

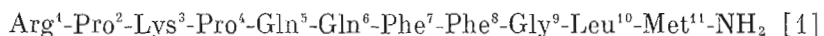


УДК 547.962+541.6

КОНФОРМАЦИОННО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОТНОШЕНИЯ
ВЕЩЕСТВА Р*Никифорович Г. В., Балодис Ю. Ю., Чиненс Г. И.**Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига*

Средствами полуэмпирического конформационного анализа исследована пространственная структура биологически активного ундекапептида – вещества Р. Найдены и описаны 13 типов стабильных конформеров пептидного остова молекулы. С помощью сопоставления с данными биологического тестирования некоторых конформационно-ограниченных аналогов вещества Р показано, какие конформации С-концевого гексапептида молекулы могут реализоваться при связывании со специфическими рецепторами.

Пространственная структура вещества Р – олигопептидного биорегулятора из группы тахикининов с последовательностью



весьма слабо исследована методами физико-химического анализа; немногие данные по КД-, ИК- и ЯМР-спектроскопии и кинетике изотопного обмена по существу способны к настоящему времени лишь подтвердить предположение о наличии в растворе нескольких конформеров молекулы с примерно равной стабильностью [2–4]. Между тем для интерпретации данных по исследованию биологической активности синтетических фрагментов и аналогов вещества Р (в особенности конформационно-ограниченных) весьма важно знание пространственной структуры самого вещества Р.

В связи с изложенным особенно возрастает роль расчетных методов тотального полуэмпирического конформационного анализа, позволивших в последние годы выявить наборы низкоэнергетических структур целого ряда олигопептидных молекул (см., например, обзор [5]). В настоящей работе указанные методы использованы для описания набора стабильных конформаций молекулы вещества Р и исследования на этой основе некоторых вопросов конформационно-функциональных отношений данного биорегулятора.

Расчет конформационной энергии для структур молекулы вещества Р проводился в «вакуумном» приближении при условии «жесткой» валентной геометрии и с использованием системы потенциальных функций, описанной в работе [6]. Основой поиска стабильных структур молекулы был метод последовательного удлинения пептидной цепи (см., например, [7]), начиная с С-конца. В качестве возможных конформаций молекулы («стартовых точек» для процесса минимизации конформационной энергии U) рассматривались все сочетания локальных энергетических минимумов монопептидов, входящих в состав молекулы. Минимумы обозначены как

X_i , где X (конформации остова) выбирались в районах минимумов B ($\varphi \sim -140^\circ$, $\psi \sim -140^\circ$), R ($\varphi \sim -60^\circ$, $\psi \sim -60^\circ$) и L ($\varphi \sim 60^\circ$, $\psi \sim 60^\circ$) для остатков в положениях 5, 6, 7, 8, 10 и 11, B и R — для остатков Pro^2 и Pro^4 , B — для N-концевого предпролинового остатка Arg^1 , B и L — для предпролинового остатка Lys^3 и B, R, L и H ($\varphi \sim 80^\circ$, $\psi \sim -80^\circ$) — для остатка Gly^9 . Значения индекса i 1, 2, 3 соответствуют ротамерам угла $\chi_1 \sim 60, 180$ и -60° ; для угла χ_2 выбирался ротамер $\sim 180^\circ$ (остатки в положениях 1, 3, 5, 6 и 11) или $\sim 90^\circ$ (положения 7, 8 и 10), для угла $\chi_3 \sim 180^\circ$ (положения 1, 3 и 11) или $\sim 90^\circ$ (положения 5 и 6), а для $\chi_4 \sim 90^\circ$ (положение 1) или 180° (положение 3). Отсчет всех углов внутреннего вращения соответствует принятому в работе [8].

