняется с увеличением концентрации. Этот эффект является максимально возможным. Если модифицированный гормон вызывает максимально возможный эффект, отличный от того, который имеет природный гормон, то говорят, что произошло изменение во «внутренней активности». Если при модификации происходит сдвиг кривой «доза — действие» по оси концентраций, то говорят, что произошло изменение «сродства» гормона к рецептору.)

Весь процесс стимулирования биологического эффекта по Ариэнсу может быть представлен следующим образом:



где  $K_1$  и  $K_2$  — константы равновесия образования соответствующих комплексов,  $k_3$  — константа скорости, характеризующая цепь событий от образования HR\* до биологического эффекта и не зависящая от структуры соединения (H).

Согласно рассматриваемой теории,  $K_1$  определяет сродство препарата к рецептору, а  $K_2$  и  $k_3$  — внутреннюю активность. Структурные изменения в молекуле биологически активного соединения могут влиять на константу  $K_2$  и тем самым изменять внутреннюю активность только в том случае, если модифицируемый участок молекулы принимает непосредственное участие в переходе  $HR \rightarrow HR^*$ .

Исходя из вышесказанного, изменение биологической активности ( $A$ ), вызванное структурной модификацией, может быть описано уравнением (1) для случая, когда не происходит изменения во внутренней активности, и уравнением (2) при ее изменении:

$$\delta \log A = k\sigma\Delta F_1, \quad (1)$$

$$\delta \log A = f(\delta\Delta F_1, \delta\Delta F_2), \quad (2)$$

где  $\Delta F_1$  и  $\Delta F_2$  — изменение свободной энергии при образовании комплексов  $HR$  и  $HR^*$  соответственно.

Сравнение величин  $A$  ведется в единицах, соответствующих концентрациям препаратов, вызывающим равный (количественно) биологический эффект, отличный от максимально возможного.

В литературе приводятся обычно численные значения величин биологической активности, ничего не говорящие о внутренней активности того или иного препарата. Поэтому в основе большинства корреляций «физико-химические свойства — биологическая активность» лежит уравнение (1), т. е. при таком подходе к проблеме ЗАС задача сводится к оценке величины  $\delta\Delta F_1$ .

Для относительно простых лекарственных препаратов разработано несколько способов оценки этой величины. Наиболее распространен метод Ганша [9], основанный на предположении, что  $\delta\Delta F_1$  может быть представлена в виде независимых вкладов:  $\delta\Delta F_1 = \delta\Delta F_p + \delta\Delta F_h + \delta\Delta F_{st}$ , где  $\delta\Delta F_p$ ,  $\delta\Delta F_h$ ,  $\delta\Delta F_{st}$  относятся соответственно к полярному, гидрофобному и стерическому взаимодействиям между биологически активным соединением и рецептором.

В качестве количественной меры вкладов  $\delta\Delta F_x$  при структурных изменениях в молекулах лекарственных препаратов используются различные параметры из физической органической химии, например  $\sigma$  — константы Гаммета [10] для полярного эффекта,  $\pi$  — константы Ганша [11] для гидрофобного взаимодействия,  $E_s$  — константы для стерического эффекта [12]. В таком варианте корреляционное уравнение имеет вид

$$\log A = k_1 + k_2\sigma + k_3\pi + k_4E_s, \quad (3)$$

где  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  — постоянные для каждой серии величин.

Подобная сводка физико-химических параметров, используемых при количественной корреляции ЗАС, приведена в работе [4].

В чем же состоит проблема использования упомянутой выше методологии для установления количественной ЗАС для пептидных гормонов? По-видимому, прежде всего в количественной оценке величины  $\delta\Delta F_1$ . Действительно, уравнение (1), по крайней мере при модификации аминокислотных остатков, ответственных за сродство гормона с рецептором, применимо и к пептидным гормонам в той же степени и с теми же допущениями, что и в случае других лекарственных препаратов. О применимости теории Ариэнса к пептидным гормонам свидетельствуют, в частности, полученные к настоящему времени данные о комплексообразовании аналогов некоторых пептидных гормонов с препаратами, содержащими молекулы рецепторов. Между соответствующими биологическими активностями аналогов и константами комплексообразования наблюдается корреляция [13, 14].

Даже при качественной интерпретации результатов биологических испытаний сравниваемых препаратов при исследовании ЗАС большинство авторов, осознанно или неосознанно, пользуются теорией Ариэнса, так как любое основанное на сравнении биологической активности аналогов утверждение, что замена одной аминокислоты на другую в последовательности пептидного гормона вызывает уменьшение (или увеличение) сродства гормона с рецептором, предполагает выполнение всех допущений, на которых основана эта теория. Даже качественное сравнение

биологической активности аналогов пептидных гормонов в большинстве случаев предполагает, что у всех сравниваемых соединений наблюдается одинаковое специфическое действие, изменение в интенсивности которого вызвано конкретной структурной модификацией.

Без системы разумно упрощающих предположений нельзя даже качественно интерпретировать экспериментальные данные в области ЗАС в таких сложных процессах, которые протекают в биологических системах уже *in vitro*, а тем более *in vivo*. За исследователем остается только право констатировать экспериментальный факт, что пептид, имеющий измененную аминокислотную последовательность, имеет измененный (или неизмененный) биологический эффект.

Таким образом, предпосылки, лежащие в основе качественной интерпретации данных ЗАС для пептидных препаратов, не меняются и при количественной оценке тех же данных по уравнению (1)\*. Однако в последнем случае возникает проблема оценки величины  $\delta\Delta F_1$ , так как для пептидов не может быть применен подход, разработанный для более простых в химическом отношении лекарственных препаратов.

