



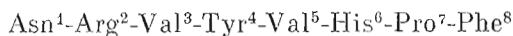
УДК 547.962

СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
ПЕПТИДНОГО ГОРМОНА АНГИОТЕНЗИНА.I. КОНФОРМАЦИИ МОЛЕКУЛЫ АНГИОТЕНЗИНА
В ВОДНОМ РАСТВОРЕ*Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Галактионов С. Г.,
Чупенс Г. И.**Институт органического синтеза Академии наук ЛатССР, Рига*

Проведен тотальный полуэмпирический конформационный анализ молекулы олигопептидного гормона ангиотензина. Описаны некоторые усовершенствования методики и схем расчета, использованные для этой цели. Осуществлен учет энергии гидратации молекулы и исследована конформационная подвижность ее боковых цепей. Выявлен и описан полный набор стабильных конформаций молекулы ангиотензина в водном растворе; все конформации, входящие в него, обладают характерной структурной особенностью — наличием связи ионного типа между гуанидиновой группой остатка Arg² и С-концевой карбоксильной группой. Проведено подробное сопоставление результатов расчета с данными физико-химических исследований структуры ангиотензина, показавшее их полное соответствие.

Детальное представление о пространственной структуре физиологически активного соединения не только необходимо для исследования его структурно-функциональных отношений, но и может оказаться весьма полезным в связи с проблемой направленного синтеза аналогов этого соединения. В случае олигопептидных гормонов достаточно детальные сведения такого рода можно получить путем полуэмпирического конформационного анализа [1—3], хорошо зарекомендовавшего себя на примерах расчета структуры брадикинина [4], тиролиберина [5], люлиберина [6], глутатиона [7] и др.

В рамках полуэмпирического конформационного анализа общая постановка задачи определения полного набора стерически состоятельных структур молекулы олигопептида заключается в последовательном ограничении круга возможных конформаций молекулы, причем критерием здесь служит внутримолекулярная конформационная энергия (в первом приближении можно ограничиться лишь потенциальной энергией). В случае молекулы ангиотензина — линейного октапептида с последовательностью



совокупность возможных конформаций может быть, очевидно, определена по результатам расчета стабильных конформаций дипептидных единиц аминокислотных остатков, входящих в его состав (табл. 1). Легко видеть, однако, что число комбинаций локальных минимумов, перечисленных в табл. 1, достигает 20 млн. и поэтому необходимы некоторые методи-

«Стартовые» конформации аминокислотных остатков, входящих в состав молекулы ангиотензина *

Остаток	Остов	Боковая цепь				Обозначение
		χ_1	χ_2	χ_3	χ_4	
Asn	<i>B, R</i>	60	90			B_1, R_1
		60	-90			B_2, R_2
		180	90			B_3, R_3
		180	-90			B_4, R_4
		-60	90			B_5, R_5
		-60	-90			B_6, R_6
Arg	<i>B, R, L</i>	60	180	180	90	B_1, R_1, L_1
		60	180	180	-90	B_2, R_2, L_2
		-160	180	180	90	B_3, R_3, L_3
		-160	180	180	-90	B_4, R_4, L_4
		-80	180	180	90	B_5, R_5, L_5
		-80	180	180	-90	B_6, R_6, L_6
Val	<i>B, R, L</i>	60				B_1, R_1, L_1
		180				B_2, R_2, L_2
		-60				B_3, R_3, L_3
Tyr	<i>B, R, L</i>	60	90	90		B_1, R_1, L_1
		180	90	90		B_2, R_2, L_2
		-60	90	90		B_3, R_3, L_3
His	<i>B, L</i>	60	90			B_1, L_1
		60	-90			B_2, L_2
		180	90			B_3, L_3
		180	-90			B_4, L_4
		-60	90			B_5, L_5
		-60	-90			B_6, L_6
Pro	<i>B, R</i>					B, R
Phe	<i>B, L</i>	60	90			B_1, L_1
		180	90			B_2, L_2
		-60	90			B_3, L_3

* Обозначения конформаций остова соответствуют принятым обозначениям локальных минимумов потенциальных карт дипептидных единиц аминокислотных остатков; значения углов внутреннего вращения боковых цепей указаны в градусах.

ческие приемы, позволяющие, с одной стороны, максимально ограничить круг конформаций, рассматриваемых на каждом из этапов расчета, а с другой — гарантировать, что ни одна из потенциально стабильных конформаций молекулы не останется неучтенной.