Подобный выбор стартовых точек, разумеется, не исчерпывает всех возможных конформаций молекулы, так как многие ротамеры по углам $\chi_2 - \chi_4$ боковых цепей оказываются не включенными в рассмотрение. Следует учитывать, однако, что реальные возможности полуэмпирического конформационного анализа олигопептидов ограничены целым рядом факторов: погрешностями оценки внутримолекулярной энергии с помощью атом-атомных потенциалов, отсутствием расчета энтропийного вклада в свободную энергию, «вакуумным» приближением и пр. Это означает, в частности, что при использовании полуэмпирического конформационного анализа можно надеяться лишь на отыскание набора низкоэнергетических (удовлетворяющих некоему критерию $\Delta U = U - U_{\text{мин}}$) структур пептидного остова молекулы, различающихся между собой пространственными очертаниями, но не на установление их четкой иерархии внутри этого набора (см. также [9]). Параметрами, от которых главным образом зависит пространственная форма основной цепи пептидной молекулы являются, очевидно, значения углов внутреннего вращения φ , ψ и χ_1 . Изменения же в удаленных от остова углах $\chi_2 - \chi_4$ могут повлиять на входжение данной конформации в отыскиваемый набор низкоэнергетических структур лишь в том случае, если они будут сопровождаться изменениями в конформационной энергии, сравнимыми с ΔU . Между тем, как отмечается ниже, в случае молекулы вещества Р, для которой характерно отсутствие разноименно заряженных ионогенных функциональных групп (о роли взаимодействий с участием таких групп см. подробнее работу [7]), даже изменения в значениях углов χ_i не приводили к изменениям конформационной энергии, равным или превышающим избранные на различных этапах расчета критерии ΔU (см. табл. 1).

Общая схема расчета описана в табл. 1. На всех этапах расчета основным методическим приемом было суммирование конформационных энергий U структур перекрывающихся в последовательности фрагментов (рассматривались, как правило, метиламиды N-ацетильных форм) и вычитание энергии U соответствующих структур перекрывающейся части последовательности (дипептида) с получением тем самым оценки энергии ближних взаимодействий E более крупного фрагмента. Затем следовал отбор структур по критерию $E = E - E_{\text{мин}}$ и расчет конформационных энергий U структур рассматриваемого фрагмента с заключительным отбором конформаций по критерию $\Delta U = U - U_{\text{мин}}$ (подобный алгоритм подробно описан ранее [5]). Однако каждый этап расчета характеризовался своими особенностями: так, на этапе 5 табл. 1 (фрагмент 7—10) вначале были рассчитаны энергии U лишь для конформаций, различающихся типом структуры пептидного остова с оптимальным, по данным оценки E , расположением боковых цепей, и найден предварительный минимум энергии U_0 . Затем по величине расстояния $d = r_{C_7^{\alpha} - C_{10}^{\alpha}}$ оценивалась возможность эффективного взаимодействия остатков Phe^7 и Leu^{10} , которое не было учтено на этапе 4. Если оказывалось, что для какого-нибудь типа структуры пептидного остова $d > 8 \text{ \AA}$ и в то же время $U - U_0 > 11$ ккал/моль, то другие варианты расположения боковых цепей не рассматривались. В противном

Схема поиска стабильных структур молекулы вещества Р

Номер этапа	Аминокислотная последовательность *											Критерий отбора $\Delta E(\Delta U)$, ккал/моль	Количество конформаций	
	Arg	Pro	Lys	Pro	Gln	Gln	Phe	Phc	Gly	Leu	Met		для которых рассчитано U	нейтрального остова, отобранных для рассмотрения
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
1												—	256	—
2												—	224	—
3												—	32	—
4												≤ 12	—	71
5												≤ 11	477	56
6												—	448	—
7												—	196	—
8												—	64	—
9												—	28	—
10												≤ 12	—	184
11												≤ 12	297	156
12												—	392	—
13												—	56	—
14												≤ 12	—	291
15												—	490	—
16												—	49	—
17												≤ 12	—	424
18												—	60	—
19												—	10	—
20												≤ 9	—	209
21												≤ 8	107**	13

* Сплошные линии означают, что для структур данного фрагмента проводился расчет конформационной энергии U , штриховые — оценка энергии ближних взаимодействий E .

** Для остатка $\text{Met}^{11}\text{-NH}_2$ из двух вариантов структур остова с $\psi_{11} < 0^\circ$ (B и R) выбрался обладающий меньшей энергией; значение угла ψ_{11} оптимизировалось затем так же, как и в случае углов χ_1 .

случае для них также рассчитывали энергию U . Аналогичную процедуру применяли на этапе 11 (фрагмент 6–11) для оценки возможности взаимодействия дипептидов $\text{Gln}^6\text{-Phe}^7$ и $\text{Leu}^{10}\text{-Met}^{11}\text{-NH}_2$; при этом ранее, на этапе 10, из рассмотрения была исключена конформация остова типа R остатка $\text{Met}^{11}\text{-NH}_2$, отличающаяся от конформации B лишь ориентацией C -концевого карбоксамида (эту конформацию, однако, учитывали в ходе расчета конформационной энергии U на последнем этапе, табл. 1). На этапах 11 и 14 для каждого отобранного типа конформации пептидного остова сохранялось не более 40 энергетически наиболее выгодных вариантов расположения боковых цепей, а на этапе 17 — не более 30. На последнем этапе расчета для каждой из отобранных конформаций полной молекулы, различающихся типом структуры пептидного остова, устанавливалось оптимальное расположение боковых цепей по алгоритму, описанному в [10].