В отличие от большинства лекарственных препаратов, к которым применялась количественная оценка ЗАС, пептиды имеют ряд особенностей. Во-первых, пептиды обладают довольно большой конформационной подвижностью. Во-вторых, пространственная организация гормона и гормон-рецепторного комплекса играет важнейшую роль при стимулировании биологического эффекта. В-третьих, трудности, связанные с синтезом любого среднего по величине пептида, приводят к тому, что серии модифицированных по одному положению пептидов обычно содержат ограниченное в статистическом отношении количество аналогов, исключая, таким образом, во многих случаях многопараметровую корреляцию. В-четвертых, боковой радикал одной и той же аминокислоты может выполнять различные функции в зависимости от его положения в аминокислотной последовательности того или иного пептида (функциональная неэквивалентность аминокислотных остатков) [16]. Аминокислотный остаток может быть ответственным за средство гормона к рецептору, за иницирование биологического эффекта, за поддержание соответствующей конформации и т. п. [17, 18]. Таким образом, одинаковая в структурном отношении модификация пептида может привести к эффектам, различным не только в количественном, но и в качественном плане. Предлагаемый нами метод расчета для пептидных препаратов в определенной степени учитывает отмеченные выше особенности. В настоящем виде метод может быть применен только к оценке изменения в биологической активности при структурной модификации аминокислот, ответственных за средство гормона к рецептору. Он основан на следующих допущениях:

1. Изменение свободной энергии при образовании гормон-рецепторного комплекса представляет собой сумму отдельных вкладов, связанных с гидрофобным взаимодействием ( $\Delta F_h$ ), способностью боковых радикалов некоторых аминокислот образовывать водородные связи ( $\Delta F_{hb}$ ), способностью ароматических систем образовывать донорно-акцепторные комплексы ( $\Delta F_a$ ), с электростатическим взаимодействием ( $\Delta F_{el}$ ) и стерическим фактором ( $\Delta F_{st}$ ):

$$\Delta F_1 = \Delta F_h + \Delta F_{hb} + \Delta F_a + \Delta F_{el} + \Delta F_{st}.$$

2. Образование гормон-рецепторного комплекса с термодинамической точки зрения подобно процессу ренатурации белка (как в том, так и в другом случае боковые радикалы аминокислотных остатков из водного окружения переходят в детерминированную область макромолекулы). Поэтому численные значения соответствующих вкладов в общем

\* Естественно, что в тех случаях, когда неприменима оккупационная теория (наличие рецепторного резерва, отсутствие пропорциональности биологического эффекта количеству образовавшихся стимулов [15] и т. п.), использовать уравнение (1) нужно осторожно или в модифицированном виде.

изменение свободной энергии могут быть заимствованы из работ, описывающих этот процесс.

3. Пространственная структура гормона адаптирована к трехмерной структуре рецептора таким образом, что боковые радикалы аминокислот молекулы гормона попадают на родственные по природе участки рецептора, т. е. гидрофобные аминокислоты — на гидрофобный участок, гидрофильные — на гидрофильный и т. д. Сродство гормона к рецептору, а следовательно, и биологическая активность определяется интенсивностью взаимодействия всех контактирующих с рецептором структурных элементов молекулы.

4. Метиленовые группы негидрофобных аминокислот, входящих в состав природного гормона, необходимы главным образом для связывания полярных группировок с основной пептидной цепью. Их липофильность в определенной степени препятствует попаданию полярной группы в полярную область рецептора, облегчая взаимодействие с гидрофобной областью.

5. При взаимодействии модифицированного гормона (аналога) с рецептором боковые радикалы аминокислот также стремятся ориентироваться таким образом, чтобы попасть на родственные по природе участки рецептора. Для образования продуктивного комплекса аналога с рецептором боковые радикалы модифицированной молекулы должны попасть на те же самые участки рецептора, которые предназначены для соответствующих аминокислот природного гормона. Таким образом, если модификация гормона проводится аминокислотой, отличающейся по природе (ароматичность, гидрофобность, полярность) от аминокислоты, находящейся в данном положении природного гормона, то для инициирования биологического действия необходима затрата энергии, связанная с переориентацией бокового радикала модифицирующей аминокислоты.

6. Изменение в биологической активности при модификации вызывается как изменением интенсивности взаимодействия с рецептором на модифицируемом участке, так и необходимостью затраты энергии для создания у аналога конформации, подобной «биологически активной» конформации природного гормона (последнее в определенной степени учитывается стерическими факторами).

7. Характер влияния стерического фактора зависит от того, в каком пептиде, линейном или циклическом, произведена модификация. В линейном пептиде любое стерическое несоответствие будет отражаться на конформации основной пептидной цепи и тем самым затруднять образование продуктивного гормон-рецепторного комплекса. В циклических пептидах конформация основной пептидной цепи относительно закреплена. Стерические характеристики аминокислотных остатков в этом случае влияют главным образом на подвижность боковых радикалов соседних аминокислот. В результате замена на более объемную боковую цепь должна уменьшать количество степеней свободы соседних групп, обеспечивая, таким образом, выигрыш в свободной энергии при образовании комплекса с рецептором.

Глицин и пролин как в линейном, так и в циклическом пептиде обладают способностью изменять конформацию основной пептидной цепи.

Исходя из вышесказанного, величину  $\delta\Delta F_1$  для пептидных препаратов можно рассчитать по формулам (4) и (5), используя численные значения отдельных вкладов из табл. 1. Краткое обоснование выбора численных значений факторов  $\Delta F_x$  дано в работе [19]. Знаки для численных значений вкладов при соответствующих модификациях определяются только характером модифицируемой аминокислоты (табл. 2).

$$\delta\Delta F_1 = \delta\Delta F_h + \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_a + \delta\Delta F_{el} + |\delta\Delta F_{st}| \quad (\text{линейный пептид}), \quad (4)$$

$$\delta\Delta F_1 = \delta\Delta F_h + \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_a + \delta\Delta F_{el} + \delta\Delta F_{st} \quad (\text{циклический пептид}). \quad (5)$$

Факторы  $\Delta F_x$ , используемые для расчета  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  (ккал/моль)

