



УДК 547.962:541.63

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ
БРАДИКИНИНПОТЕНЦИРУЮЩИХ ПЕПТИДОВ

V. <Glu-Asn-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro

Севастьянова Н. Н., Попов Е. М.

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

На основе конформационного анализа перекрывающихся фрагментов исследовано пространственное строение и конформационные возможности брадикининпотенцирующего декапептида <Glu¹-Asn²-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-Pro⁶-Gln⁷-Ile⁸-Pro⁹-Pro¹⁰. Показано, что в полярной среде наиболее вероятна компактная структура, стабилизация которой обусловлена в основном остатками Trp³, Arg⁵, Pro⁹. Боковая цепь остатка Arg⁵ одновременно сближена с N- и C-концами пептидной цепи; ее гуанидиновая группа образует ионную пару с карбоксилем -Pro¹⁰. Взаимодействия остатков Gln⁷ и Ile⁸ ослаблены, их боковые цепи обращены в сторону растворителя. Проведено сравнение оптимальных конформаций исследуемой молекулы и брадикининпотенцирующего нонапептида. Анализ выполнен в предположении *транс*-конфигурации пептидных связей.

В настоящем сообщении изложены результаты теоретического исследования трехмерной структуры одного из активных природных брадикининпотенцирующих пептидов <Glu¹-Asn²-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-Pro⁶-Gln⁷-Ile⁸-Pro⁹-Pro¹⁰ (БПП₁₀). Его аминокислотная последовательность отличается от рассмотренного ранее пептида БПП₉ [1, 2] наличием дополнительного остатка Asn², что, однако, почти не отражается на потенцирующей способности этого соединения [3]. Практически одинаковая биологическая активность близких по химическому строению БПП₉ и БПП₁₀ может свидетельствовать о сходстве пространственной организации и динамических конформационных свойств молекул, особенно тех участков, которые в наибольшей степени ответственны за специфическое взаимодействие с рецептором. Тем не менее это предположение не было принято нами во внимание и рассмотрение структуры БПП₁₀ выполнено без использования данных о пространственной структуре молекулы БПП₉, полученных в работах [1, 2]. При независимом решении конформационных задач для нона- и декапептида сопоставление окончательных результатов может служить эффективной проверкой правильности предсказания пространственного строения обеих молекул, а также способствовать более объективному выявлению связи между их структурой и функцией.

Схема расчета молекулы БПП₁₀ основана на последовательном рассмотрении конформационных возможностей свободных фрагментов, составляющих декапептид (рис. 1). Разбиение последовательностей нона- и декапептида на отдельные участки существенно различается. Совпадение

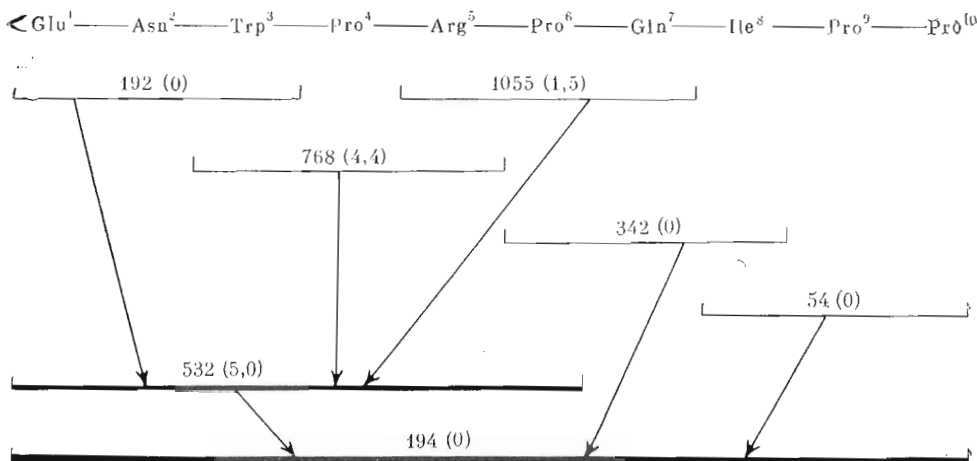


Рис. 1. Схема расчета брадикининотенцирующего декапептида. Для каждого фрагмента указаны число рассчитанных вариантов и относительная энергия конформации (в скобках; ккал/моль), соответствующей геометрии фрагмента в глобальной структуре молекулы

имеет место лишь в случае двух наиболее простых фрагментов: Pro-Gln-Ile и Ile-Pro-Pro.

Конформационный анализ БПП₁₀ выполнен с учетом невалентных и электростатических взаимодействий, водородных связей и торсионного вклада. Исползованные геометрические параметры и потенциальные функции, аппроксимированные к условиям полярной среды, приведены в работе [1]. При рассмотрении результатов расчета использована классификация пептидных структур по конформационным состояниям, формам основной цепи и шейкам пептидного скелета [4]. Для основной цепи каждого остатка в качестве нулевых приближений учитывались три возможных состояния, находящихся на конформационной карте ϕ - ψ в низкоэнергетических областях R ($\phi, \psi - 180-0^\circ$), B ($\phi - 180-0^\circ; \psi 0-180^\circ$) и L ($\phi, \psi 0-180^\circ$); для остатков Pro и $\langle \text{Glu}$ — два состояния (R и B). У боковых цепей нулевыми приближениями служили положения, отвечающие низкоэнергетическим конформациям соответствующих монопептидов. Для обозначения конформаций молекулы БПП₁₀ и ее фрагментов состояния каждого остатка определяются идентификатором $X_{i,j,\dots}^N$, где X характеризует форму основной цепи остатка (R, B или L), N — номер остатка в последовательности, а $i, j, \dots = 1, 1, \dots; 1, 2, \dots; 1, 3, \dots; 2, 1, \dots$ и т. д. отвечают положениям боковой цепи (χ^1, χ^2, \dots); индекс «1» соответствует углу χ $0-120^\circ$, «2» — χ $120-120^\circ$ и «3» — $-120-0^\circ$. В случае угла χ^2 у $-\text{Trp}^3$ индекс «1» соответствует значению χ в области $0-180^\circ$, а «2» — в области $-180-0^\circ$.

Отсчет углов вращения ϕ, ψ, χ соответствует номенклатуре IUPAC-IUB [5].

Поиск минимума потенциальной энергии осуществлялся по первым производным. Наряду с общей энергией оптимальной конформации ($U_{\text{обм}}$) рассчитывались энергетические вклады от скелетных взаимодействий (U_{bn-dm}), взаимодействий в пределах одного остатка CONH — $C^\alpha\text{NR}$ — CONH ($U_{\text{ост}}$), между боковыми цепями (U_{sn-sm}) и между основными и боковыми цепями (U_{bn-sm}); за элемент основной цепи принят участок ($C_n^\alpha\text{NR} - C_{n+1}\text{ONH}$).

Фрагмент $\langle \text{Glu}^1 - \text{Asn}^2 - \text{Trp}^3 - \text{NH}C^\alpha$ (I). Начальные приближения для расчета трипептида (I) формировались из R - и B -состояний пироглутаминовой кислоты [6], R -, B - и L -форм основной цепи остатка Asn² с шестью

ориентациями боковой цепи ($\chi^1 \sim 60, 180, -60^\circ$; $\chi^2 \sim \pm 90^\circ$), отвечающими низкоэнергетическим конформациям метиламида N-ацетил-L-аспарагина [7], и B-формы основной цепи -Trp³- с шестью состояниями боковой цепи ($\chi^1 \sim 60, 180, -60^\circ$; $\chi^2 \sim \pm 90^\circ$). Форма R у остатка Trp³ запрещена, так как он предшествует пролину [8, 9], а форма L была исключена после расчета дипептидов Asn-Trp и Trp-Pro, который показал, что она входит только в высокоэнергетические конформации обоих фрагментов.