Следует отметить, что ориентация боковых цепей оказывала, вообще говоря, слабое влияние на процедуру отбора стабильных структур пептидного остова. Так, на этапе 5 (табл. 1) из 56 отобранных конформаций пептидного остова фрагмента 7–10 у 43 сохранились ротамеры боковых цепей по углам χ_1 , которые были оптимальными по итогам оценки энергии E . При этом максимальный выигрыш энергии U , который был достигнут за счет изменения расположения боковых цепей в остальных 13 структурах остова, составил 3,2 ккал/моль при критерии отбора $\Delta U \leq 11$ ккал/моль. На этапе 11 аналогичный эффект был отмечен в 132 структурах остова фрагмента 6–11 из 156 отобранных; максимальный выигрыш в осталь-

Наиболее стабильные структуры пептидного остова

Остаток	Угол, град	Конформаций *					
		$B_2RB_2RR_2B_2B_1L_3LB_2R_3$	$B_2RB_2RR_2R_3Q_1B_1HR_3B_3$	$B_2BL_2RR_2L_2B_2B_1HR_2B_3$	$B_1RFB_2R_2L_2B_2B_3HR_2R_3$	$B_2RB_2RR_2B_2B_3HB_2R_2$	$B_2RB_2RR_2B_2B_3Q_1B_1HR_2L_3$
Arg ¹	φ	0	0	-1	-1	0	0
	ψ	113	126	128	129	127	127
	χ_1	-158	-158	-160	-128	-81	-158
	χ_2	180	177	-174	-176	176	176
	χ_3	177	177	-178	178	170	-179
Pro ²	ψ	-47	-46	127	-39	-56	-48
	χ_4	141	100	96	103	97	97
Lys ³	φ	-138	-135	40	-135	-162	-148
	ψ	126	104	87	117	127	127
	χ_1	-156	-161	-140	-90	-159	-150
	χ_2	-178	-177	-179	-171	-176	180
	χ_3	180	179	176	174	179	174
Pro ⁴	ψ	-178	-179	-172	176	-177	-178
	χ_4	-28	-37	-31	-40	-27	-41
Gln ⁵	φ	-74	-55	-120	-125	-82	-115
	ψ	-58	123	152	146	-49	110
	χ_1	-164	-72	-80	-160	-161	-164
	χ_2	175	152	-173	-167	177	-173
Gln ⁶	χ_3	70	86	88	89	76	85
	φ	-151	-137	46	46	-137	-136
	ψ	145	-52	66	88	132	156
Phe ⁷	χ_1	-160	-64	-160	-76	-80	-92
	χ_2	-179	172	174	172	174	176
	χ_3	79	101	85	84	86	87
	φ	-141	-126	-137	-124	-112	-131
Phe ⁸	ψ	133	40	158	125	139	14
	χ_1	66	44	78	166	-59	-45
	χ_2	98	85	96	82	94	96
	φ	47	-147	-122	-140	-132	-151
	ψ	43	155	119	111	121	146
Gly ⁹	χ_1	-59	68	-40	-41	-40	55
	χ_2	95	96	95	97	96	93
	φ	54	88	77	72	79	66
Leu ¹⁰	ψ	46	-118	-77	-74	-63	-82
	φ	-151	-95	-133	-122	-113	-79
	ψ	152	-26	-48	-47	143	-29
	χ_1	-145	-94	-161	-164	-161	-82
Met ¹¹	χ_2	98	90	89	91	93	90
	φ	-126	-111	-111	-141	-121	48
	ψ	-43	122	140	-47	-40	-166
	χ_1	-78	-95	-61	-77	-160	-75
	χ_2	-177	177	178	-174	-178	176
ΔU , ккал/моль	χ_3	174	179	-176	180	180	-179
		0,0	1,6	1,6	2,0	2,3	4,3

* Q — конформация остова, промежуточная между B и R (угол $\psi \sim 0^\circ$).