Аминокислота	$\Delta F_h$	$\Delta F_{hb}$	$\Delta F_{el}$	$\Delta F_a$	$\Delta F_{sl}$	Метод оценки $\Delta F_h$
Aad(NH <sub>2</sub> )	1,2	0,5	0,0	0,0	1,0	2·0,6
Abu	1,3	0,0	0,0	0,0	1,0	$\Delta F_h(\text{Ala})+0,6$
Ala	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	[21]
Ala(Et) <sub>2</sub>	3,6	0,0	0,0	0,0	2,0	$\Delta F_h(\text{Ile})+0,6$
Arg	1,2	0,5	0,5	0,0	1,0	2·0,6
Asn	0,0	0,5	0,0	0,0	1,0	0·0,6
Cit*	1,2	0,5	0,0	0,0	1,0	2·0,6
A <sub>2</sub> bu	0,6	0,5	0,5	0,0	1,0	1·0,6
Glu	0,6	0,5	0,0	0,0	1,0	1·0,6
Gly	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0**	[21]
His	0,6	0,5	0,5	0,8	2,0	1·0,6
Har	1,8	0,5	0,5	0,0	1,0	3·0,6
Ile	3,0	0,0	0,0	0,0	2,0	[21]
Met	1,8	0,0	0,0	0,0	1,0	3·0,6
Nar	0,6	0,5	0,5	0,0	1,0	1·0,6
Nle	2,5	0,0	0,0	0,0	1,0	$\Delta F_h(\text{Ala})+3·0,6$
Nva	1,9	0,0	0,0	0,0	1,0	$\Delta F_h(\text{Ala})+2·0,6$
Orn	1,2	0,5	0,5	0,0	1,0	2·0,6
Phe	2,7	0,0	0,0	1,6	2,0	[21]
Phe(Me) <sub>3</sub>	4,5	0,0	0,0	1,6	2,0	$\Delta F_h(\text{Phe})+3·0,6$
Phe(OMe)	3,3	0,5	0,0	1,6	2,0	$\Delta F_h(\text{Phe})+1·0,6$
Pro	2,6	0,0	0,0	0,0	1,0**	[21]
Ser	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0·0,6
Thr	0,6	0,5	0,0	0,0	2,0	0·0,6
Thr(OMe)	1,2	0,5	0,0	0,0	2,0	2·0,6
Trp	3,0	0,5	0,0	3,2	2,0	[21]
Tyr	2,7	0,5	0,5	1,6	2,0	$\Delta F_h(\text{Phe})^{***}$
Val	1,7	0,0	0,0	0,0	2,0	[21]
Leu	2,4	0,0	0,0	0,0	1,0	[21]
Lys	1,8	0,5	0,5	0,0	1,0	3·0,6

\* Cit — цитруллин.

\*\* При расчете  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  прибавляется дополнительная величина в 2 ккал/моль.\*\*\* Тэнфорд [21] дает величину  $\Delta F_h(\text{Tyr})$  2,9 ккал/моль, что противоречит общепризнанным представлениям о влиянии фенольного гидроксила на гидрофобность ароматического кольца. По Тэнфорду  $\Delta F_h(\text{Tyr}) > \Delta F_h(\text{Phe})$ .

Расчетные величины  $\delta\Delta F_1$  в дальнейшем обозначаются как  $\sigma_{aa}^l$  или  $\sigma_{aa}^c$ . Индекс «*l*» означает, что расчет велся по уравнению (4), индекс «*c*» — по уравнению (5), индекс «*aa*» соответствует названию аминокислоты, которая в данном случае выбрана за стандарт. Так, например, при модификации глутамина в циклическом пептиде расчетные величины  $\delta\Delta F_1$  будут обозначены как  $\sigma_{Gln}^c$ , при модификации лейцина в линейном пептиде —  $\sigma_{Leu}^l$ . Величины  $\sigma_{aa}^l$  и  $\sigma_{aa}^c$  для некоторых аминокислот приведены в табл. 3. Таким образом, уравнение (1), определяющее количественную ЗАС для пептидных препаратов, модифицированных в конкретном положении, будет иметь вид

$$\delta \log A = \rho \sigma_{aa}^{l(c)}, \quad (6)$$

где  $\rho$  — коэффициент пропорциональности.

Как видно из приведенных выше предположений, предлагаемая модель оценки ЗАС для пептидных препаратов не противоречит общепринятым в настоящее время качественным представлениям о характере взаимодействия гормонов — рецептор, в то же время в данном случае учитывается отличие пептидных соединений от других лекарственных веществ, обладающих более жесткой структурой. Отметим наиболее существенные, с нашей точки зрения, отличия предлагаемого метода оценки ЗАС от метода Ганша.

Во-первых, метод Ганша предусматривает использование постоянно, не зависящего от конкретной реакционной серии, стандарта. Так, величины  $\sigma$ ,  $\pi$ ,  $E_s$  показывают, в какой мере вводимая структурная группировка влияет на полярное, гидрофобное и стерическое взаимодействие препарата в отличие от случая, когда заместителем является водород (или метильная группа для  $E_s$ ). В предлагаемой нами модели стандарт подвижный. В каждом конкретном случае в качестве стандарта выступает остаток именно той аминокислоты, которая находится в модифицируемом положении природного гормона. Таким образом, в определенной степени учитывается специфичность пептидного препарата. Из табл. 3 видно, что замена одного определенного аминокислотного остатка на другой часто неэквивалентна обратной замене. Например, при модификации изолейцина лейцином

$$\sigma_{\text{Ile}}^l = -(2,4-3,0) + |1,0-2,0| = 1,6 \text{ ккал/моль,}$$

а при модификации лейцина изолейцином

$$\sigma_{\text{Leu}}^l = -(3,0-2,4) + |2,0-1,0| = 0,4 \text{ ккал/моль.}$$

Во вторых, при наличии корреляции между биологической активностью лекарственных препаратов и физико-химическими параметрами (см. ур-ние 3) коэффициенты пропорциональности ( $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ ) показывают, в какой мере влияние заместителей в рассматриваемой серии отличается

Таблица 2

**Зависимость характера знаков для факторов  $\Delta F_x$  от природы модифицируемой аминокислоты**

Все аминокислоты разбиты на типы (I — гидрофобные, II — негидрофобные и А — ароматические, Б — неароматические)

Характер модифицируемой аминокислоты			Уравнение для расчета $\sigma_{aa}^c$
тип	характер полярной группы	пример	
ИБ	Нет	Leu	$\sigma_{aa}^c = -\delta\Delta F_h + \delta\Delta F_a + \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_{el} - \delta\Delta F_{st}$
IA	»	Phe	$\sigma_{aa}^c = -\delta\Delta F_h - \delta\Delta F_a + \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_{el} - \delta\Delta F_{st}$
IA	Нейтральная	Trp	$\sigma_{aa}^c = -\delta\Delta F_h - \delta\Delta F_a - \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_{el} - \delta\Delta F_{st}$
IA	Заряженная	Tyr	$\sigma_{aa}^c = -\delta\Delta F_h - \delta\Delta F_a - \delta\Delta F_{hb} - \delta\Delta F_{el}^{**} - \delta\Delta F_{st}$
IIБ	Нет	Gly	$\sigma_{aa}^c = +\delta\Delta F_h + \delta\Delta F_a + \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_{el} - \delta\Delta F_{st}$
IIБ	Нейтральная	Asn	$\sigma_{aa}^c = +\delta\Delta F_h + \delta\Delta F_a - \delta\Delta F_{hb} + \delta\Delta F_{el} - \delta\Delta F_{st}$
IIБ	Заряженная	Arg	$\sigma_{aa}^c = +\delta\Delta F_h + \delta\Delta F_a - \delta\Delta F_{hb} - \delta\Delta F_{el}^{**} - \delta\Delta F_{st}$
IIА	»	His	$\sigma_{aa}^c = +\delta\Delta F_h - \delta\Delta F_a - \delta\Delta F_{hb} - \delta\Delta F_{el}^{**} - \delta\Delta F_{st}$

\* При расчете  $\sigma_{aa}^l$  знаки факторов  $\Delta F_x$  отличаются от нижесприведенных только для  $\Delta F_{st}$ ; в этом случае используется  $+|\delta\Delta F_{st}|$ .