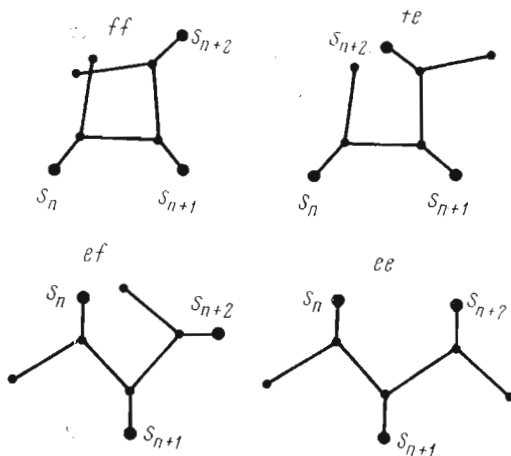


Рис. 2. Шейвы основной цепи трипептида

В табл. 1 показано энергетическое распределение конформаций (I) в зависимости от формы и шейпа пептидного остова. Приведенные данные свидетельствуют, с одной стороны, о значительной энергетической дифференциации конформаций в пределах каждой формы основной цепи, т. е. о высокой чувствительности конформационной энергии к положению боковых цепей, а с другой — о сравнительно малой дифференциации в отношении формы основной цепи. Низкоэнергетические варианты входят в структурные наборы всех шейпов с основной цепью, составленной из R- и B-форм остатков. Лабильность пептидного остова объясняется главным образом способностью боковой цепи -Trp³- подстраиваться к различным формам его основной цепи и образовывать выгодные контакты. В конформациях шейпов *ff* и *ef* (рис. 2) существенные стабилизирующие взаимодействия возникают между боковыми цепями остатков Asn² и Trp³, а также между боковой цепью -Trp³- и остатком <Glu¹. В глобальной конформации R¹-B₁₁²-B₃₂³ (шейп *fe*) боковая цепь триптофана нависает над свернутым предшествующим участком и эффективно взаимодействует с основной цепью -Asn²- и остатком <Glu¹. Такие же взаимодействия может образовывать боковая цепь -Trp³- и при полностью развернутой форме основной цепи фрагмента (шейп *ee*).

Конформации с L-формой остатка Asn², как правило, высокоэнергетичны из-за повышенной монопептидной энергии остатка по сравнению с R- и B-формами. Исключения составляют несколько конформаций с ориентациями боковых цепей -Asn²- и -Trp³- ($\chi^1 \sim -60^\circ$ и $\chi^2 \sim \pm 90^\circ$). В дальнейший расчет включены все варианты фрагмента (I), энергия которых попадает в интервал 0–5 ккал/моль.

Фрагмент C^αCO-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-NH^α (II). Конформационный анализ фрагмента (I) выявил возможности остатка Trp³ в отношении взаимодействий с предшествующим участком пептидной цепи. Расчет фрагмента (II) позволяет оценить взаимодействия этого же остатка с последующим участком молекулы БШП₁₀. Исходные приближения были составлены из B- и L-форм основной цепи -Trp³- и шести положений его боковой цепи, соответствующих минимумам торсионных потенциалов; R- и B-состояний -Pro⁴- и 32 низкоэнергетических конформаций метиламида N-ацетил-L-аргинина с B- и L-формами основной цепи [10]. Шейпы *ef* и *ee* включают в себя по четыре формы основной цепи, которые объединяют все возможные конформации C^αCO-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-NH^α.

Распределение оптимальных конформаций фрагмента (II) по энергии приведено в табл. 2. Самой представительной по числу низкоэнергетических вариантов является форма B³-B⁴-B⁵ (*ee*). Энтальпийная и энтропийная предпочтительность этой формы связана с тем, что она предостав-

Таблица 1

Распределение конформаций фрагмента (Glu¹-Asn²-Trp³-NHС^α)
в интервалах относительной энергии

Интервал <i>U</i> _{общ.} , ккал/моль	Шейп основной цепи					
	<i>ff</i>		<i>fe</i>		<i>ee</i>	
	Форма основной цепи					
	<i>R</i> ¹ - <i>R</i> ² - <i>B</i> ³	<i>B</i> ¹ - <i>L</i> ² - <i>B</i> ³	<i>R</i> ¹ - <i>B</i> ² - <i>B</i> ³	<i>B</i> ¹ - <i>R</i> ² - <i>B</i> ³	<i>R</i> ¹ - <i>L</i> ² - <i>B</i> ³	<i>B</i> ¹ - <i>B</i> ² - <i>B</i> ³
0-1	1	-	2	-	-	4
1-2	3	-	8	1	-	6
2-3	9	-	8	2	-	9
3-4	12	-	7	7	3	4
4-5	11	3	11	18	1	6
5-6	-	6	-	8	6	8
6-8	-	6	-	-	7	2
8	-	9	-	-	7	-

Таблица 2

Распределение конформаций фрагмента С^αCO-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-NHС^α
в интервалах относительной энергии

Интервал <i>U</i> _{общ.} , ккал/моль	Шейп основной цепи							
	<i>ef</i>				<i>ee</i>			
	Форма основной цепи							
	<i>B</i> ³ - <i>R</i> ⁴ - <i>B</i> ⁵	<i>L</i> ³ - <i>B</i> ⁴ - <i>L</i> ⁵	<i>B</i> ³ - <i>B</i> ⁴ - <i>L</i> ⁵	<i>L</i> ³ - <i>R</i> ⁴ - <i>B</i> ⁵	<i>B</i> ³ - <i>B</i> ⁴ - <i>B</i> ⁵	<i>B</i> ³ - <i>R</i> ⁴ - <i>L</i> ⁵	<i>L</i> ³ - <i>B</i> ⁴ - <i>B</i> ⁵	<i>L</i> ³ - <i>R</i> ⁴ - <i>L</i> ⁵
0-1	-	-	-	-	8	-	-	-
1-2	-	-	-	-	5	-	-	-
2-3	6	-	1	-	16	-	-	-
3-4	19	-	1	-	27	2	-	-
4-5	53	-	5	2	27	2	4	-
5-6	30	2	4	8	20	1	14	-
6-8	18	4	8	44	26	4	24	2
>8	42	18	5	114	39	15	126	22

Таблица 3

Распределение конформаций фрагмента С^αCO-Arg⁵-Pro⁶-Gln⁷-NHС^α
в интервалах относительной энергии

Интервал <i>U</i> _{общ.} , ккал/моль	Шейп основной цепи					
	<i>ef</i>			<i>ee</i>		
	Форма основной цепи					
	<i>B</i> ⁵ - <i>R</i> ⁶ - <i>B</i> ⁷	<i>B</i> ⁵ - <i>R</i> ⁶ - <i>R</i> ⁷	<i>L</i> ⁵ - <i>R</i> ⁶ - <i>R</i> ⁷	<i>L</i> ⁵ - <i>R</i> ⁶ - <i>B</i> ⁷	<i>B</i> ⁵ - <i>B</i> ⁶ - <i>R</i> ⁷	<i>L</i> ⁵ - <i>B</i> ⁶ - <i>R</i> ⁷
0-1	1	9	-	-	4	-
1-2	8	19	-	1	4	1
2-3	29	33	3	-	19	1
3-4	45	32	10	5	31	4
4-5	45	32	5	7	52	9
5-6	41	20	7	6	43	4
6-8	38	29	8	7	52	11
>8	153	140	9	16	110	12

ляет сложным и лабильным боковым цепям остатков Trp³ и Arg⁵ большие возможности для одновременной реализации взаимодействий как друг с другом, так и практически со всеми элементами основной цепи (рис. 2).

Так, в глобальной конформации этого типа $B_{21}^3-B_{1211}^5$ энергия взаимодействия между s_3 и s_5 составляет $-3,5$ ккал/моль, а суммарный стабилизирующий эффект взаимодействий боковых цепей -Trp³- и -Arg⁵- равен $-10,2$ ккал/моль. Энергетический вклад благоприятных контактов

остатка Trp³ (s_3 и b_3) с другими участками фрагмента (II) составляет $-8,0$ ккал/моль; в глобальной конформации фрагмента (I) он равен лишь $-4,0$ ккал/моль. Тем не менее окончательный вывод о предпочтительности взаимодействий остатка Trp³ с последующими остатками на данном этапе делать нельзя, поскольку не в полной мере выяснены конформационные возможности остатка Arg⁵ (ориентации остатков Arg⁵ и Trp³ обусловлены).

Энергия конформаций шейпа ee с L -формой $-Arg^5$ - ($B^3-R^4-L^5$) и $-Trp^3$ - ($L^3-B^4-R^5$) значительно выше по сравнению с формой $B^3-B^4-B^5$, особенно в случае $L^3-B^4-L^5$. Это связано, во-первых, с большей величиной монопептидной энергии L -состояния и, во-вторых, с его малой конформационной свободой, что не позволяет остаткам подстраиваться друг к другу и образовывать выгодные контакты.

В конформациях шейпа ef (рис. 2) боковые цепи остатков Trp³ и Arg⁵ удалены и не могут эффективно взаимодействовать между собой. У всех конформаций формы $B^3-R^4-B^5$ энергия взаимодействия s_3-s_5 практически равна нулю. Лишь у редких конформаций формы $B^3-B^4-L^5$ величина $U_{s_3-s_5}$ составляет около $-2,0$ ккал/моль. В этом заключается причина уменьшения различия между энергией отдельных конформаций $B^3-B^4-L^5$ и $B^3-R^4-B^5$ шейпа ef по сравнению, например, с $B^3-R^4-L^5$ и $B^3-B^4-B^5$ шейпа ee . Наибольшие вклады в стабилизацию конформаций шейпа ef вносят взаимодействия боковой цепи $-Trp^3$ - с участком основной цепи $-Arg^5$ - и остатком Pro⁴, а также боковой цепи $-Arg^5$ - с основной цепью $-Trp^3$ -. Во фрагменте (II) суммарный стабилизирующий вклад $-Trp^3$ - такой же ($\sim -4,0$ ккал/моль), как в случае фрагмента (1).