молекулы вещества Р ($\Delta U \leq 8$ ккал/моль)

Конформации *						
$B_2R_2B_3R_2B_3L_3L_4B_2B_3$	$B_2R_2B_3R_2B_3L_4H_2B_3$	$B_2R_2B_3R_2R_3Q_1B_1BB_3B_2$	$B_2R_2B_3R_2B_3Q_1B_1BR_3L_3$	$B_2R_2B_3R_2B_3Q_2B_1BB_3B_3$	$B_2R_2B_3R_2L_2B_1B_3LR_3B_3$	$B_2R_2B_3R_2B_3R_3H_2B_2R_3$
-1	-1	-1	-1	-1	0	0
125	124	123	134	119	124	95
-157	-156	-158	-143	-156	-159	-158
175	180	179	171	177	178	179
172	176	178	172	173	178	-178
99	107	104	93	100	102	98
-47	-42	-46	-41	-49	-48	-55
-145	-157	-135	-126	-136	-143	-164
128	130	105	123	128	113	134
-157	-150	-162	-61	-157	-97	-159
177	179	-178	174	177	-175	-175
180	178	-179	179	175	179	174
179	-176	180	180	-177	-174	-179
-42	-46	-40	-40	-39	-54	-19
-116	-128	-52	-118	-112	-141	-99
99	115	125	116	108	157	-46
-162	-159	-76	-79	-161	-80	-167
-177	-179	174	-177	-173	-177	180
84	87	90	87	85	89	69
-106	-122	-131	-144	-140	51	-123
119	131	-56	147	137	103	128
-84	-89	-65	-85	-79	-159	-74
168	170	180	-178	179	-175	150
62	86	109	72	86	86	81
-147	-138	-138	-117	-118	-128	-118
148	145	19	8	15	143	-54
54	26	52	58	-56	-3	-62
93	88	90	86	93	93	93
46	47	-147	-136	-137	-127	-121
34	47	151	144	148	105	158
-68	-48	52	56	41	-58	-58
93	102	89	94	86	96	98
62	99	-97	-98	-88	64	79
70	-60	64	68	58	34	-65
-133	-152	-139	-122	-138	-120	-123
121	-49	136	-42	119	-50	162
-102	-162	-78	-97	-78	-98	-80
91	90	98	86	98	94	93
-125	-135	-134	-112	-139	-132	-140
174	147	140	139	138	140	-54
-78	-87	-123	-61	-72	-62	-77
-178	175	180	176	-174	179	-178
-177	175	169	-178	-170	-171	-173
4,3	5,3	5,5	5,6	5,7	6,8	7,5

ных 24 достигал 4,1 ккал/моль (критерий отбора $\Delta U \leq 12$ ккал/моль). Наконец, на последнем этапе расчета, при оптимизации значений углов χ_1 всех боковых цепей молекулы, в одной из 107 рассмотренных структур пептидной цепи за счет этой процедуры было достигнуто понижение энергии U , равное 10,5 ккал/моль, однако среди 13 отобранных конформаций молекулы такое понижение составляло 0,2–5,7 ккал/моль.

Таким образом, в результате расчета удалось выделить набор из 13 типов структур пептидного остова молекулы вещества Р, которые при оптимальном расположении боковых цепей по ротамерам углов χ_1 удовлетворяют критерию $\Delta U \leq 8$ ккал/моль (табл. 2). Можно отметить, что различающимся элементом структур, представленных в табл. 2, является конформация остова фрагмента 5–11. Фрагмент же 1–4 характеризуется одним и тем же типом конформации остова: единственное отличие имеется в структуре 3 (табл. 2), которая легко сводится к структуре 4 поворотом на 180° плоскости пептидной группы между остатками Pro^2 и Lys^3 , что, очевидно, почти не сказывается на пространственных очертаниях молекулы.