Методика расчета. Алгоритм, удовлетворяющий в принципе сформулированным условиям, был предложен в работе [3]; его суть состоит в расчете конформационных энергий U олигопептидных фрагментов, «перекрывающихся» в аминокислотной последовательности пептида (например, трипептидов XYZ и YZT), конформационной энергии U пересекающейся части последовательности (дипептида YZ) и последующего расчета энергии «ближних» взаимодействий E более крупного фрагмента (тетрапептида XYZT) с помощью выражения

$$E_{XYZT} = U_{XYZ} + U_{YZT} - U_{YZ}. \quad (1)$$

Необходимо учитывать, что все значения энергии U берутся для конформаций олигомеров, поостаточно соответствующих друг другу в пересекающейся части с точностью до окрестности локального минимума. Процедура отбора конформаций более крупного фрагмента заключается далее

в выделении конформации с наиминимальной энергией $E_{\text{мин}}$ и в исключении конформаций, не удовлетворяющих условию $E - E_{\text{мин}} \leq \Delta E$, где ΔE — некоторая величина, представляющая, по существу, априорную оценку энергии «дальних» взаимодействий в данном фрагменте (понятия «ближние» и «дальние» взаимодействия подробно рассматриваются в работах [8, 9]). Для конформаций, отобранных по такому критерию, производится затем расчет полной конформационной энергии U фрагмента с последующим отбором по критерию ΔU .

Описанный алгоритм в сочетании с «поостаточным наращиванием», т. е. последовательным увеличением длины пептидной цепи, использовался в настоящей работе лишь до уровня расчета энергий E С-концевого пентапептида (АТ 4—8) [10]. Дальнейший расчет структуры молекулы проводился с учетом предположения, что иерархия стабильности различных структур олигопептидного фрагмента определяется в основном конформацией пептидного остова, от которой зависят общие пространственные очертания фрагмента и, следовательно, возможность реализации взаимодействий «остов — боковая цепь» и «боковая цепь — боковая цепь», роль которых сводится к стабилизации тех или иных пространственных структур, predetermined конформацией остова. Подобный подход, как будет показано ниже, весьма существенно ограничивает число рассматриваемых структур фрагмента, сохраняя в то же время, при правильном выборе величин критериев ΔE и ΔU , все потенциально стабильные конформации остова (уточнение конформаций боковых цепей производится на последнем этапе расчета).

Описание общих методических рекомендаций, положенных в основу поиска стабильных структур молекулы ангиотензина, следует дополнить сведениями, относящимися непосредственно к технике расчета конформационной энергии U [3]: выражение для нее включало потенциалы невалентных [12] и монополю-монополюльных электростатических взаимодействий (парциальные заряды на атомах и функциональных группах в основном заимствованы из работы [1], $\epsilon = 3,5$), потенциалы водородных связей [13] и торсионные потенциалы [1]. Учет энергии гидратации молекулы на последнем этапе расчетов проводился с помощью алгоритма [14]. «Жесткая» геометрия молекулы выбиралась в соответствии с [1]; для связи His⁶-Pro⁷ принималась *транс*-конфигурация [4]. Отсчет величин углов внутреннего вращения соответствует номенклатуре, описанной в работе [15].

Результаты и обсуждение

Фрагмент АТ 4—8. Как упоминалось, исследование структуры фрагмента АТ 4—8 по алгоритму, рекомендованному в работе [3], было доведено до расчета энергий E , с предварительным расчетом энергий U перекрывающихся по аминокислотной последовательности трипептидов. При этом обнаружилось следующие особенности, общие для всех типов структур пентапептида АТ 4—8: дискриминация по критерию $\Delta E \sim 7$ ккал/моль структур, обладающих конформацией остова L остатка Phe⁸, конформацией B_2 (см. табл. 1) остатка Phe⁸, конформациями L_1, L_2, L_3, L_4 остатка His⁶ и конформацией остатка Val⁵ с углом внутреннего вращения $\chi_1 \sim 60^\circ$. Кроме того, в некоторых структурах конформация остова остатка Val⁵ (при $\chi_1 \sim -60^\circ$) характеризуется углами внутреннего вращения $\varphi \sim -100^\circ$ и $\psi \sim 20^\circ$ (в дальнейшем будем называть ее конформацией типа Q), что влечет за собой необходимость дополнительного учета конформации остатка Val⁵ типа Q_3 . Наконец, расчет энергий E фрагмента АТ 4—8 позволяет установить, что в парах структур с конформациями B_1 и B_2, B_3 и B_4 и L_3 и L_4 остатка His⁶ почти всегда более предпочтительными оказываются конформации B_2, B_3 и L_3 остатка His⁶ (для пар структур с конформациями B_5 и B_6 остатка His⁶ подобное предпочтение одной из конформаций не столь очевидно). Таким образом,