\*\* При модификации аминокислотой, способной нести электростатический заряд противоположного знака, для фактора  $\Delta F_{el}$  модифицирующей аминокислоты знак изменяется на обратный.

Численные значения величины  $\sigma_{aa}^l$  для некоторых аминокислот (ккал/моль) \*  
 А - модифицируемые аминокислоты; Б - модифицирующие аминокислоты

A \ B	Ala	Arg	Asn	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
Ala	0,0	1,5	2,2	1,6(1,6)	2,7	3,9	4,3	2,7	0,9	2,1	5,6	4,9	1,2	2,4	8,0	6,6	3,0
Arg	1,5	0,0	1,7	1,1(1,1)	5,2	2,4	3,8	2,2	-0,6	4,6	5,1	4,4	2,7	2,1	6,5	5,1	2,5
Asn	2,2	-0,7	0,0	-0,6(-0,6)	3,5	1,7	4,5	2,9	-1,3	3,3	5,8	5,1	1,0	0,4	7,2	5,8	3,2
Gln	1,6	-0,1	0,6	0,0(0,0)	4,1	2,3	3,9	2,3	-0,7	1,7	5,2	4,5	1,6	1,0	6,6	5,2	2,6
Gly	2,7	2,8	3,5	2,9(2,9)	0,0	5,2	7,0	5,4	2,2	4,8	8,3	3,6	2,5	3,9	10,7	9,3	5,7
His	3,9	1,2	2,9	2,3(0,3)	6,4	0,0	4,2	4,6	0,6	4,0	3,9	6,8	3,9	1,3	5,3	3,9	2,9
Ile	-0,3	3,8	4,5	3,9(1,9)	7,0	4,2	0,0	0,4	3,2	-0,2	1,3	2,6	5,5	2,9	3,7	2,3	-1,3
Leu	-0,7	2,2	2,9	2,3(2,3)	5,4	4,6	1,6	0,0	1,6	-0,6	2,9	2,2	3,9	3,3	5,3	3,9	0,3
Lys	0,9	0,6	2,3	1,7(1,7)	5,8	3,0	3,2	1,6	0,0	1,0	4,5	3,8	3,3	2,7	5,9	4,5	1,9
Met	-0,1	1,6	3,3	1,7(1,7)	4,8	4,0	2,2	0,6	1,0	0,0	3,5	2,8	3,3	2,7	5,9	4,5	0,9
Phe	1,6	5,1	5,8	5,2(3,2)	8,3	2,3	1,9	2,3	4,5	1,7	0,0	4,5	6,8	4,2	2,4	1,0	0,6
Pro	1,1	4,4	5,1	4,5(4,5)	3,6	6,8	3,4	1,8	3,8	1,2	4,7	0,0	6,1	5,5	7,1	5,7	2,1
Ser	1,2	0,3	1,0	0,4(0,4)	2,5	2,7	5,5	3,9	-0,3	3,3	6,8	6,1	0,0	1,4	8,2	6,8	4,2
Thr	2,6	0,9	1,6	1,0(-1,0)	5,1	1,3	2,9	3,3	0,3	2,7	4,2	5,5	2,6	0,0	5,6	4,2	1,6
Trp	3,4	6,5	7,2	6,6(4,6)	10,7	0,5	3,7	4,1	5,9	3,5	-1,4	6,3	8,2	5,6	0,0	-1,4	2,4
Tyr	2,6	5,1	5,8	5,2(3,2)	9,3	2,3	2,9	3,3	4,5	2,7	1,0	5,5	6,8	4,2	2,4	0,0	1,6
Val	1,0	2,5	3,2	2,6(0,6)	5,7	2,9	1,3	1,7	1,9	1,1	2,6	3,9	4,2	1,6	5,0	3,6	0,0

\* Для модификации Gln в скобках даны соответствующие величины  $\sigma_{Gln}^c$  для модификации His, Ile, Phe, Trp, Tyr, Val во всех случаях  $\sigma_{aa}^l = \sigma_{aa}^c$ ; величины  $\sigma_{aa}^l$  и  $\sigma_{aa}^c$  совпадают и тогда, когда факторы  $\Delta F_{st}^l$  для модифицируемой и модифицирующей аминокислоты равны.



от стандартных серий, выбранных для определения соответствующих величин  $\sigma$ ,  $\pi$ ,  $E_s$ . В том случае, если будет наблюдаться корреляция между биологической активностью аналогов пептидных гормонов и рассчитанными по предлагаемому методу величинами  $\sigma_{aa}^l$  или  $\sigma_{aa}^c$ , коэффициент пропорциональности (см. ур-ние 6) показывает, в какой мере эти расчетные величины отличаются от «истинных». Если все допущения, на основании которых выведено уравнение (1), верны, то для «истинных» значений  $\delta\Delta F_{1,\rho} = -(2,3 RT)^{-1}$  (для  $T$  298°,  $\rho$  — 0,73 моль/ккал).

В-третьих, сопоставление биологической активности всего с одним параметром ( $\sigma_{aa}^{l(c)}$ ) позволяет пользоваться статистическими критериями для оценки выполнимости количественной ЗАС уже в тех случаях, когда имеется всего три аналога, модифицированных в интересующем положении изучаемого пептида [20].

Необходимо также иметь в виду, что в отличие от метода Ганша, в котором проводится корреляция биологической активности с экспериментально определяемыми величинами  $\sigma$ ,  $\pi$ ,  $E_s$ , погрешность в определении которых может быть установлена экспериментальным путем, нами для аналогичных целей предлагаются расчетные величины с неопределенной погрешностью. Для вычисления величин  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  используются различные факторы  $\Delta F_x$  (см. табл. 1), из которых только численные значения фактора  $\Delta F_h$  для ряда гидрофобных аминокислот взяты непосредственно из эксперимента (растворимость в воде и спирте соответствующих аминокислот [21]). Фактор  $\Delta F_h$  для аминокислот, имеющих полярные группировки в боковой цепи, а также для аминокислот, для которых отсутствуют экспериментальные данные по растворимости в воде и спирте, рассчитан при предположении, что каждая метиленовая группа, не имеющая связи с донорно-акцепторной группировкой, вносит вклад, равный 0,6 ккал/моль. Выбор численных значений остальных факторов основан на ряде очень общих положений. Практически выбраны усредненные величины, которые используются при оценке свободной энергии в процессе денатурации белков.