Результаты биологического тестирования аналогов и фрагментов молекулы вещества Р, проводимые по различным методикам и с использованием различных тест-систем, в целом хорошо согласуются друг с другом. Например, многие эксперименты показали, что фрагменты 4–11 и 6–11 не уступают полной молекуле вещества Р, а иногда и превосходят ее по эффективности миотропного и спазмогенного действия на ileum морской свинки [11–17]. С другой стороны, эти же фрагменты проявляют повышенное сродство к рецепторам синаптических мембран мозга кролика [16] и крысы [18]. Изменение эффективности связывания с рецепторами является также, как следует из результатов работы [19], основной причиной изменения уровня биологической реакции при тестировании серии из 11 аналогов вещества Р, в каждом из которых один из аминокислотных остатков замещен на аланин: параметр, характеризующий сродство к рецепторам в терминах оккупационной теории Кларка — Ариенса (pD_2) существенно снижается при замене остатка Phe^7 на аланин или замене С-концевого карбоксиамида на карбоксил и менее существенно — при заменах на аланин остатков Met^{11} , Phe^8 и Leu^{10} (тестирование на брыжеечной вене кролика — органе, специфическом для вещества Р [20]), что проявляется также, в частности, в уровне сократительной реакции *vas deferens* у крыс (см. табл. 3). Характерно также, что ни один из аналогов с существенно сниженным сродством не проявил свойств антагониста вещества Р.

Снижение сродства к рецепторам у аналогов вещества Р, выявленное в работе [19], может быть обусловлено как изменением природы боковых цепей, непосредственно участвующих во взаимодействии с рецептором, так и изменением конформационных возможностей молекулы. Первое, по-видимому, характерно для аналога с заменой аминокислоты в положении 7 на аланин [19], которая не нарушает локальных стерических условий пептидного остова остатка. В то же время резкое падение активности у аналога [$D\text{-Phe}^7$]вещество Р [21] (табл. 3) может быть связано с «запрещением» для D -аминокислотного остатка конформации остова типа B или со значительным проигрышем в конформационной энергии при переходе в конформацию типа R (см. также [10]). С другой стороны, появление в молекуле непоенного С-концевого карбоксила, заряженного разноименно по отношению к α -аминогруппе, гуанидиновой группе остатка Arg^4 и ϵ -аминогруппе Lys^3 , может повлечь за собой (в условиях менее полярной, чем водное окружение, биофазы рецептора) сдвиг равновесия в сторону образования квазициклических структур, характерных, например, для молекул брадикинина [9] или тафцина [22].

Исключительно интересным представляется факт сохранения активности и сродства к рецепторам у аналогов [Ala^8]вещество Р [19] и

**Результаты тестирования биологической активности
некоторых аналогов вещества Р (SP)**

Соединение	Оценка биологической активности			Литература
	недифференцированная (% к SP)	дифференцированная		
		α , внутренняя активность	$pD_2 - pD_2^{SP}$	
SP-COOH	1,0	—	-2,20	[17] *
[Ala ⁷]SP	1,0	1,0	-2,35	
[Ala ⁸]SP	32,6	1,0	-0,63	
[Ala ⁹]SP	92,0	1,0	0,00	
[Ala ¹⁰]SP	15,5	—	-0,55	
[Ala ¹¹]SP	0,8	—	-1,00	
[D-Phe ⁷]SP	2	—	—	[20] **
[D-Leu ⁹]SP	0,5	—	—	
SP(4-11)	—	—	1,11	[10] ***
[D-Ala ⁹]SP	—	—	-1,19	
SP(4-11)	—	—	0,0	[11] **
SP(6-11)	—	—	-0,3	

* Недифференцированная оценка — уровень сокращения *vas deferens* (семявыводящий проток) крысы, дифференциальная — миотропный эффект на брыжеечной вене кролика.

** Миотропный эффект на ileum (подвздошная кишка) морской свинки.

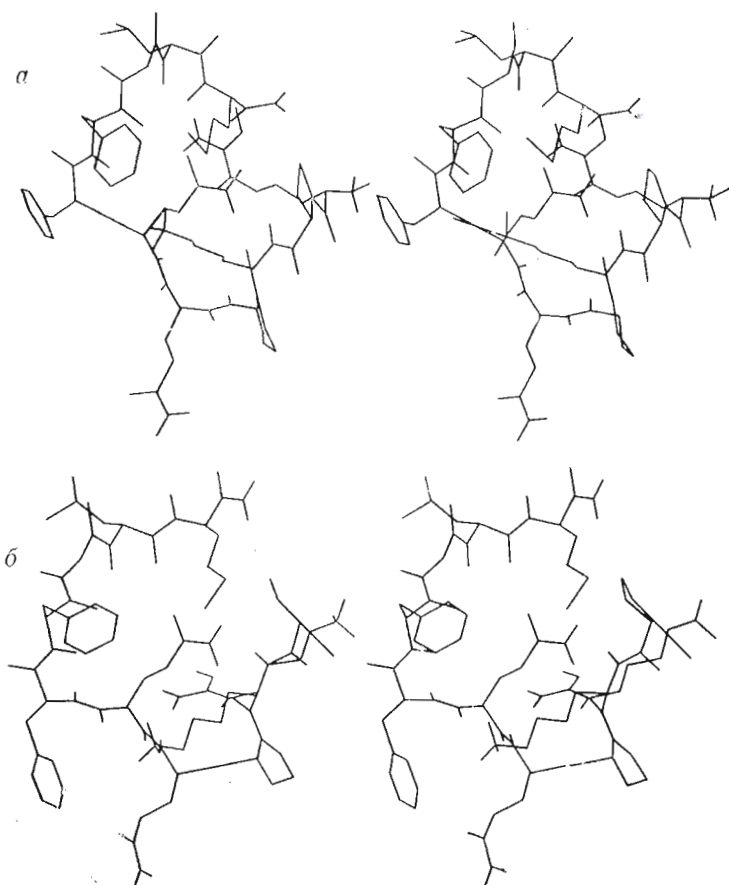
*** Спазмогенный эффект на ileum морской свинки.