в дальнейшем можно, по-видимому, ограничиться лишь структурами с конформациями B_2 , B_3 , L_3 и B_6 (или B_5) остатка His⁶. Дополнительным основанием такому ограничению может служить практически полная симметрия имидазольного кольца относительно поворота на 180° вокруг связи C^β — Cγ: элементом асимметрии является лишь различное положение группы NH. С другой стороны, рассмотренные пары конформаций остатка His⁶ различаются как раз поворотом угла χ_2 на 180°.

Анализ энергий E фрагмента AT 4—8 в сочетании с проведенной оценкой расстояний между остатками Tyr⁴ — Phe⁸ и Val⁵ — Phe⁸ позволил выделить 26 типов структур остова ($\Delta E \sim 10$ ккал/моль), в которых наличие дальних взаимодействий маловероятно, и 9 типов структур ($\Delta E_1 \sim \sim 17$ ккал/моль), в которых такие взаимодействия возможны. Эти структуры и стали основой для дальнейшего «поостаточного наращивания» молекулы; расчет энергий U в некоторых из них показал, что соответствующие значения E и U различаются незначительно.

Фрагмент AT 3—8. Для расчета энергий E фрагмента AT 3—8 использовались данные по расчету энергий E фрагмента AT 4—8 и результаты расчета энергий U дипептида Val-Tyr и трипептида Val-Tyr-Val. Эти последние позволили провести очередное ограничение возможных структур гексапептида AT 3—8 за счет: а) конформаций дипептида Tyr⁴-Val⁵, которые, будучи включены в структуру трипептида Val³-Tyr⁴-Val⁵, повышают значение U соответствующих конформаций трипептида до 7—10 ккал/моль и в то же время увеличивают энергию E пентапептида AT 4—8 на 7—10 ккал/моль; б) конформаций, в которых остаток Phe⁸ обладает $\chi_1 \sim 180^\circ$. По результатам расчета энергий E фрагмента AT 3—8 можно выделить группу из 48 типов конформаций остова, стабильных по энергии ближних взаимодействий ($\Delta E \sim 10$ ккал/моль), и, кроме того, группу из 11 конформаций, удовлетворяющую критерию $\Delta E_1 \sim \sim 17$ ккал/моль, для которых возможна стабилизация за счет дальних взаимодействий. Эти две группы структур описаны в табл. 2, где содержатся также результаты расчета их энергий U .

Данные табл. 2 показывают прежде всего, что во второй из рассматриваемых групп структур не наблюдается стабилизации какой-либо из конформаций: наименьшее значение ΔU в этом случае превосходит 15 ккал/моль. Далее следует отметить, что иерархия стабильностей конформаций остова гексапептида AT 3—8, установленная по энергиям E , существенно изменяется: наиболее стабильными оказываются конформации остова типа $XRRBBB$ (X — конформация остова остатка Val³), причем различия в величинах E и U для этих типов структур весьма велики (более 10 ккал/моль для абсолютного минимума энергии U — конформации $B_2R_3R_2B_2BB_3$ — и более 12 ккал/моль для конформации $L_2R_3R_2B_2BB_3$). Это обусловлено поворотом пептидного остова гексапептида почти на 180° и, следовательно, появлением сильных дисперсионных взаимодействий между остатками Val³ и Tyr⁴ и С-концевой частью молекулы. В конформации R остаток Val³ «отвернут» от С-концевого трипептида, что приводит к понижению указанных взаимодействий для конформации $R_2R_3R_2B_2BB_3$.

Следующими по стабильности типами структур остова фрагмента AT 3—8 становятся конформации $XBQBBB$ и $XBRBBB$, характеризующиеся изгибом остова в районе остатка Val⁵ и, следовательно, некоторым сближением N- и С-концевых частей гексапептида. Отметим, что для всех трех упомянутых типов структур перевод остатка Pro⁷ в конформацию R вызывает удаление остатка Phe⁸ от N-концевой части гексапептида, что проявляется в сравнительной дестабилизации соответствующих конформаций.