Так, для полярных группировок, способных образовывать водородные связи и нести электростатический заряд, берутся факторы  $\Delta F_{hb}$  и  $\Delta F_{el}$  по 0,5 ккал/моль независимо от количества водородных связей и возможной разницы в интенсивности электростатического взаимодействия, т. е. от конкретной химической структуры данной группировки.

При оценке стерического фактора используются только три численных значения для трех групп аминокислот (аминокислоты со стерически небольшими радикалами у  $\alpha$ -углеродного атома; аминокислоты, имеющие у  $\beta$ -углеродного атома разветвление или объемный ароматический радикал; остальные аминокислоты). Дополнительная величина в 2 ккал/моль используется для группы аминокислот, способных сильно изменять конформацию основной пептидной цепи (глицин, пролин и т. д.). Очевидно, такая усредненная оценка величин  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  не всегда может оказаться правомерной, особенно в тех случаях, когда модифицируется многофункциональная аминокислота. Так, например, в случае аргинина и лизина важное значение во взаимодействии этих аминокислотных остатков с рецептором может иметь не только сам факт наличия положительного заряда на гуано- и аминогруппах, но также интенсивность электростатического взаимодействия, определяемая величиной заряда и природой взаимодействующей группы на рецепторе. Так как использованные для расчета величин  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  факторы  $\Delta F_{hb}$  и  $\Delta F_{el}$  не учитывают такую возможность, приведенные в табл. 3 численные значения  $\sigma_{Arg}^{l(c)}$  и  $\sigma_{Lys}^{l(c)}$  вызывают некоторое сомнение. В рассматриваемом приближении орнитин полностью эквивалентен аргинину, а замена последнего на аспарагин и диаминомасляную кислоту должна приводить к аналогам, обладающим большим сродством к рецептору, чем природный гормон.

Однако более конкретная детализация величин  $\Delta F_{el}$ ,  $\Delta F_{hb}$  (оценка интенсивности электростатического взаимодействия, количества и интенсивности водородных связей и т. п.), хотя в принципе и возможна, но на данном этапе представляется нецелесообразной, так как при отсутствии знаний о структуре рецепторных молекул требует введения дополнительных предположений. В связи с тем что величины биологической активности имеют не очень высокую точность и являются вероятностными величинами, такая детализация на данном этапе развития наших знаний о ЗАС также может оказаться и нецелесообразной, так как даже при используемой грубой оценке факторов  $\Delta F_x$  неопределенность в их определении может быть меньше, чем неопределенность в величинах биологической активности (при оценке данных по ЗАС следует также иметь в виду, что погрешности в синтезе того или иного аналога могут привести к препаратам с недостоверной активностью). Прежде чем уточнять значения факторов  $\Delta F_x$ , необходимо проверить, в какой мере предлагаемая модель может быть применима для оценки ЗАС в области пептидных препаратов, что может быть сделано сопоставлением расчетных величин  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  с биологической активностью различных препаратов пептидных гормонов.

В первую очередь решено было выяснить, в какой мере расчетные величины  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  соответствуют изменению свободной энергии при образовании специфических комплексов пептидов с белками, т. е. в тех случаях, когда экспериментально определяется непосредственно константа равновесия, а не биологическая активность. Образование специфических комплексов белков даже с небольшими пептидами, так же как и в случае взаимодействия гормон — рецептор, определяется расположением в пространстве боковых радикалов аминокислот и основной пептидной цепи [22, 23], что дает возможность сопоставлять расчетные величины  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  с экспериментальными значениями констант равновесия или рассчитанными из них изменениями свободной энергии при образовании такого рода комплексов.

Бергером и др. [22] были определены константы равновесия взаимодействия папаина с серией три- и тетрапептидов, которые являются специфическими конкурентными ингибиторами этого энзима. Авторами было показано также, что в данном случае соблюдается аддитивность вкладов отдельных аминокислотных остатков в суммарное изменение свободной энергии при образовании комплексов пептид — белок  $\Delta F_{SP}$ . Между определенными экспериментально [22] и рассчитанными по предлагаемому нами методу величинами наблюдается удовлетворительная корреляция:

$$\begin{aligned} \Delta F_{SP} &= (0,2 \pm 0,2) + (0,43 \pm 0,15)(\sigma_{Phe}^l + \sigma_{Lys}^l), \\ n &= 7; R = 0,935; s = 0,301, \end{aligned}$$

где  $n$  — число сравниваемых пар чисел,  $R$  — коэффициент корреляции,  $s$  — среднее квадратичное отклонение.

При корреляционном анализе использованы данные по следующим пептидам: Ala-Phe-Lys, Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Leu, Ala-Leu-Lys, Ala-Leu-Ala, Ala-Phe-Ala. В качестве стандарта был выбран Ala-Phe-Lys, обладающий наибольшим сродством к папаину. (Все приведенные в данном сообщении корреляционные уравнения были рассчитаны методом наименьших квадратов по стандартной программе на электронно-вычислительной машине «Odra» (Польша). Относительная погрешность в определении коэффициентов корреляции не превышает 1%.)

В случае тетрапептидов

$$\begin{aligned} \Delta F_{SP} &= (0,0 \pm 0,2) + (0,45 \pm 0,15)(\sigma_{Phe}^l + \sigma_{Lys}^l), \\ n &= 5; R = 0,867; s = 0,349. \end{aligned}$$

В этом случае использованы данные по следующим пептидам: Ala-Ala-Phe-Lys, Ala-Ala-Phe-Gly, Ala-Ala-Phe-Ala, Ala-Ala-Tyr-Ala, Ala-Ala-Phe-Arg. В качестве стандарта был выбран Ala-Ala-Phe-Lys.

Другой работой, в которой содержится интересующий нас экспериментальный материал, является работа Бреслау и др. [23].