Таблица 4

Наиболее стабильные структуры пептидного остова фрагмента 6-11 вещества Р

Структура	ΔU , ккал/моль	Структура	ΔU , ккал/моль	Структура	ΔU , ккал/моль
$B_2Q_1B_1HR_3B_2$	0,0	$B_3B_2B_3HR_2L_1$	5,0	$R_2B_3B_1HR_2B_3$	6,8
$B_3B_2B_3HR_2R_3$	0,7	$B_2Q_1B_1HB_2L_3$	5,0	$B_3B_2B_3RR_2B_3$	6,9
$B_2B_1L_3LB_2B_3$	1,5	$R_3B_1L_3LB_2B_3$	5,1	$B_3B_2B_3BB_3B_3$	7,0
$B_2B_3L_3HR_2R_3$	1,5	$B_2L_2B_3HR_2R_3$	5,3	$R_2Q_1B_1RB_2B_3$	7,0
$B_2Q_1B_1HB_3R_3$	1,6	$B_3B_2B_3LL_3B_3$	5,3	$R_2Q_1B_1BB_2L_3$	7,0
$B_3B_3B_3HB_3B_3$	1,8	$B_2Q_1B_1RR_2R_3$	5,5	$B_3B_2R_3HB_3B_2$	7,1
$B_3B_3B_3LR_2B_3$	2,3	$R_2B_3B_3LR_2B_3$	5,6	$R_3Q_1B_1BR_3B_3$	7,1
$B_3Q_1B_1RB_2B_3$	2,7	$B_3B_2B_3LB_3B_3$	5,9	$R_2Q_1B_1HR_3B_2$	7,1
$R_3B_1L_3HR_2B_3$	2,8	$R_2Q_1B_1HB_3B_3$	6,1	$B_2Q_1B_1HL_3B_3$	7,3
$B_2Q_1B_1HR_3L_3$	3,0	$B_3Q_1B_1BR_3B_3$	6,1	$B_2Q_1B_1LB_3B_3$	7,6
$B_2Q_1B_1BB_3B_3$	4,1	$B_3B_2B_3BL_3B_3$	6,1	$B_3B_2R_3HR_2B_3$	7,7
$B_2L_2B_3HB_2B_2$	4,8	$R_2B_2B_3RB_3B_3$	6,1	$B_3R_3L_3HB_2B_3$	7,8
$R_2B_3B_3HB_3B_3$	4,9	$B_3B_2B_3BR_3B_3$	6,4	$B_3B_1R_3RB_2B_3$	7,8

[Pro⁹]вещество Р ([23], цит. по [19]) и утраты таковых у аналогов [D-Ala⁹]вещество Р [11] и [D-Leu⁹]вещество Р [24] (табл. 3). Поскольку остаток Pro⁹ «запрещает» конформацию остова типа R у предыдущего в пептидной цепи остатка Phe⁸, для остатка в положении 8 остаются возможными лишь конформации остова типов B и L; в то же время для самого остатка Pro стericчески «разрешены» конформации остова типов B и R. С другой стороны, сохранение родства у аналога [Ala⁹]вещество Р указывает на то, что остаток Gly⁹ молекулы вещества Р при комплексообразовании с рецепторами не может принимать конформацию типа H, «запрещенную» для L-аминокислотных остатков. Этот же вывод следует из наблюдающегося падения родства аналога [D-Ala⁹]вещество Р (конформация типа H является энергетически выгодной для остова D-амино-