Очевидно, что в ряде конформаций гексапептида AT 3—8, для которых вклад дальних взаимодействий существен, оптимальное расположение боковых цепей может отличаться от предполагаемого по данным расчета энергии E . В связи с этим была проведена дополнительная минимизация

Таблица 2

Энергии E и U стабильных структур пептидного остова
гексапептида АТ 3-8 при оптимальном расположении боковых цепей

Конформация						Энергия, ккал/моль	
Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	E	U
а. Конформации, стабильные по ближним взаимодействиям ($\Delta E \sim 10$ ккал/моль)							
B_2	B_2	B_2	B_2	B	B_3	-0,8	-1,6
R_2	B_2	B_2	B_2	B	B_3	1,6	0,6
L_2	B_2	B_2	B_3	B	B_3	4,9	4,0
B_2	B_3	B_2	B_3	B	L_3	5,8	10,3
R_2	B_2	B_2	B_3	B	L_3	8,7	13,0
B_2	B_2	B_2	B_2	R	L_3	7,3	13,5
B_2	B_2	B_2	B_3	R	B_3	-0,3	-1,3
B_2	B_2	B_2	B_3	R	B_3	2,4	0,7
L_2	B_2	B_2	B_3	R	B_3	5,7	4,2
B_2	B_2	B_3	L_3	B	B_3	2,4	-0,3
R_2	B_2	B_3	L_3	B	B_3	4,8	2,4
L_3	B_2	B_3	L_3	B	B_3	8,1	5,8
B_2	B_2	B_3	L_3	R	B_3	5,8	5,5
R_2	B_2	B_3	L_3	R	B_3	8,2	7,8
B_2	B_1	R_2	B_2	B	B_3	2,0	-2,6
R_2	B_1	R_2	B_2	B	B_3	3,3	-1,1
L_2	B_1	R_2	B_2	B	B_3	6,6	2,1
B_2	B_1	R_2	B_2	R	B_3	2,8	0,4
R_2	B_1	R_2	B_2	R	B_3	4,0	1,6
L_2	B_1	R_2	B_2	R	B_3	7,3	5,1
B_2	B_3	Q_3	B_2	B	B_3	1,4	-2,9
R_2	B_3	Q_3	B_2	B	B_3	4,1	-0,3
L_3	B_3	Q_3	B_2	B	B_3	6,0	6,3
B_2	B_3	Q_3	B_2	R	B_3	1,7	1,0
R_2	B_3	Q_3	B_2	R	B_3	4,4	3,6
L_2	B_3	Q_3	B_2	R	B_3	6,3	5,9
B_2	B_2	L_3	B_2	B	B_3	5,3	4,3
R_2	B_3	L_3	B_2	B	B_3	7,7	4,1
B_2	B_3	L_2	B_2	R	B_3	6,1	4,5
R_2	B_3	L_2	B_2	R	B_3	8,4	5,1
B_2	B_2	Q_3	L_3	B	B_3	6,2	4,7
R_2	B_2	Q_3	L_3	B	B_3	8,6	7,2
B_2	R_3	B_2	B_2	B	B_3	3,0	2,1
R_2	R_3	B_2	B_2	B	B_3	4,6	3,6
L_2	R_3	B_2	B_2	B	B_3	8,2	7,4
B_2	R_3	B_2	B_6	R	B_1	3,3	2,6
R_2	R_3	B_2	B_6	R	B_1	4,9	1,9
L_2	R_3	B_2	B_6	R	B_1	8,5	8,2
B_2	R_3	R_2	B_2	B	B_3	3,9	-6,7
R_2	R_3	R_2	B_3	B	B_3	5,5	-0,7
L_2	R_3	R_2	B_2	E	B_3	9,2	-3,0
B_2	R_3	R_2	B_2	R	B_3	4,7	-1,9
R_2	R_3	R_2	B_2	R	B_3	6,0	3,1
B_2	L_2	B_2	B_3	B	B_3	6,7	4,4
B_2	L_2	B_2	B_3	R	B_3	7,6	6,4
B_2	L_2	R_2	B_2	B	B_3	7,2	2,6
R_2	L_2	R_2	B_2	B	B_3	8,8	5,3
B_2	L_2	R_2	B_2	R	B_3	7,9	4,6