Авторы определили константы равновесия ( $K$ ) реакции образования специфических комплексов с нейрофизином ряда пептидов типа  $H-X-Tyr-NH_2$ , где  $X = Phe, Gly, Ala, Ser, Abu, Nle, Met, Leu$ . Между величинами  $\log K/K_0$ , которые прямо пропорциональны  $\delta\Delta F$ , и расчетными величинами  $\sigma_{aa}^I$  наблюдается удовлетворительная корреляция:

$$\log K/K_0 = -(0,1 \pm 0,2) - (0,27 \pm 0,04) \sigma_{Phe}^I,$$

$$n = 8; R = 0,974; s = 0,248.$$

Наличие корреляции между расчетными величинами  $\sigma_{aa}^I$  и экспериментальными значениями  $\delta\Delta F(K/K_0)$  свидетельствует об определенной обоснованности принципов, положенных в основу расчета. Вместе с тем, как следует из приведенных выше корреляционных уравнений, численные значения рассчитанных величин  $\sigma_{aa}^I$  примерно в 2,3—2,7 раза больше экспериментальных значений  $\delta\Delta F$ .

С целью проверки применимости предлагаемого метода для оценки ЗАС проведен корреляционный анализ биологической активности аналогов ряда пептидных гормонов с использованием расчетных величин  $\sigma_{aa}^{I(c)}$  (см. табл. 4—6). Для каждой отдельной серии использовались величины биологической активности, определенные в одинаковых условиях. Аналоги, для которых по литературным данным наблюдается большое изменение во внутренней активности, в расчет не принимались. Если же для одного и того же аналога в литературе имелось несколько значений биологической активности, всегда использовалась большая величина.

Из табл. 4—6 видно, что при модификации таких аминокислот, как Val, Tyr, Phe, Trp, Ser, Gly, Leu, Ile, Gln, в ряде случаев наблюдается удовлетворительная корреляция между соответствующими величинами  $\sigma_{aa}^{I(c)}$  и логарифмами относительной биологической активности. Отсутствие или наличие корреляции при модификации одной и той же аминокислоты зависит как от природы гормона (ср. Tyr в ангиотензине, LH-RH и окситоцине), характера и условий проведения биологических испытаний даже для одного и того же гормона (см. табл. 6), так и от положения данной аминокислоты в конкретной аминокислотной последовательности (ср. Val в 3-м и 5-м положениях молекулы ангиотензина).

Всегда отсутствует корреляция при модификации His и Arg (прессорная и антидиуретическая активности аналогов Arg<sup>8</sup>-вазопрессина, модифицированных в положении 8, также не коррелируют с величинами  $\sigma_{Arg}^c$ ,  $R = 0,696$  при  $n = 14$  и  $R = 0,195$  при  $n = 10$  соответственно). Корреляция не наблюдается и между биологическими активностями (утеротоническая, молокоизгоняющая и депрессорная) для аналогов окситоцина, модифицированных в положении 5 (Asn), и значениями  $\sigma_{Asn}^c$ .

Отсутствие корреляций в этих случаях может быть связано как с неверной оценкой численных значений величин  $\sigma_{aa}^{I(c)}$  для упомянутых многофункциональных аминокислот, так и с тем, что эти аминокислоты выполняют в соответствующих гормонах функции, отличные от обеспечения средства гормона с рецептором, и, следовательно, в принципе не должна наблюдаться корреляция.

Если отсутствие корреляции связано только с неверной оценкой численных значений  $\sigma_{Arg}^c$  и  $\sigma_{His}^c$ , то при выполнении всех остальных предположений, на которых основан предлагаемый метод оценки ЗАС, между биологическими активностями подобных по модификации аналогов раз-

Зависимость LH-рилизинг-активности ( $A$ ) *in vivo* аналогов рилизинг-гормона лютенизирующего гормона (LH-RH) от  $\sigma_{aa}^I$   
 $\langle \text{Gly-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-GlyNH}_2 \text{ (LH-RH)} \rangle$

МП *	Корреляционное уравнение **	n	R	s
2	$\log A/A_0 = -(0,5 \pm 0,6) - (0,7 \pm 0,2) \sigma_{\text{His}}^I$ (Ser, Leu, Gly, Phe, Arg, Trp)	7	0,809	0,869
3	$\log A/A_0 = -(0,2 \pm 0,5) - (0,8 \pm 0,2) \sigma_{\text{Trp}}^I$ (Tyr, Phe(Me) <sub>3</sub> , His, Leu, Phe)	6	0,920	0,840
4 ***	$\log A/A_0 = -(0,2 \pm 0,3) - (0,6 \pm 0,1) \sigma_{\text{Ser}}^I$ (Thr, Ala, Gln, Gly)	5	0,923	0,302
5	$\log A/A_0 = -(0,2 \pm 0,2) - (0,29 \pm 0,04) \sigma_{\text{Tyr}}^I$ (Phe, Phe(OMe), Gly, Cha)	5	0,976	0,301
6	$\log A/A_0 = -(0,01 \pm 0,06) - (0,51 \pm 0,01) \sigma_{\text{Gly}}^I$ (Ile, Ala, Val, Pro)	5	0,999	0,078
7 ***	$\log A/A_0 = -(0,4 \pm 0,2) - (0,25 \pm 0,06) \sigma_{\text{Leu}}^I$ (Gly, Ala, Val, Ile, Nle)	6	0,889	0,311
8	$\log A/A_0 = -(0,01 \pm 0,02) - (0,5 \pm 0,2) \sigma_{\text{Arg}}^I$ (Lys, Orn, Gln, Leu, His, Nva, Glu, Har, Nar, A <sub>2</sub> bu)	11	0,750	0,589

\* МП — модифицируемое положение.

\*\* В скобках под уравнением даны модифицирующие аминокислоты.

\*\*\* LH-рилизинг-активность *in vitro* (для активности *in vivo* имеющихся экспериментальных данных недостаточно для проведения корреляции).