В последующий анализ БПП₁₀ включены все конформации фрагмента C^αCO-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-NHС^α, энергия которых не превышает $5,0$ ккал/моль.

Фрагмент C^αCO-Arg⁵-Pro⁶-Gln⁷-NHС^α (III). Начальные приближения фрагмента (III) сформированы из предпочтительных конформаций с B - и L -формами ($0-3,5$ ккал/моль) метиламида N -ацетил- L -аргинина [10], R - и B -форм остатка Pro⁶ и состояний $-Gln^7$ -, соответствующих конформациям фрагмента C^αCO-Pro⁵-Gln⁶-Ile⁷-NHС^α (IV) с энергией $0-4,5$ ккал/моль (табл. 7 в [1]).

Энергетическое распределение конформаций фрагмента (III) приведено в табл. 3. Распределение отсутствующих в таблице конформаций $B^5-B^6-B^7$ аналогично $B^5-B^6-R^7$, а $L^5-B^6-B^7$ — $L^5-B^6-R^7$. Из табл. 3 видно, что в отличие от фрагмента (II) дифференциация фрагмента (III) по форме основной цепи незначительна, хотя на первый взгляд трипептиды (II) и (III) весьма близки по структуре: на концах имеют остатки со сложными и лабильными боковыми цепями, а в центре — остаток пролина. В чем же причина выраженной энталпийной и энтропийной предпочтительности шейпа ee по сравнению с ef у фрагмента (II) и изоэнергетичности ee и ef у фрагмента (III)? Дело в том, что при развернутой форме основной цепи у последовательности C^αCO-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-NHС^α может реализовываться целый ряд структур, более насыщенных межостаточными взаимодействиями, чем в случае C^αCO-Arg⁵-Pro⁶-Gln⁷-NHС^α. Так, у глобальных конформаций этих фрагментов $B_{21}^3-B^4-B_{121}^5$ (II) и $B_{1221}^5-B^6-R_{332}$ (III), принадлежащих шейпу ee , энергия межостаточных взаимодействий составляет $-11,0$ и $-5,5$ ккал/моль. Более эффективными оказываются контакты остатков Arg⁵ с Trp³ ($-3,5$ ккал/моль), чем Arg⁵ с Gln⁷ ($-2,3$ ккал/моль). Суммарная энергия стабилизирующих взаимодействий аргинина в отмеченных конформациях равна $-9,1$ у фрагмента (II) и лишь $-3,1$ ккал/моль у (III). В последнем случае между боковой цепью N -концевого остатка Arg⁵ и элементом основной цепи b_8 возникает дестабилизирующее взаимодействие с энергией $U_{s_5-b_8}=2,0$ ккал/моль. У конформации фрагмента (II) аналогичный контакт s_3-b_8 понижает энергию приблизительно на $1,0$ ккал/моль.

Основными стабилизирующими взаимодействиями конформаций шейпа *ee* являются взаимодействия боковой цепи $-\text{Gln}^7$ - с боковой цепью $-\text{Arg}^5$ - и с остатком Pro^6 , а также боковой цепи $-\text{Arg}^5$ - с участком основной цепи $-\text{Gln}^7$ -. Они максимальны при ориентации боковой цепи $-\text{Gln}^7$ - — 332, которая реализуется и в лучших конформациях фрагмента $\text{C}^\alpha\text{CO}-\text{Pro}^5-\text{Gln}^6-\text{Pro}^7-\text{NHCO}$ (IV) (табл. 7 в [1]). При $\chi^1 \sim -60^\circ$ и $\chi^2, \chi^3 \neq -60^\circ$ у остатка Gln^7 практически исчезают сильные стабилизирующие взаимодействия $s_5 - s_7$ из-за изменения положения группы $\text{CO}-\text{NH}_2$ боковой цепи $-\text{Gln}^7$ - относительно $-\text{Arg}^5$ -.

Сравнение лучших конформаций двух фрагментов шейпа *ef* $B_{11}^3-R^4-B_{332}^5$ (II) и $B_{211}^5-R^6-B_{311}^7$ (III) с соответствующими конформациями шейпа *ee* показывает, что полусвернутая форма основной цепи в случае фрагмента (II) приводит по сравнению с развернутой формой к структурам с более слабыми межостаточными взаимодействиями (энергия последних у лучших конформаций шейпов *ef* и *ee* составляет соответственно $-6,4$ и $-11,0$ ккал/моль). В этом отношении формы $B-R-B$ и $B-B-B$ фрагмента (III) приблизительно эквивалентны ($-6,5$ и $-5,5$ ккал/моль).

Стабилизация конформаций шейпа *ef* осуществляется в основном за счет взаимодействий боковых цепей остатков Gln^7 и Arg^5 с боковой цепью $-\text{Pro}^6$ - и участком основной цепи b_8 соответственно. В конформациях типа $B-R-R$ предпочтительной ориентацией боковой цепи $-\text{Gln}^7$ - является положение 311, а для $B-R-B$ — 311 и 131, которые, как и в шейпе *ee*, отвечают низкоэнергетическим конформациям фрагмента (IV) молекулы БПП₆ (табл. 7 в [1]).

В последующем расчете учитывались конформации фрагмента (III) с энергией $0-5,0$ ккал/моль.

Конформационный анализ даже небольших олигопептидных фрагментов, включающих в себя аргинин и лизин, встречает значительные трудности, связанные с рассмотрением большого числа вариантов из-за наличия у боковых цепей этих остатков четырех степеней свободы ($\chi^1-\chi^4$). Например, в случае трипептидов (II) и (III) потребовался расчет соответственно 768 и 1055 конформаций с варьированием всех двугранных углов $\chi^1-\chi^4$ аргинина. Если бы в последовательность не входил остаток Pro , который не только сам имеет всего одну степень свободы, но и значительно ограничивает подвижность предшествующего остатка, то число вариантов резко бы возросло.

Рассмотрим влияние изменения ориентации боковой цепи аргинина на величину энергетических составляющих конформационной энергии фрагментов (II) и (III). Несмотря на то что $-\text{Arg}^5$ - расположен на C- и N-концах пептидной цепи во фрагментах (II) и (III) соответственно, при шейпе *ee* реализация углов χ^1 60, 180, -60° аргинина на обоих фрагментах равновероятна из-за сохранения сильных стабилизирующих взаимодействий сложных боковых цепей остатков Arg^5 с Trp^3 (II) и Gln^7 (III). Указанные выше взаимодействия максимальны при $\chi^2 \sim 180^\circ$ ($\chi^1 \sim 60, 180^\circ$). Изменение ориентации боковой цепи аргинина по χ^3, χ^4 приводит к изменению благоприятных контактов s_5 на $\sim 0,8-2,0$ ккал/моль.

Во фрагменте (II) при шейпе *ef* вращение по углам χ^2, χ^3, χ^4 (при всех возможных положениях $-\text{Trp}^3$ - и χ^1 остатка Arg^5) не влияет на величину энергетических составляющих общей энергии. Предпочтительной ориентацией боковой цепи s_5 по углу χ^1 является -60° , которая обеспечивает сильное стабилизирующее взаимодействие $s_5 - s_7$. Для фрагмента (III) конформации с $\chi^1 \sim 60^\circ$ у $-\text{Arg}^5$ - высокоэнергетичны ввиду отсутствия взаимодействия s_5-s_7 . При $\chi^1 \sim 180, -60^\circ$ у $-\text{Arg}^5$ - изменение двугранных углов χ^2, χ^3, χ^4 незначительно изменяет общую энергию фрагмента ($\sim 1,0$ ккал/моль).