Стереοизображение структур молекулы вещества Р, которые могут реализоваться при связывании с рецепторами: а — структура $B_2RB_3RB_3B_3Q_1B_1BR_3B_3$, б — структура $B_2RB_2RB_2B_3Q_3B_1BB_3B_3$

кислотных остатков). Таким образом, сопоставление конформационных возможностей остова остатков Gly, Ala, D-Ala, Pro и предпролиновых остатков показывает, что данные результаты биологического тестирования объяснимы лишь при наличии в числе стабильных конформеров молекулы (табл. 2) структур с конформациями остова дипептида Phe⁸-Gly⁹ типов *BB*, *LB*, *BR* или *LR*. В то же время в наборе структур табл. 2 лишь три конформации — 9, 10 и 11 — удовлетворяют сформулированным требованиям. Иными словами, именно эти структуры могут претендовать на роль конформаций вещества Р, реализующихся при взаимодействии с рецепторами («биологически активных» конформаций).

Набор потенциальных «биологически активных» конформаций вещества Р можно еще более ограничить, обратившись к результатам дополнительного расчета гексапептида 6—11, обладающего, как отмечалось выше, биологическим эффектом, не меньшим, чем полная молекула вещества Р. В табл. 4 перечислены стабильные структуры фрагмента 6—11, найденные при использовании результатов этапа 11 (табл. 1) с учетом наличия α-аминогруппы и уточнения оптимального расположения боковых цепей. При сопоставлении данных табл. 2 и 4 видно, что из трех упомянутых структур общими для табл. 2 и 4 являются конформации *BRBRBBQBRRB* и *BRBRBBQB BBB* вещества Р (рис. 1а и б), различающиеся конформацией остова остатка Leu¹⁰.

Анализ строения структур, изображенных на рисунке, позволяет сделать определенные выводы о пространственных очертаниях фрагмента 6—11 вещества Р, существенных для специфического связывания с рецепторами. Для этой цели указанный фрагмент должен обладать изгибом пептидной цепи примерно на 90° в районе остатка Phe⁷ и менее резким изгибом в районе остатка Leu¹⁰; при этом боковые цепи остатков Gln⁶ и Met¹¹ оказываются сближенными. Весьма характерной особенностью описываемых структур является также направленность боковой цепи остатка Phe⁷ «наружу» молекулы, что полностью согласуется с изложенным выше предположением о том, что боковая цепь остатка в положении 7 непосредственно взаимодействует с рецептором.

Таким образом, можно констатировать, что использование данных тотального полуэмпирического конформационного анализа позволяет приблизиться к решению одной из актуальных задач конформационно-функциональных отношений пептидов — нахождению «биологически активных» конформаций вещества Р, даже при наличии малого (по сравнению, например, с ангиотензином, брадикинином, энкефалином и другими пептидами) объема информации об исследовании и биологическом тестировании синтетических аналогов этого пептидного биорегулятора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chang M. M., Leeman S. E. Isolation of a sialogogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterisation as substance P.— *J. Biol. Chem.*, 1970, v. 245, p. 4784—4790.
2. Mehlig B., Böhm S., Becker M., Bienert M. Circular dichroism and infrared studies of substance P and C-terminal analogs.— *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1975, v. 66, № 4, p. 1447—1453.
3. Hublau P., Bernier J. L., Henichart J. P., Tartar A., Dautrevaux M. Synthesis and conformational studies of substance P analogs.— In: Abstracts of 15 Eur. Pept. Symp. Gdańsk, 1978, p. 137.
4. Rueger M., Bienert M., Mehlig B. Circular dichroism studies of substance P and its partial sequences.— In: Abstracts of 15 Eur. Pept. Symp. Gdańsk, 1978, p. 140.
5. Никифорович Г. В., Галактионов С. Г., Чипенс Г. И. Конформационные расчеты олигопептидов: методика и результаты.— *Изв. АН ЛатвССР*, 1979, № 2, с. 94—107.
6. Nikiforovich G. V., Leonova V. I., Galaktionov S. G., Chipens G. I. Theoretical conformational analysis of oxytocin molecule.— *Int. J. Pept. Prot. Res.*, 1979, v. 13, p. 363—373.
7. Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Галактионов С. Г., Чипенс Г. И. Структурные аспекты функциональной активности пептидного гормона ангиотензина. I. Конформации молекулы ангиотензина в водном растворе.— *Биоорг. химия*, 1978, т. 4, № 3, с. 318—339.
8. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. Abbreviations and Symbols for Description of Conformation of Polypeptide Chains.— *Pure Appl. Chem.*, 1974, v. 40, № 3, p. 291—308.
9. Галактионов С. Г., Шерман С. А., Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Леонова В. И. Конформационные состояния молекулы брадикинина в растворе. Расчет стабильных конформаций.— *Биоорг. химия*, 1977, т. 3, № 9, с. 1190—1197.
10. Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Балодис Ю. Ю. Конформационно-функциональные отношения в ряду гастриноподобных олигопептидов.— *Биоорг. химия*, 1981, т. 7, № 1, с. 179—188.
11. Chipkin R. E., Stewart J. M., Sweeney V. E., Harris K., Williams R. In vitro activities of some synthetic substance P analogs.— *Arch. Int. Pharmacodyn. Therapie*, 1979, v. 240, p. 193—202.
12. Blumberg S., Teichberg V. Biological activity and enzymic degradation of substance P analogs: Implications for studies of the substance P receptor.— *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1979, v. 90, № 1, p. 347—354.
13. Niedrich H., Bienert M., Bergmann J., Kuene R., Franke R., Oehme P. Acylated pentapeptides of eledoisin and substance P, qualified objects for structure response analysis discriminating between affinity and intrinsic efficacy.— In: *Peptides-1976*, Brussels, Université des Bruxelles, 1976, p. 407—413.
14. Oehme P., Bergmann J., Bienert M., Hilse H., Piesche L., Minh Thu P., Scheer E. Biological action of substance P—its differentiation by affinity and intrinsic efficacy.— In: *Substance P* (von Euler U. S., Pernow B., eds). New York: Raven Press, 1977, p. 327—335.