Таблица 5

Зависимость гипертензивной активности аналогов [Asn<sup>1</sup>, Val<sup>5</sup>]-ангиотензина II от  $\sigma_{aa}^I$   
 Asn-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-PheOH ([Asn<sup>1</sup>, Val<sup>5</sup>]-ангиотензин II)

МП	Корреляционное уравнение *	n	R	s
2	$\log A/A_0 = -(0,5 \pm 0,2) - (0,3 \pm 0,1) \sigma_{\text{Arg}}^I$ (Arg, Lys, Orn, Val, Gly)	5	0,843	0,368
3	$\log A/A_0 = -(0,0 \pm 0,2) - (0,40 \pm 0,06) \sigma_{\text{Val}}^I$ (Val, Leu, Tyr, Pro, Gly)	5	0,965	0,286
4 **	$\log A/A_0 = -(0,9 \pm 0,7) - (0,3 \pm 0,3) \sigma_{\text{Tyr}}^I$ (Tyr, Ala, Phe, Phe(OMe))	4	0,620	1,078
5	$\log A/A_0 = -(0,4 \pm 0,1) - (0,28 \pm 0,07) \sigma_{\text{Val}}^I$ (Val, Ala, Abu, Nle, alle, Ile, Ala(Et) <sub>2</sub> , Pro, Leu, Thr, Thr(OMe))	11	0,818	0,326
6	$\log A/A_0 = -(0,6 \pm 1,0) - (0,8 \pm 0,3) \sigma_{\text{His}}^I$ (Phe, Met, Leu, Orn, Arg, His)	6	0,747	1,150
8	$pA_2^{***} = (9,2 \pm 0,3) - (0,34 \pm 0,6) \sigma_{\text{Phe}}^I$ (Gly, Ala, Abu, Val, Leu)	5	0,956	0,282

\* В скобках под уравнением даны модифицирующие аминокислоты.

\*\* Аналоги [Asp<sup>1</sup>, Val<sup>5</sup>]-ангиотензина II (для аналогов [Asn<sup>1</sup>, Val<sup>5</sup>]-ангиотензина имеющихся экспериментальных данных недостаточно для проведения корреляции).

\*\*\* Величина  $pA_2$  — количественная мера эффективности конкурентных ингибиторов проявлять антагонизм к природному гормону (согласно оккупационной теории,  $pA_2 = \log K_a$ , где  $K_a$  — константа ассоциации антагонист-рецепторного комплекса).

Зависимость биологической активности ( $A$ ) аналогов окситоцина от  $\sigma_{aa}^{I(c)}$ 

$$\overbrace{\text{Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-GlyNH}_2} \text{ (окситоцин)}$$

МП	БА *	Корреляционное уравнение	n	R	s
2	У	$\log A/A_0 = (0,0 \pm 0,2) - (0,66 \pm 0,04) \sigma_{\text{Tyr}}^c$ (Phe, Ile, Val, Leu, Aad(NH <sub>2</sub> ), Ser)	7	0,989	0,248
	М	$\log A/A_0 = (0,4 \pm 0,4) - (0,64 \pm 0,09) \sigma_{\text{Tyr}}^c$	6	0,961	0,511
	Д	$\log A/A_0 = (0,2 \pm 0,3) - (0,64 \pm 0,09) \sigma_{\text{Tyr}}^c$ (Phe, Ile, Val, Leu, Ser)	6	0,973	0,416
3	У	$\log A/A_0 = -(0,3 \pm 0,3) - (0,8 \pm 0,2) \sigma_{\text{Ile}}^c$ (Ala, Ala(Et) <sub>2</sub> , Val, Leu, Phe, Nle, Thr(Me), Nva, Tyr, Trp)	11	0,833	0,741
	М	$\log A/A_0 = (0,7 \pm 0,5) - (1,1 \pm 0,2) \sigma_{\text{Ile}}^c$ (Val, Leu, Phe, Tyr, Trp)	6	0,929	0,598
4	У	$\log A/A_0 = -(0,1 \pm 0,2) - (0,72 \pm 0,08) \sigma_{\text{Gln}}^c$ (Ala, Abu, Asn, Ser, Thr, Val, Gly, Phe, Tyr, Ile, Leu, Orn, Nva, Nle, Pro)	16	0,930	0,441
	М	$\log A/A_0 = -(0,1 \pm 0,1) - (0,29 \pm 0,06) \sigma_{\text{Gln}}^c$	13	0,845	0,230
	Д	$\log A/A_0 = -(0,1 \pm 0,1) - (0,44 \pm 0,06) \sigma_{\text{Gln}}^c$ (Ala, Abu, Asn, Ser, Val, Gly, Ile, Leu, Orn, Nva, Nle, Thr)	13	0,899	0,264
8	У	$\log A/A_0 = (0,0 \pm 0,1) - (0,26 \pm 0,04) \sigma_{\text{Leu}}^l$	11	0,886	0,200
	М	$\log A/A_0 = (0,02 \pm 0,09) - (0,17 \pm 0,04) \sigma_{\text{Leu}}^l$ (Ile, Cit, Val, Arg, Ala, Orn, Lys, Gly, Gln, Phe)	11	0,823	0,169
	Д	$\log A/A_0 = (0,3 \pm 0,1) - (0,35 \pm 0,05) \sigma_{\text{Leu}}^l$ (Ile, Cit, Val, Arg, Ala, Orn, Lys, Gly, Gln, Phe, Abu)	12	0,904	0,236

\* БА — биологическая активность, У — утерогоническая (крысы) *in vitro*; М — молокоизгоняющая (кролики) *in vivo*; Д — депрессорная (птицы) *in vivo*.

ных гормонов должна наблюдаться зависимость

$$\delta \log A = a + b \delta \log A', \quad (7)$$

где  $A$  и  $A'$  — биологические активности аналогов различных по природе гормонов, имеющих одинаковые структурные различия по сравнению с соответствующими природными гормонами;  $a$  и  $b$  — постоянные для сравниваемой серии аналогов величины, связанные с различием в характере и условиях определения различных по своей природе биологических активностей. Уравнение (7) может являться основой для самостоятельного метода количественной оценки ЗАС для пептидных гормонов — метода сопоставления логарифмов относительной активности одинаково модифицированных гормонов различной природы.

О возможности такого подхода, а также о неточной оценке численных значений  $\sigma_{\text{His}}^l$  свидетельствует наличие корреляции между гипертензивной активностью аналогов ангиотензина ( $A_{\text{Ang}}$ ), модифицированных в положении 6, и LH-рилизинг-активностью аналогов LH-RH, модифицированных в положении 2 ( $A_{\text{LH-RH}}$ ):

$$\delta \log A_{\text{LH-RH}} = -(0,1 \pm 0,2) + (0,69 \pm 0,07) \delta \log A_{\text{Ang}},$$

$$n = 5; R = 0,968; s = 0,222$$

(модификация His проводилась Phe, Met, Leu, Arg).