Распределение конформаций фрагмента $\langle \text{Glu}^1\text{-Asn}^2\text{-Trp}^3\text{-Pro}^4\text{-Arg}^5\text{-Pro}^6\text{-NH}\text{C}^\alpha \rangle$ в интервалах относительной энергии

Интервал U общ., ккал/моль	Шейп основной цепи													
	ffeee		ffefe		feeee				feefe					
	Форма основной цепи													
	$R^1\text{-R}^2\text{-B}^3\text{-B}^4\text{-B}^5\text{-R}^6$	$R\text{-R-B-R-L-R}$	$R\text{-R-B-R-B-R}$	$R\text{-R-B-B-L-L-R}$	$R\text{-B-B-B-B-R}$	$B\text{-L-B-B-B-R}$	$R\text{-R-L-B-B-R}$	$B\text{-L-B-R-L-R}$	$R\text{-B-B-R-L-R}$	$R\text{-B-B-R-B-R}$	$R\text{-R-L-R-B-R}$	$B\text{-L-B-R-B-R}$	$B\text{-L-B-B-L-L-R}$	$R\text{-B-B-B-L-L-R}$
0-1	2	--	3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
1-2	5	--	4	--	5	--	--	--	--	2	--	--	--	--
2-3	8	--	12	--	7	--	--	--	--	12	--	--	--	--
3-4	13	1	10	2	10	--	--	--	--	13	--	--	--	--
4-5	20	1	18	2	22	1	--	--	1	24	--	--	--	--
5-6	17	1	24	2	17	--	--	2	1	32	1	--	--	--
6-8	20	--	18	--	45	9	1	1	--	25	1	3	2	3
8-10	2	--	8	--	6	1	1	3	1	1	--	4	3	--
>10	27	1	14	1	8	--	2	2	1	16	2	4	--	1

Энергетическая дифференциация конформаций фрагментов (II) и (III) объясняется либо отсутствием сильных стабилизирующих взаимодействий, либо наталкиванием боковых цепей остатков, либо значительным повышением монопептидных энергий $-\text{Arg}^5$ - и $-\text{Pro}^6$ -. Последнее вызывается стремлением остатка сохранить благоприятные межостаточные контакты, характерные для каждого шейпа.

Анализ полученных данных приводит к заключению, что конформационная энергия трипептидов, содержащих аргинин (или лизин), наиболее чувствительна к значению угла χ^1 и в меньшей степени χ^2 . Варьирование χ^3 , χ^4 у $-\text{Arg}$ - влияет на характер взаимодействий, в которые вовлечена боковая цепь остатка, но изменения не столь значительны, чтобы вывести конформацию из числа низкоэнергетических и сильно повлиять на энергетическую дифференциацию структур коротких пептидов. Поэтому χ^3 , χ^4 могут быть зафиксированы в положении 180° . Кроме того, конформации $X_{1;22}^5$ остатка Arg^5 низкоэнергетичны во фрагментах (II) и (III) для всех форм основной цепи, не содержащих остатки в L -состоянии. Варьирование углов χ^3 и χ^4 целесообразно проводить при рассмотрении фрагментов большей длины, у которых значительно уменьшено число конформеров по χ^1 и χ^2 .

Фрагмент $\langle \text{Glu}^1\text{-Asn}^2\text{-Trp}^3\text{-Pro}^4\text{-Arg}^5\text{-Pro}^6\text{-NH}\text{C}^\alpha \rangle$ (IV). Комбинации конформаций трипептидных участков (II) и (III), отобранных в интервале 0-5,0 ккал/моль, образуют 532 структурных варианта гексапептида (IV), которые имеют 14 различных форм основной цепи, группируются по четырем шейпам. Для конечного остатка Pro^6 во всех конформациях принято R -состояние, поскольку замена его на B практически не сказывается на результатах. Для остатка $\langle \text{Glu}^1$ в большинстве форм учитывалось также только одно состояние R , которое, как показал расчет фрагмента (I), или изоэнергетично, или более предпочтительно, чем B . В анализе всей молекулы как для $-\text{Pro}^6$ -, так и для $\langle \text{Glu}^1$ - будут рассмотрены оба состояния.

Представление о распределении конформаций (IV) по формам, шейпам и энергии дает табл. 4. Из таблицы видно, что все конформации, включающие в себя остатки Asn^2 , Trp^3 , Arg^5 в L -форме, оказываются значительно менее выгодными по сравнению с конформациями, основная цепь которых состоит из R - и B -форм остатков. Последние распределены по четырем формам основной цепи, по одной в каждом шейпе. Самые низко-

Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий в предпочтительных

Шейп	Конформация	$U_{\text{общ}}$, ккал/моль	Энергия взаимодействий, ккал/моль					
			МОНО-					
			$\langle \text{Glu}^1$	Asn^2	Trp^3	Pro^4	Arg^5	Pro^6
<i>fjee</i>	$R^1-R_{11}^2-B_{21}^3-B^4-B_{3221}^5-R^6$	0	-2,4	-3,1	-3,2	0,3	-1,9	-0,2
	$R-R_{11}-B_{12}-B-B_{1221}-R$	1,2	-2,3	-3,1	-2,1	-0,2	-1,7	-0,6
	$R-R_{32}-B_{32}-B-B_{3321}-R$	2,4	-2,4	-2,7	-3,6	-0,6	-1,8	-0,6
<i>ffefe</i>	$R-R_{11}-B_{11}-R-B_{3322}-R$	0,5	-2,2	-2,5	-2,1	-0,9	-4,7	-0,4
	$R-R_{11}-B_{11}-R-B_{1211}-R$	0,8	-2,2	-2,5	-2,3	-0,9	-2,8	-0,5
	$R-R_{11}-B_{11}-R-B_{2211}-R$	0,8	-2,2	-2,5	-2,3	-1,0	-2,8	0,1
<i>feeee</i>	$R-B_{32}-B_{12}-B-B_{4211}-R$	1,5	-2,4	-2,9	-4,1	-0,3	-1,6	-0,6
	$R-B_{11}-B_{32}-B-B_{3322}-R$	1,6	-2,4	-3,1	-4,9	-0,5	-4,6	-0,8
	$R-B_{32}-B_{12}-B-B_{3221}-R$	1,8	-2,4	-2,9	-4,0	-0,3	-1,8	-0,3
<i>feefe</i>	$R-B_{11}-B_{11}-R-B_{2211}-R$	1,7	-2,4	-2,8	-4,8	-0,8	-3,3	0,1
	$R-B_{11}-B_{11}-R-B_{3322}-R$	1,8	-2,4	-2,8	-4,6	-0,5	-4,7	-0,5
	$R-B_{11}-B_{32}-R-B_{3322}-R$	2,3	-2,4	-3,1	-4,9	-0,7	-4,2	-0,7

энергетические конформации имеют формы $R^1-R^2-B^3-B^4-B^5-R^6$ (*fjee*) и $R^1-R^2-B^3-R^4-B^5-R^6$ (*ffefe*), однако им лишь очень незначительно уступают по энергии соответствующие варианты двух других форм: $R^1-B^2-B^3-B^4-B^5-R^6$ (*feeee*) и $R^1-B^2-B^3-R^4-B^5-R^6$ (*feefe*). Следовательно, среди конформаций фрагмента (IV) с *R*- и *B*-состояниями остатков энергетической дифференциации по форме основной цепи практически не наблюдается. У рассмотренных выше трипептидов заметная дифференциация по форме была лишь у фрагмента $\text{C}^\alpha\text{CO-Trp}^3\text{-Pro}^4\text{-Arg}^5\text{-NH}\text{C}^\alpha$ (II), где форма $B^3-B^4-B^5$ предоставляет лучшие, чем $B^3-R^4-B^5$, условия для реализации межостаточных взаимодействий. При включении фрагмента (II) в гексапептидный участок предпочтительность формы $B^3-B^4-B^5$ пропадает, так как теперь остатки Trp^3 и Arg^5 могут образовывать дополнительные контакты с -Pro^6 - и $\langle \text{Glu}^1\text{-Asn}^2$ -. В этом отношении большими возможностями обладают конформации типа $B^3-R^4-B^5$.

В табл. 5 приведены величины энергии монопептидов и энергетические составляющие межостаточных взаимодействий для трех предпочтительных конформаций каждой формы основной цепи. Кратко рассмотрим характерные особенности конформаций каждого типа (см. рис. 3).

В глобальной структуре гексапептида $R^1-R_{11}^2-B_{21}^3-B^4-B_{3221}^5-R^6$ (*fjee*) боковые цепи остатков Trp^3 и Arg^5 направлены друг к другу и образуют между собой и с основной цепью столь же эффективные контакты, как у соответствующего варианта свободного фрагмента (II). Не нарушая этих взаимодействий, возникают новые тетра- и пентапептидные контакты между сближенными боковыми цепями остатков Trp^3 и Pro^6 , а также $\langle \text{Glu}^1$ и Arg^5 (рис. 3), энергия которых равна $-2,3$ ккал/моль. Однако нельзя сказать, что глобальная конформация на всех своих участках представляет собой структуру, насыщенную межостаточными взаимодействиями (компактную структуру). Так, весьма незначительны взаимодействия -Asn^2 -, которые к тому же ограничены лишь ближайшими соседями: $\langle \text{Glu}^1$ ($-0,7$ ккал/моль) и -Trp^3 ($-0,8$ ккал/моль). Суммарный эффект взаимодействий типа 1-3 составляет величину $-4,6$ ккал/моль, причем $-3,8$ ккал/моль — результат взаимодействия между остатками Trp^3 и Arg^5 . Таким образом, в структуре с $U_{\text{общ}} 0$ ккал/моль конформационно жестким является лишь трипептидный фрагмент $\text{Trp}^3\text{-Pro}^4\text{-Arg}^5$.