б. Конформации, для которых возможна стабилизация за счет
дальних взаимодействий (10 ккал/моль $< \Delta E < 17$ ккал/моль)

B_2	R_2	L_2	B_2	R	B_1	11,1	9,2
R_2	R_2	L_2	B_2	R	B_1	12,4	10,4
L_2	R_2	L_2	B_2	R	B_1	15,9	14,4
B_2	B_2	R_2	L_3	R	B_1	14,1	13,4
B_2	B_2	B_3	L_3	B	L_1	16,1	12,8
B_2	B_2	R_2	B_2	R	L_2	15,7	12,8
B_2	B_1	R_2	B_3	R	L_3	12,1	12,2
R_2	B_1	R_2	B_3	R	L_3	13,3	13,3
B_2	B_2	B_3	L_3	R	L_3	12,5	9,5
R_2	B_2	B_3	L_3	R	L_3	14,9	12,1
B_2	B_2	R_2	B_3	B	L_3	15,0	9,0

конформационной энергии U для следующих типов конформации остова АТ 3—8: $XRRBBB$, $XRRBRB$, $XBQBRB$, $XBRBBB$ и $XBRBRB$ при различных сочетаниях ротамеров боковых цепей (всего были рассмотрены 52 структуры). В большинстве случаев варьирование конформаций боковых цепей вызывало повышение конформационной энергии; найденные оптимальные ротамеры боковых цепей указаны в табл. 2.

Полученные результаты были использованы далее при поиске стабильных структур фрагмента АТ 2—8; здесь можно отметить, что гексапептид АТ 3—8 является минимальным С-концевым фрагментом молекулы ангиотензина, для которого компактные структуры значительно более стабильны, чем вытянутые. Указанное обстоятельство представляет очевидный интерес, если учесть, что этот же гексапептид является минимальным С-концевым фрагментом молекулы, обладающим специфической активностью [11].

Фрагмент АТ 2—8. Появление в составе фрагмента АТ 2—8 наряду с ионогенной С-концевой карбоксильной группой (заряжена отрицательно, $pK \sim 3,4$ [24]) гуанидиновой группы остатка Arg^2 (заряжена положительно, $pK \sim 12$ [24]) значительно увеличивает возможность резкого возрастания вклада дальних взаимодействий: при пространственном сближении этих групп может возникнуть сравнительно устойчивая связь ионного типа [16] с энергией электростатических взаимодействий порядка $-25 \div -30$ ккал/моль. Это обстоятельство существенно повышает роль ротамеров боковой цепи остатка Arg^2 в определении конформационной подвижности рассматриваемого фрагмента: ее исследование целесообразно начинать с изучения структур модельного гептапептида



(замена остатков Val^3 и Val^5 на аланины вызвала бы нежелательное увеличение гибкости пептидной цепи; ниже всюду рассматривается лишь один ротамер боковой цепи валина: $\chi_1 \sim -60^\circ$ для конформации Q остова остатка Val^5 и $\chi_1 \sim 180^\circ$ в остальных случаях).

Поскольку предварительный расчет некоторых конформаций фрагмента АТ 2—8, полученных на основании наиболее стабильных структур фрагмента АТ 3—8, показал, что они обладают упомянутой связью ионного типа, дальнейшее рассмотрение проводилось лишь для 26 конформаций пептидного остова гексапептида АТ 3—8 из табл. 2 ($\Delta U \sim 8$ ккал/моль). Для каждой из них учитывалось 6 возможных конформаций остатка Arg^2 (конформации остова B и R , ротамеры боковой цепи $\chi_1 \sim 60, 180$ и -60° ; конформация остова L отличается от конформации B главным образом поворотом N-концевой пептидной группы, что, очевидно, не может влиять на возможность образования связи ионного типа). Таким образом, на уровне модельного гептапептида рассматривалось около 150 структур.