Из приведенных ниже данных по сопоставлению прессорной ( $A_{Pr}$ ) и антидиуретической ( $A_{Ad}$ ) активностей аналогов Arg<sup>8</sup>-вазопрессина с LH-рилизинг-активностью аналогов LH-RH, модифицированных в положении 8, видно что и для аргинина наблюдается повышение коэффициента корреляции:

$$\delta \log A_{LH-RH} = -(1,0 \pm 0,2) + (0,4 \pm 0,1)\delta \log A_{Pr}$$

$$n = 8; R = 0,852; s = 0,404$$

(модификация Arg проводилась Lys, Orn, A<sub>2</sub>bu, Leu, His, Har, Gln, Gly, нулевая точка в расчет не принималась),

$$\delta \log A_{LH-RH} = -(0,8 \pm 0,2) + (1,1 \pm 0,3)\delta \log A_{Ad}$$

$$n = 5; R = 0,913; s = 0,263$$

(модификация Arg проводилась Lys, Orn, A<sub>2</sub>bu, Leu, Har, нулевая точка не учитывалась).

Что касается отсутствия корреляции при модификации Asn в окситоцине, то известно, что основной функцией Asn в этом гормоне является поддержание определенной конформации природного гормона [24].

Как следует из вышесказанного, метод количественной оценки ЗАС для пептидных гормонов путем сопоставления логарифмов относительной биологической активности одинаково модифицированных гормонов разной природы может дать в ряде случаев лучшие результаты, чем использование расчетных величин  $\sigma_{aa}^{(c)}$ . Однако для оценки всего имеющегося экспериментального материала по аналогам пептидных гормонов этим методом требуется разработка больших серий аналогов принятого за стандартный гормона, что из-за трудоемкости пептидного синтеза и большого числа возможных модификаций не всегда представляется целесообразным.

Вместе с тем наличие корреляции в большинстве рассмотренных случаев между биологической активностью и расчетными величинами  $\sigma_{aa}^{(c)}$  открывает возможности для обобщения результатов ЗАС для пептидных гормонов, пользуясь данными, независимыми от результатов изучения биологической активности стандартных препаратов. Оба предлагаемых метода оценки ЗАС при обнаружении корреляции позволяют обоснованно ограничивать число аналогов, модифицирующих то или иное положение изучаемого гормона. Они могут явиться основой для рационального поиска соединений, представляющих практический интерес. Даже в том случае, когда корреляционное уравнение получено с невысоким коэффициентом корреляции (например,  $R = 0,8$ ), имеется большая вероятность (64%), что активность нового аналога будет соответствовать рассчитанной по корреляционному уравнению. Ранее, на примере аналогов окситоцина, было показано преимущество предлагаемого подхода оценки ЗАС для пептидных гормонов перед другими подходами, описанными в литературе [25]. Метод оценки ЗАС, используя данные по биологической активности соответствующих аналогов пептидов, отличных от изучаемых, может быть основой для уточнения расчетных величин  $\sigma_{aa}^{(c)}$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Purcell W., Bass G., Clayton J. (1973) Strategy of Drug Design — A Molecular Guide to Biological Activity, Wiley — Interscience, N. Y.
2. Goodford P. (1973) Adv. Pharm. and Chemotherapy, 11, 273—292.
3. Redl G., Cramertert R., Bercoff C. (1974) Chem. Soc. Rev., 3, 272—295.
4. Perrin Ch. (1974) Science, 183, 551—552.
5. Clerck J., Nalgeli P., Seibl J. (1973) Chimia, 27, 639—640.
6. Unger S., Hansh C. (1973) J. Med. Chem., 16, 745—748.
7. Ariëns E. (1962) Arch. int. Pharmacodyn., 99, 32—43.
8. Wenke M. (1971) Fundamentals of Biochemical Pharmacology, p. 367, Pergamonn Press, N. Y.—London.

9. Hansh C. (1969) *Account Chem. Res.*, **2**, 232—237.
10. Гаммет Л. (1972) Основы физической органической химии, с. 457—505, «Мир», М.
11. Leo A., Hansh C., Elkins D. (1971) *Chem. Rev.*, **71**, 525—616.
12. Тафт Р. (1960) *Пространственные эффекты в органической химии*, с. 562—686, Изд-во иностр. лит., М.
13. Soloff M. S., Swartz T. L., Saffran M. (1972) *Endocrinology*, **91**, 213—216.
14. Hofman K., Wingender W., Finn F. M. (1970) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **67**, 829.
15. Rudinger J., Pliška V., Krejčí J. (1972) *Recent Progr. in Hormone Res.*, **28**, 131—166.
16. Rudinger J. (1972) in *Endocrinology 1971*, Proc. 3d Int. Sym. London (Ed. Selwyn Taylor), p. 12.
17. Schwyzer R. (1973) in *Peptides 1972* (Hanson H., Jakubke H.-D., eds.), pp. 424—436.
18. Чипец Г. И., Папсуевич О. С. (1971) *Химия и биология пептидов*, с. 5—22, «Зиватно», Рига.
19. Кауров О. А., Мартынов Е. Ф. (1970) *Вестн. ЛГУ*, № 16, 137—144.
20. Tuti M. (1971) *Adv. Drug. Res.*, **6**, 1—78.
21. Tanford Ch. (1962) *J. Amer. Chem. Soc.*, **84**, 4240—4247.
22. Berger A., Schechter J., Bendely H., Curn N. (1971) in *Peptides 1969* (Scoffone E., ed.), pp. 290—310.
23. Breslow E., Weis J., Menedoz-Botet C. (1973) *Biochemistry*, **12**, 4644—4653.
24. Walter R. (1973) in *Peptides 1972* (Hanson H., Jakubke H.-D., eds.), pp. 324—327.
25. Кауров О. А., Михайлов Ю. Д., Михайлова В. С. (1972) *Ж. общ. химии*, **42**, 2782—2790.

Поступила в редакцию  
4.II.1977

После доработки  
23.VI.1977

## QUANTITATIVE STRUCTURE—ACTIVITY RELATIONSHIP FOR PEPTIDE HORMONES

KAUROV O. A.

*A. A. Zhdanov State University, Leningrad*

A model was discussed which served as a basis for quantitation the data on the hormone structure — biological activity relationship. The calculation procedure was suggested to determine the free energy difference ( $\sigma_{aa}^{l(c)}$ ) relevant to the formation of analog — receptor and native hormone — receptor complexes. A satisfactory correlation was observed between  $\sigma_{aa}^{l(c)}$  values calculated for a number of modified positions in natural hormones (luliberin, angiotensin, oxytocin) and biological activity of respective analogs. It was demonstrated that when evaluating structure — activity relationship for modified polyfunctional amino acids, a comparison of relative biological activity logarithms may be used for hormones differing by their nature but similarly modified. The above methods are believed to find an application for quantitative treatment of peptide structure — activity relationships.