конформациях фрагмента $\langle \text{Glu}^1\text{-Asn}^2\text{-Trp}^3\text{-Pro}^4\text{-Arg}^5\text{-Pro}^6\text{-NHCO}^\alpha \rangle$

Энергия взаимодействий, ккал/моль												
ди-							три-				тетра-	пента-
$r-s_2$	s_3-b_2	s_2-s_3	s_3-b_5	s_4-s_3	s_5-b_4	b_7-s_5	$r-s_3$	$r-b_4$	s_3-b_6	s_3-s_5	s_3-s_6	$r-s_5$
-0,7	-0,1	-0,7	-1,9	-1,2	-3,5	-0,2	-0,1	-0,7	-0,9	-2,9	-0,8	-1,5
-0,7	-0,3	-1,7	-1,2	-0,9	-2,1	-1,2	-2,0	-0,8	-1,0	-1,9	-0,5	-0,8
-0,9	-0,2	-1,9	-0,3	-0,5	-4,4	-0,2	-0,1	-0,6	0	-1,9	0	-1,8
-0,8	-0,5	-2,0	-1,1	-0,3	-1,5	-1,1	-2,3	-0,8	-1,8	0,1	-0,9	0,7
-0,8	-0,4	-1,9	-1,2	-0,3	-1,3	-0,5	-2,2	-0,8	-1,8	0	-1,3	0,6
-0,8	-0,4	-2,0	-1,1	-0,1	-1,0	-1,1	-2,3	-0,8	-1,8	0	-1,5	0,5
-0,9	-1,0	-0,1	-1,2	-0,8	-3,3	-0,8	-0,7	-0,2	-0,9	-3,8	-0,4	1,2
-1,0	-1,4	-0,3	-0,3	-0,6	-2,9	-0,2	-1,5	-0,2	0	-2,3	0	0,7
-0,9	-0,8	-0,1	-1,0	-0,9	-2,9	-0,2	-0,6	-0,2	-0,9	-4,0	-0,8	1,2
-1,0	-1,5	-0,3	-1,0	-0,6	-1,0	-1,3	-1,0	-0,2	-1,4	0,1	-1,6	0,5
-1,0	-1,5	-0,2	-0,9	-0,7	-1,4	-0,1	-1,0	-0,2	-1,4	0,1	-0,6	0,5
-1,0	-1,6	-0,3	-0,4	-0,6	-1,4	-0,2	-1,5	-0,2	-0,5	0	0	0,5

Другими причинами объясняется низкая энергия конформации $R^1-R_{11}^2$ -

$B_{11}^3-R^4-B_{3322}^5-R^6$ шейпа *ffefe*, уступающая глобальной 0,5 ккал/моль (табл. 5).

Боковые цепи $-\text{Trp}^3$ - и $-\text{Arg}^5$ - при форме основной цепи $B^3-R^4-B^5$ не могут взаимодействовать между собой (рис. 3). Все контакты триптофана теперь ограничены N-концевым трипептидным участком. При этом аргинин остается практически исключенным из взаимодействий с другими остатками. Следовательно, в лучшей конформации шейпа *ffefe* наиболее жестким элементом структуры является фрагмент $\langle \text{Glu}^1\text{-Asn}^2\text{-Trp}^3\text{-NHCO}^\alpha \rangle$.

Энергия конформации $R^1-B_{32}^2-B_{12}^3-B^4-B_{1211}^5-R^6$ шейпа *feeee* ($U_{\text{общ}} 1,6$ ккал/моль) складывается почти аддитивно из энергий трипептидов

(I) и (II). Конформация $R^1-B_{32}^2-B_{12}^3$ (I) находится в глобальном минимуме ($U_{\text{общ}} 0$ ккал/моль), а $B_{12}^3-B^4-B_{1211}^5$ (II) характеризуется относительной энергией 2,0 ккал/моль. При этом фрагменты (I) и (II) входят в гексапептид, сохраняя свойственные им стабилизирующие взаимодействия. В случае данной конформации плотно упакованным ядром является трипептид (II).

Конформация $R^1-B_{11}^2-B_{11}^3-R^4-B_{2211}^5-R^6$ шейпа *feefe* по характеру межостаточных взаимодействий весьма близка соответствующей конформации шейпа *ffefe*. Основную стабилизирующую и дифференцирующую функцию в структурах этого шейпа выполняет боковая цепь триптофана. Наиболее жесткая часть гексапептида — фрагмент (I).

При отборе вариантов для конформационного анализа всей молекулы БПП₁₀ принят «плавающий» нуль отсчета. В дальнейший расчет были включены все конформации гексапептида, энергия которых не превышала 5,0 ккал/моль, но не глобальной структуры фрагмента (IV), а лучшей конформации каждого шейпа. Такой отбор позволяет учесть специфику взаимодействий каждого шейпа и возможные перспективные благоприятные контакты при включении фрагмента (IV) в структуру всей молеку-

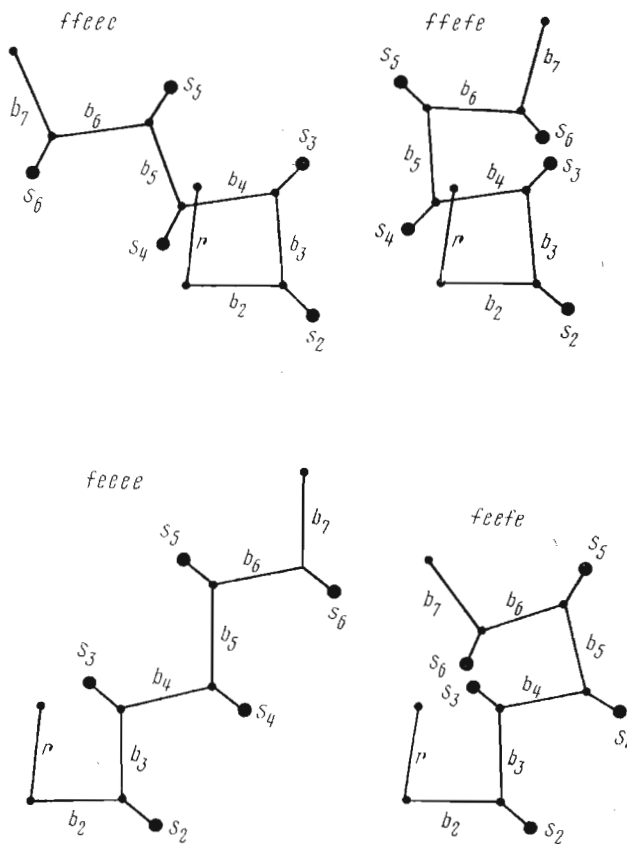


Рис. 3. Шейцы основной цепи гексапептида

лы декапептида. Кроме того, появляется возможность учесть большинство форм основной цепи с *L*-состоянием остатков без значительного увеличения числа рассчитываемых вариантов.