В основу проведенного расчета структур фрагмента АТ 2—8 были положены типы конформаций остова модельного гептапептида, удовлетворяющие критерию $\Delta U \sim 10$ ккал/моль; к ним были добавлены также некоторые конформации АТ 2—8, у которых квазициклические структуры с устойчивой связью ионного типа образуются лишь на уровне полного фрагмента АТ 2—8 (например, структуры $BLBRRBBB$). Ротамеры боковых цепей остатков Tyr^4 и His^6 выбирались в соответствии с результатами, полученными на уровне гексапептида АТ 3—8; ротамер бокового радикала Phe^8 в большинстве случаев обладал значениями угла внутреннего вращения $\chi_1 \sim 60$ и -60° . В ряде случаев наряду с конформацией B остова остатка Arg^2 рассматривалась также конформация L . Наиболее стабильные конформации гептапептида АТ 2—8 ($\Delta U \sim 10$ ккал/моль) приведены в табл. 3.

Набор структур табл. 3 содержит все низкоэнергетические конформации остова гексапептида АТ 3—8 (за исключением структур $BBBBBB$ и $BBBLBB$); в то же время все структуры табл. 3 относятся к числу ква-

Таблица 3

Стабильные конформации AT 2-8

Конформация							Энергия, ккал/моль
Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	
<i>R</i> ₁	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-30,7
<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-36,0
<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-26,6
<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-30,7
<i>R</i> ₁	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-26,3
<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-28,7
<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-30,7
<i>B</i> ₅	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-30,5
<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-30,2
<i>B</i> ₆	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-28,9
<i>R</i> ₅	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-32,7
<i>B</i> ₁	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₃	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-27,3
<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₃	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-30,4
<i>B</i> ₆	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-28,7
<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₃	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-29,1
<i>L</i> ₆	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>Q</i> ₃	<i>B</i> ₁	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-27,6
<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-27,6
<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-29,5
<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-26,1
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-28,8
<i>B</i> ₆	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-30,5

Таблица 4

Конформационные энергии наиболее стабильных типов конформации пептидного остова молекулы ангиотензина без учета варьирования боковых цепей и свободной энергии гидратации

Конформация								Энергия, ккал/моль
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₁	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-34,8
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-36,8
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-40,4
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-37,7
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-36,4
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-38,4
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-32,6
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-31,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-32,0
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-32,1

зицических, допускающих образование связи ионного типа Arg² — C-концевой карбоксил. Это обстоятельство указывает на высокую степень согласованности внутримолекулярных взаимодействий в молекуле ангиотензина. Можно отметить также, что конформации *BRRBBB*, *RBRBBB* и *BLRRBBB* пептидного остова фрагмента AT 2-8 «предпочитают» ротамер боковой цепи остатка Phe⁸ с $\chi_1 \sim -60^\circ$, а конформации *BBRRBBB* и *LBRRBBB* — с $\chi_1 \sim 60^\circ$. В остальных случаях оба ротамера предпочтительны по существу в одинаковой степени.

Молекула AT 1-8: расчет конформационной энергии *U*. Поиск набора стабильных структур молекулы AT 1-8 проводился с использованием результатов табл. 3 и при учете данных по расчету дипептида Asn¹ — Arg² (рассматривалась цвиттерионная форма молекулы). Наличие в составе AT 1-8 остатка Asn¹ и заряженной N-концевой аминокислотной группы не на-

рушает основную пространственную характеристику наиболее стабильных структур молекулы — квазицикличность, но вызывает их дальнейшую дифференциацию по конформационной энергии. В табл. 4 приведены 10 структур молекулы АТ 1—8, отобранных по критерию $\Delta U \sim 10$ ккал/моль (значения углов внутреннего вращения 9 структур табл. 4 см. в предварительных сообщениях [17, 18]) с учетом проведенного варьирования конформаций боковых цепей.

Молекула АТ 1—8: учет энергии гидратации. Свободная энергия гидратации молекулы АТ 1—8 рассчитывалась с помощью алгоритма, описанного в работе [12]; при этом предполагалось, что воздействие молекул растворителя не может существенно увеличить стабильность структур, невыгодных с точки зрения внутримолекулярных взаимодействий. Энергия гидратации ($U_{\text{гидр}}$) и полная энергия молекулы ($U_{\text{общ}} = U + U_{\text{гидр}}$) определялась для структур табл. 4; разброс значений $U_{\text{гидр}}$ колебался в пределах 10 ккал/моль. Это служит дополнительным основанием для ограничения набора стабильных структур молекулы критерием $\Delta U \sim 10$ ккал/моль, поскольку маловероятно, что для какой-нибудь из структур, не вошедших в табл. 4, возможно дополнительное снижение $U_{\text{гидр}}$ на 8—10 ккал/моль. В то же время расчет показал, что одна из структур табл. 4 — *BRLRRBBB* — существенно дестабилизируется и может быть исключена из числа наиболее стабильных структур остова молекулы ($\Delta U_{\text{общ}} \sim 15$ ккал/моль).