15. *Yajima H., Kitagawa K., Segawa T.* Studies on peptides. XXXVIII. Structure-activity correlations in substance P.— *Chem. Pharm. Bull.*, 1973, v. 21, № 11, p. 2500—2506.
16. *Nakata Y., Kusaka Y., Segawa T., Yajima H., Kitagawa K.* Substance P: regional distribution and specific binding to synaptic membranes in rabbit central nervous system.— *Life Sci.*, 1978, v. 22, p. 259—268.
17. *Couture R., Drouin J.-N., Leukart O., Regoli D.* Biological activities of kinins and substance P octapeptides (4—11) in which phenylalanine residues have been replaced with *L*-carboranylalanine.— *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1979, v. 57, p. 1437—1442.
18. *Mayer N., Lembeck F., Saria A., Gamse R.* Substance P: characteristics of binding to synaptic vesicles of rat brain.— *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.*, 1979, v. 306, p. 45—51.
19. *Couture R., Fournier A., Magnan J., St-Pierre S., Regoli D.* Structure-activity studies on substance P.— *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1979, v. 57, p. 1427—1436.
20. *Berube A., Marceau F., Drouin J.-N., Rioux F., Regoli D.* The rabbit mesenteric vein: a specific bioassay for substance P.— *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1978, v. 56, p. 603—609.
21. *Yamaguchi I., Rackur G., Leban J. J., Björkroth U., Rosell S., Folkers K.* Synthesis and biological activity of analogs of substance P modified for conformational information by *D*-amino acids.— *Acta chem. scand.*, 1979, v. B33, p. 63—68.
22. *Никифорович Г. В.* Расчет стабильных конформаций молекулы туфтсина.— *Биоорг. химия*, 1978, т. 4 № 10, с. 1427—1429.
23. *Mroz E. A., Leeman S. E.* Substance P.— In: *Vitamines and Hormones: advances in research and application.* New York: Acc. Press, 1977, v. 35, p. 209—282.

Поступила в редакцию
24.VI.1980

После доработки
8.X.1980

CONFORMATION-FUNCTION RELATIONSHIPS FOR SUBSTANCE P

NIKIFOROVICH G. V., BALODIS Yu. Yu., CHIPENS G. I.

*Institute of Organic Synthesis, Academy of Sciences
of the Latvian SSR, Riga*

Spatial structure of biologically active undecapeptide — substance P — was investigated by means of semi-empirical conformational analysis. 13 types of stable peptide backbone structures were revealed and described. A comparison with the data of biological tests for conformationally restricted analogs of substance P gave some clues as to what conformations of the C-terminal hexapeptide may be realized upon binding to the receptor.