Декапептид $\langle \text{Glu}^1\text{-Asn}^2\text{-Trp}^3\text{-Pro}^4\text{-Arg}^5\text{-Pro}^6\text{-Gln}^7\text{-Ile}^8\text{-Pro}^9\text{-Pro}^{10} \rangle$. Исходные приближения для расчета молекулы БПП₁₀ были составлены из низкоэнергетических конформаций шейпов *ffeee*, *ffefe*, *feeee* и *feefe* рассмотренного выше гексапептида (IV) и двух трипептидов $\text{Pro}^6\text{-Gln}^7\text{-Ile}^8$ (V) и $\text{Pro}^8\text{-Pro}^9\text{-Pro}^{10}$ (VI), результаты конформационного анализа которых изложены в работе [1]. У фрагмента (V) возможна реализация конформаций с формами основной цепи $R^6\text{-}R^7\text{-}B^8$ (*ff*), $R^6\text{-}B^7\text{-}B^8$ (*fe*), $B^6\text{-}R^7\text{-}B^8$ (*ef*) и $B^6\text{-}B^7\text{-}B^8$ (*ee*), а у фрагмента (VI) — только $B^8\text{-}B^9\text{-}B^{10}$ (*ee*) [1]. Все конформации декапептида (194 варианта) распределяются по 16 шейпам. Минимизация энергии БПП₁₀ была проведена по 28 двугранным углам вращения φ , ψ и χ . При этом наблюдалась резкая энергетическая дифференциация конформаций молекулы по форме и шейпу основной цепи. Высокоэнергетичными по разным причинам оказались все конформации 13 из 16 шейпов. Лучшие представители шейпов *feeeeeeee*, *ffeeeeeee*, *feefeeeee*, *ffefeeeee*, имеющих преимущественно растянутую форму пептидного остова, уступают глобальной конформации БПП₁₀ более 15,0 ккал/моль. Это обусловлено отсутствием межостаточных взаимодействий более чем трипептидного порядка. Также весьма неэффективны контакты между остатками в конформациях шейпов *ffeeeefee*, *feeeeefee*, *feefeeefee*, *feeeeefee*, *ffeeeefee*, *ffefeeefee*, *ffefefee*, *feefefee*. В некоторых случаях реализация дополнительных взаимодействий сопровождается ухудшением контактов, сложившихся ранее на более коротких участках последовательности. Здесь минимальный проигрыш в энергии составляет 10,0 ккал/моль. Все конформации

Распределение конформаций декапептида в интервалах относительной энергии

Интервал $U_{05и}$, ккал/моль	Шейп основной цепи		
	<i>feeeffee</i>	<i>feefeffee</i>	<i>ffeeeffee</i>
	Форма основной цепи		
	I	II	III
0-1	1	—	—
1-2	—	1	—
2-3	—	1	—
3-4	2	—	—
4-5	—	—	2
5-6	—	—	2
6-8	3	4	7
8-10	5	2	7
10-15	7	1	2
>15	11	16	32

Примечание. I— $R^1-B^2-B^3-B^4-B^5-R^6-R^7-B^8-B^9-R^{10}$, II— $R^1-B^2-B^3-R^4-B^5-R^6-R^7-B^8-B^9-R^{10}$, III— $R^1-R^2-B^3-B^4-B^5-R^6-R^7-B^8-B^9-R^{10}$.

шейпа *ffeeffee* имеют высокую энергию из-за неустранимых при данной форме основной цепи многочисленных наталкиваний противоположных концов молекулы, а также боковых цепей $-Trp^3-$ и $-Arg^5-$ друг на друга и на остатки Pro^6 , Pro^9 и Pro^{10} .

Распределение конформаций трех оставшихся шейпов по энергии приведено в табл. 6. Как видно из таблицы, в каждом шейпе имеется резкая дифференциация конформаций. Из 194 вариантов, составленных из самых предпочтительных состояний фрагментов (I)–(VI), в интервал 0–5,0 ккал/моль попадают всего шесть конформаций. В табл. 7 для наиболее выгодных конформаций шейпов *feeeffee*, *feefeffee* и *ffeeeffee* приведена матрица энергии внутри- и межостаточных взаимодействий, а в табл. 8 — значения двугранных углов основной и боковых цепей.

В глобальной конформации $R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-B^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10}$ (*feeeffee*) основная цепь, образуя небольшой загиб на начальном дипептидном участке, имеет до остатка Pro^6 развернутый характер (рис. 4). Затем на участке $Pro^6-Gln^7-Phe^8$ она изменяет свое направление на 180° и вновь приобретает развернутый вид. При такой форме основной цепи C-концевой фрагмент Pro^9-Pro^{10} оказывается сближенным с центральным участком молекулы Pro^4-Arg^5 (рис. 5a). Энергия взаимодействия между ними составляет $-14,6$ ккал/моль (табл. 7). Матрица межостаточных контактов делится на две субматрицы, отражающие локализацию взаимодействий внутри фрагментов $\langle Glu^1-Asn^2-Trp^3-Pro^4-Arg^5-NHC^\alpha \rangle$ и $C^\alpha CO-Arg^5-Pro^6-Gln^7-Phe^8-Pro^9-Pro^{10}$. Контакты, объединяющие обе части молекулы в единую структуру, осуществляются остатком Arg^5 и отчасти Pro^4 . Боковая цепь $-Arg^5-$ в глобальной конформации оказывается одновременно сближенной с обоими концами пептидной цепи. Она образует своей гуанидиновой группой эффективную ионную пару с группой COO^- остатка Pro^{10} ($-5,1$ ккал/моль). Энергия стабилизирующих взаимодействий гидрофобной части боковой цепи $-Arg^5-$ с предшествующими остатками равна $-2,4$ ккал/моль, а с последующими — $-8,4$ ккал/моль. Элементом, стабилизирующим фрагмент $\langle Glu^1-Asn^2-Trp^3-Pro^4-Arg^5-NHC^\alpha \rangle$, является $-Trp^3-$, который осуществляет контакты со всеми остатками, входящими во фрагмент ($-5,1$ ккал/моль). На втором участке $C^\alpha CO-Arg^5-Pro^6-Gln^7-Phe^8-Pro^9-Pro^{10}$ COO^- такую роль выполняет остаток Pro^9 , стабилизирующий эффект которого весьма значителен ($-10,2$ ккал/моль). Сравнительно малоэффективны взаимодействия остатков Gln^7 и Phe^8 ; их боковые цепи обращены в сторону растворителя. Фрагменты (I)–(VI) входят в глобальную конформа-

Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий в конформациях декапептида

$$R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-B^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10} \quad (U_{\text{общ}} 0 \text{ ккал/моль}),$$

$$R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-R^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10} \quad (U_{\text{общ}} 1,8 \text{ ккал/моль}),$$

$$R^1-R_{11}^2-B_{12}^3-B^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10} \quad (U_{\text{общ}} 4,4 \text{ ккал/моль})$$

Остаток	<Glu ¹	Asn ²	Trp ³	Pro ⁴	Arg ⁵	Pro ⁶	Gln ⁷	Ile ⁸	Pro ⁹	Pro ¹⁰
<Glu ¹	-2,4	-1,0	-1,5	-0,1	0,9	0	0	0,2	0	0,3
	-2,3	-0,9	-1,9	-0,3	0,5	-0,8	-0,5	0,1	-0,1	-0,4
	-2,2	-0,7	-2,1	-0,6	-2,1	0	0	0,1	-0,2	-1,2
Asn ²		-2,8	-1,9	-0,7	-0,6	0	0	-0,1	-0,1	-1,2
		-1,5	-3,5	-0,4	-0,2	-0,1	0	-0,1	0	0
		-2,8	-2,1	-0,2	-0,6	0	0	-0,2	0,1	0
Trp ³			-4,7	-0,9	-0,8	0	0	0	-0,1	-0,6
			-3,9	-0,6	-0,9	-0,7	-0,3	0	-1,2	-2,0
			-1,7	-0,7	-5,1	0	-0,1	0	0	-0,1
Pro ⁴				-0,5	-1,9	-0,5	-0,1	-0,1	0,1	-1,5
				-0,6	-1,4	-0,2	-0,1	-0,2	0	-2,0
				-0,1	-2,0	-0,5	0,1	-0,2	-0,3	-1,1
Arg ⁵					-2,4	-0,3	-0,9	0,6	-5,1	-7,9
					-2,5	-0,5	-0,6	0,7	-1,7	-4,3
					-2,3	-0,3	-0,6	0,7	-2,2	-4,2
Pro ⁶						1,0	-2,6	-1,2	-1,4	-0,4
						0,1	-1,9	-1,1	-1,0	-0,8
						0,6	-2,1	-0,8	-1,4	-0,6
Gln ⁷							-2,9	-0,6	-1,2	0
							-2,8	-0,7	-0,9	-0,1
							-2,3	-0,7	-1,2	-0,4
Ile ⁸								-0,2	-1,2	-1,8
								-1,3	-1,1	-0,7
								-1,0	-1,1	-1,7
Pro ⁹									-0,5	-1,3
									-0,3	-2,3
									-0,5	-2,3
Pro ¹⁰										1,6
										1,8
										1,8

Примечание. Значения в верхней, средней и нижней строчках каждой клетки отвечают соответственно конформациям с $U_{\text{общ}} 0; 1,8; 4,4$ ккал/моль.

цию в оптимальных формах, попадающих в интервал 0–5,0 ккал/моль, сохраняя основные присущие им стабилизирующие взаимодействия. Это, как и на БПП, подтверждает принцип согласованности ближних и средних взаимодействий в пептидной цепи [11].

Формы основной цепи других наиболее низкоэнергетических конформаций $R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-R^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10}$ шейпа *feefeffe* ($U_{\text{общ}} 1,8$

ккал/моль) и $R^1-R_{11}^2-B_{12}^3-B^4-B_{3221}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10}$ шейпа *ffeeeffe* ($U_{\text{общ}} 4,4$ ккал/моль) отличаются от формы глобальной структуры лишь состоянием одного остатка. У первой конформации остаток Pro⁴, а у второй – Arg⁵ имеют форму не B, а R, т. е. изменяют соответствующие углы вращения приблизительно на 180° (рис. 5 б, в; табл. 8). В этих конформациях ($U_{\text{общ}} 1,8$ и 4,4 ккал/моль) значительно уменьшается энергия стабилизирующих взаимодействий между центральным (Pro⁴-Arg⁵) и концевым (Pro⁹-Pro¹⁰) фрагментами (–8,0 и –7,6 ккал/моль; табл. 7) по

Двугранные углы (град) декапептида в конформациях

 $R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-B^4-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-D_{33}^8-B^9-B^{10}$ ($U_{\text{общ}} 0$ ккал/моль),

 $R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-R^1-B_{3232}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10}$ ($U_{\text{общ}} 1,8$ ккал/моль),

 $R^1-R_{11}^2-B_{12}^3-B^1-B_{3222}^5-R^6-R_{311}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10}$ ($U_{\text{общ}} 4,4$ ккал/моль)

Остаток	Основная цепь		Боковая цепь			
	φ	ψ	χ^1	χ^2	χ^3	χ^4
Glu ¹		-54,0				
		-56,0				
		-54,8				
Asn ²	-134,9	154,3	59,3	90,4		
	-116,3	28,0	59,2	90,9		
	-83,9	-40,8	66,6	128,7		
Trp ³	-140,9	149,9	-59,0	-97,2		
	-132,5	151,5	-60,5	-74,2		
	-121,6	132,7	59,2	-77,7		
Pro ⁴	-60,0	120,3				
	-60,0	-34,1				
	-60,0	118,5				
Arg ⁵	-112,0	123,7	-62,2	177,3	-61,6	-78,4
	-124,0	97,4	-66,9	180,0	-64,0	-78,2
	-105,2	125,9	-68,2	166,3	168,4	-76,4
Pro ⁶	-60,0	-35,1				
	-60,0	-27,3				
	-60,0	-29,8				
Gln ⁷	-91,9	-67,5	-74,4	65,3	41,6	
	-73,7	-52,6	-74,0	62,9	40,2	
	-77,8	-50,8	-69,0	64,0	39,9	
He ⁸	-124,3	87,1	-56,1	-61,9		
	-118,3	90,0	-55,3	-59,9		
	-118,1	82,7	-55,0	-60,0		
Pro ⁹	-60,0	135,1				
	-60,0	120,3				
	-60,0	122,2				
Pro ¹⁰	-60,0	133,3				
	-60,0	132,4				
	-60,0	131,8				

Примечание. Значения углов в верхней, средней и нижней строчках каждой клетки отвечают соответственно конформациям с $U_{\text{общ}} 0$; 1,8; 4,4 ккал/моль.

сравнению с глобальной конформацией (-14,6 ккал/моль). Заметное ослабление дальних контактов, в частности между положительно заряженной гуанидиновой группой -Arg⁵- и отрицательно заряженным карбоксилатом -Pro¹⁰-, частично компенсируется образованием более эффективных взаимодействий на локальных участках цепи, главным образом <Glu¹-Asn²-Trp³-Pro⁴-Arg⁵-NHС^α. На этом фрагменте усиливаются взаимодействия между <Glu¹- и -Trp³-, Arg⁵-, между -Asn²- и -Trp³- и между -Trp³- и -Arg⁵- (табл. 7). Следовательно, в конформациях с $U_{\text{общ}} 1,8$ и 4,4 ккал/моль по сравнению с глобальной конформацией реализуется более плотная упаковка остатков в пределах отдельных частей молекулы и менее плотная укладка этих частей в единую структуру. Обсуждаемые три структуры БПП₁₀ могут легко конвертировать друг в друга путем поворота вокруг связей C₂^α-C' (Ψ₂) и C₄^α-C' (Ψ₄). Смещение конформационного равновесия в сторону конформаций с $U_{\text{общ}} 1,8$ и 4,4 ккал/моль, связанное с ослаб-

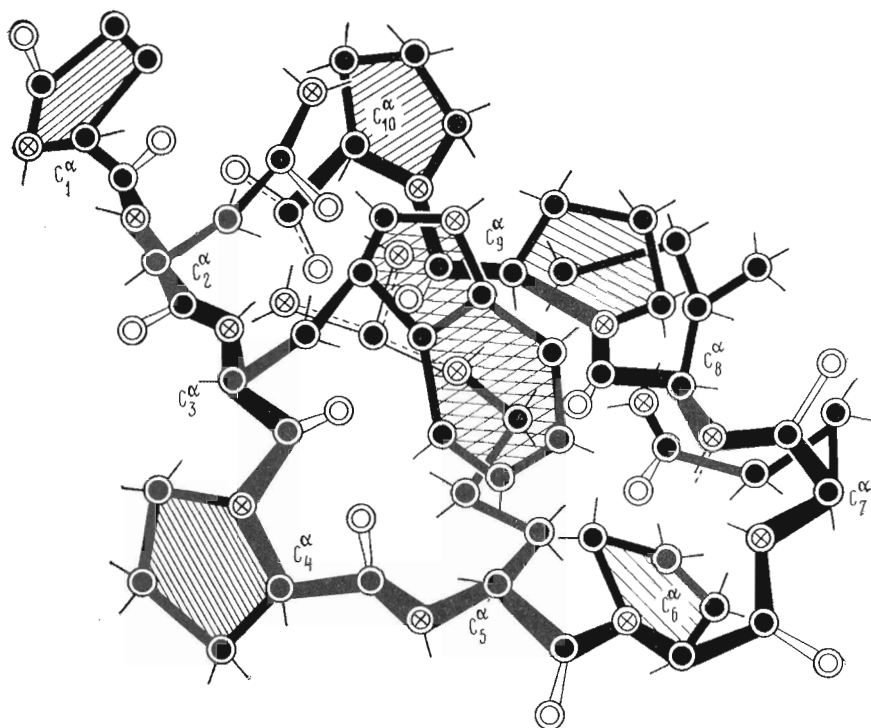


Рис. 4. Пространственная модель глобальной конформации брадикинин-потенцирующего декапептида $R^1-B_{11}^2-B_{32}^3-B^4-B_{3232}^5-R^6-R_{331}^7-B_{33}^8-B^9-B^{10}$

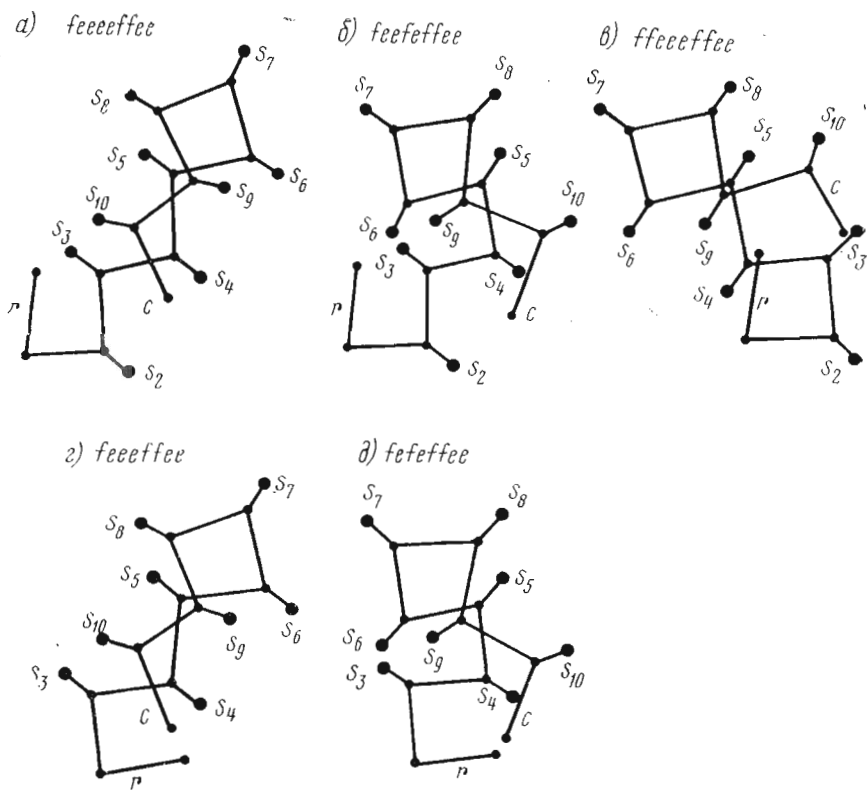


Рис. 5. Шейпы основной цепи декапептида (а-е) и пептида (з, д)

Сопоставление наиболее предпочтительных конформаций брадикининпотенцирующих декапептида и нонапептида

Шейп	<Glu ¹	Asn ²	Trp ³	Pro ⁴	Arg ⁵	Pro ⁶	Glu ⁷	Ile ⁸	Pro ⁹	Pro ¹⁰	U _{общ}
<i>feeeeffee</i>	R ¹ -	B ² ₁₁	B ³ ₃₂ -	B ⁴ -	B ⁵ ₃₂₃₂ -	R ⁶ -	R ⁷ ₃₁₁ -	B ⁸ ₃₃ -	B ⁹ -	B ¹⁰	0
<i>j-eeeffee</i>	R ¹ -	—	B ³ ₁₂ -	B ⁴ -	B ⁵ ₃₂₃₂ -	R ⁶ -	R ⁷ ₃₁₁ -	B ⁸ ₃₃ -	B ⁹ -	B ¹⁰	0
<i>feeffee</i>	R ¹ -	B ² ₁₁	B ³ ₃₂ -	R ⁴ -	B ⁵ ₃₂₃₂ -	R ⁶ -	R ⁷ ₃₁₁ -	B ⁸ ₃₃ -	B ⁹ -	B ¹⁰	1,8
<i>-ceffee</i>	R ¹ -	—	B ³ ₃₁ -	R ⁴ -	B ⁵ ₁₃₂₂ -	R ⁶ -	R ⁷ ₃₁₁ -	B ⁸ ₃₃ -	B ⁹ -	B ¹⁰	8,1

лением ионной пары, может иметь место при изменении полярности среды или специфических взаимодействиях декапептида с рецептором.

Подвижность пироглутаминовой кислоты в энергетическом поле всей молекулы была исследована на основе конформационных карт ($U_{\text{общ}} - \Psi_1$), построенных для ряда низкоэнергетических состояний. Анализ полученных данных показал, что минимальная энергия всех конформаций достигалась при *R*-состоянии остатка <Glu¹, а при *B* $U_{\text{общ}}$ ухудшалась на 2–3 ккал/моль; запрещенными по углу Ψ_1 оказались значения от -130 до -90° из-за наталкивания кольца <Glu¹- на участок основной цепи b_2 (как и в случае свободной пироглутаминовой кислоты [6]).

Сравним результаты теоретического конформационного анализа декапептида БПП₁₀ с полученными ранее данными для нонапептида БПП₉ [1, 2]. Как уже отмечалось, молекулы имеют идентичные последовательности, за исключением N-концевого участка, где у БПП₉ отсутствует остаток Asn². Оба пептида обладают близкой потенцирующей способностью [3].

Независимое рассмотрение пространственного строения БПП₉ и БПП₁₀ приводит к заключению, что самые предпочтительные структуры молекул имеют сходные трехмерные структуры. На рис. 5г, д изображены шейки глобальной и следующей за ней по энергии конформаций нонапептида. Сопоставление соответствующих вариантов БПП₁₀ и БПП₉ (рис. 5а и г, б и д) свидетельствует о совпадении шейпов на октапептидных участках, т. е. об одинаковом взаимном расположении остатков (нумерация остатков БПП₉ соответствует БПП₁₀). Из табл. 9, где представлены более детальные сведения о геометрии родственных пар конформаций, видно не только совпадение шейпов, но и полное совпадение как у глобальных, так и у следующих за ними на энергетической шкале структур БПП₁₀ и БПП₉ форм основных цепей. Более того, в большинстве случаев наблюдается близость ориентаций боковых цепей. У первой пары различие касается лишь конформационного состояния боковой цепи остатка Trp³, а у второй — состояния боковой цепи -Arg⁵- и значения угла χ^2 у -Trp³-.

Положение боковой цепи триптофана $\chi^1 \sim 60^\circ$ и $\chi^2 \sim -90^\circ$ у глобальной конформации нонапептида является наилучшим в отношении взаимодействий с боковой цепью аргинина ($U_{s_3-s_5} - 6,7$ ккал/моль; табл. 2 в [2]). Однако у декапептида из-за удлинения олигопептидной цепи с N-конца изменяется состояние остатка Trp³ ($\chi^1 \sim -60^\circ$ и $\chi^2 \sim -90^\circ$), что позволяет ему сохранить большую часть благоприятных контактов, существующих в БПП₉. У второй пары конформация БПП₁₀ с $U_{\text{общ}}$ 1,8 ккал/моль имеет более эффективные взаимодействия остатка Trp³ с <Glu¹- и -Asn²-, чем БПП₉. Молекулы нона- и декапептида при *B*³-*R*⁴-*B*⁵-форме основной цепи участка Trp³-Pro⁴-Arg⁵ лишены хорошего контакта между остатками Trp³

и Arg⁵ при всех возможных ориентациях их боковых цепей. Вследствие отмеченной специфики взаимодействий остатков на N-концевых участках молекул имеет место большое различие в величинах $U_{\text{общ}}$ у двух ближайших на энергетической шкале конформаций БПП₉ (8,1 ккал/моль) и малое различие у БПП₁₀ (1,8 ккал/моль).

У сопоставляемых конформаций в обеих парах весьма близки численные значения углов φ , ψ основной цепи. Сравнение данных, приведенных в табл. 3 работы [2], и табл. 8 показывает, что различие в углах не превышает 16°, а в среднем составляет ~10°.

Таким образом, теоретический конформационный анализ свидетельствует о значительной близости трехмерных структур и конформационных возможностей брадикининпотенцирующих пептидов БПП₉ и БПП₁₀. Поэтому есть основания полагать, что полученные нами данные о пространственной организации этих молекул отвечают их нативным состояниям.

Сопоставление результатов расчета БПП₉ и БПП₁₀ позволяет оценить межостаточные взаимодействия и взаимообусловленность конформационных состояний смежных остатков, что представляет интерес для понимания принципов формирования олигопептидной структуры. Проведенный анализ показал, что получаемая оптимальная конформация исследуемой молекулы не зависит от выбора схемы расчета. Следовательно, рассмотрение различных средних взаимодействий (в пределах разных фрагментов), определяющих отбор той или иной низкоэнергетической конформации аминокислотного остатка в олигопептидной цепи, не приводит к иной пространственной организации молекулы. Это свидетельствует о согласованности внутри- и межостаточных взаимодействий в олигопептидной молекуле.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова С. Ф., Севастьянова Н. Н., Липкинд Г. М., Попов Е. М. (1977) Биоорганическая химия, 3, 335–347.
2. Севастьянова Н. Н., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Попов Е. М. (1977) Биоорганическая химия, 3, 473–484.
3. Freer R. J., Stewart J. M. (1971) Ciencia e Cultura, 23, 539–542.
4. Севастьянова Н. Н., Попов Е. М. (1978) Биоорганическая химия, 4, 997–1016.
5. IUPAC-IUB Commission Biochem. Nomenclature (1971) Biochim. et biophys. acta, 229, 1–17.
6. Belle J., Montagut M., Bellocq A. M. (1972) Compt. rend. Acad. Sci., Ser. C, 275, 472–476.
7. Lipkind G. M., Arkhipova S. F., Popov E. M. (1973) Int. J. Pept. Prot. Res., 5, 381–397.
8. Schimmel P. R., Flory P. J. (1968) J. Mol. Biol., 34, 105–120.
9. Damiani A., Santis P. E., Pizzi A. (1970) Nature, 226, 542–543.
10. Жоров Б. С., Попов Е. М., Говырин В. А. (1975) Молекулярная биология, 9, 710–715.
11. Попов Е. М. (1975) Молекулярная биология, 9, 578–593.

Поступила в редакцию
6.IX.1979

THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF BRADYKININ-POTENTIATING PEPTIDES.

[V. <Glu-Asn-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro
SEVASTYANOVA N. N., POPOV E. M.

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

The spatial structure of the bradykinin-potentiating peptide <Glu-Asn-Trp-Pro-Arg-Pro-Gln-Ile-Pro-Pro (BPP₁₀) has been determined by conformational analysis of overlapping fragments, assuming *trans*-configuration of the peptide bonds. The most stable structure in aqueous solution is that stabilized by the interaction of the Trp³, Arg⁵, and Pro⁹ residues. The Arg⁵ side chain is in proximity to the N- and C-termini of the peptide chain, the guanidine group forming an ion pair with the Pro¹⁰ carboxyl. The Gln⁷ and Ile⁸ residues, with their side chains projecting into solution, are only weakly interacting. The optimal conformations of this molecule are compared with that of the bradykinin-potentiating nonapeptide.