Таким образом, учет энергии гидратации позволяет выделить группу из шести типов наиболее стабильных конформаций остова молекулы ангиотензина: *BRBRRBBB*, *BBLRRBBB*, *BBBRRBBB*, *BBLRRBRB*, *BVBBRRBBB*, *BVBBRRBRB*.

Молекула АТ 1—8: варьирование конформаций боковых цепей. При рассмотрении возможных конформаций боковых цепей в различных структурах остова молекулы АТ 1—8 учитывалась пространственная удаленность (в большинстве случаев) боковых цепей остатков Asn¹ и Tyr⁴ от остатков His⁶ и Phe⁸: это позволяет, в частности, считать энергетический эффект изменения конформации боковой цепи гистидина практически аддитивным. Кроме того, помимо варьирования конформации боковой цепи остатка Asn¹ рассматривалась также конформация *R* этого остатка: поскольку переход *B* → *R* для остатка Asn¹ означает лишь поворот бокового радикала и N-концевой аминогруппы вокруг связи N-C α , не следует, по-видимому, считать структуры молекулы с конформацией *R* остова остатка Asn¹ особыми типами структуры пептидного остова. Естественно, что рассматривались лишь те структуры, для которых по соображениям, изложенным выше, можно было ожидать снижения энергии $U_{\text{общ}}$.

Конформация остова BRBRRBBB. Из трех вариантов указанных структур, соответствующих ротамерам боковой цепи остатка Arg² с $\chi_1 \sim 60^\circ$, -170° и -60° , последние являются наиболее низкоэнергетическими конформациями молекулы ангиотензина. Поворот пептидной цепи на 180° в районе остатков Tyr⁴ и Val⁵ дополняется в этих структурах изгибом цепи в районе остова остатка Arg², так что остов молекулы напоминает несколько изогнутую шпильку (с «размерами» $17 \times 12 \text{ \AA}$), сближенные концы которой «замыкаются» боковой цепью остатка Arg² (рис. 4).

Квазициклические структуры с $\chi_1 \sim -170^\circ$ остатка Arg² характеризуются заметным увеличением межконцевых расстояний, а структуры с $\chi_1 \sim 50^\circ$ остатка Arg² заметно уступают по энергии наиболее стабильным конформациям описываемого типа.

Результаты варьирования конформаций боковых цепей приведены в табл. 5.1; видно, что абсолютный минимум энергии $U_{\text{общ}}$ достигается в конформации с $\chi_1 \sim 180^\circ$ остатка Tyr⁴ (при χ_1 остатка Arg² $\sim -60^\circ$). Перевод боковой цепи Tyr⁴ в конформацию с $\chi_1 \sim -60^\circ$ вызывает некоторое повышение энергии U , которое, однако, компенсируется снижением энергии $U_{\text{гидр}}$. Кольца остатков His⁶, Pro⁷ и Phe⁸ пространственно сбли-

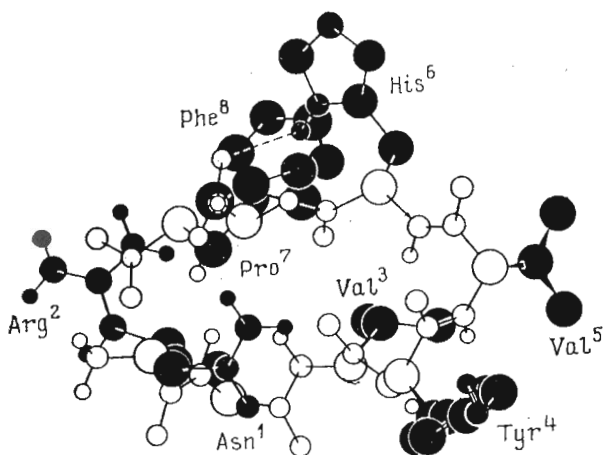


Рис. 1. Молекула ангиотензина в конформации $B_4R_5B_2R_2R_2 \cdot B_3BB_3$. На всех рисунках пептидный остов показан белыми кружками, боковые цепи — черными. Радиус кружков уменьшается в последовательности: $CH_2 - C, O, N - H$. Водородные связи показаны пунктиром

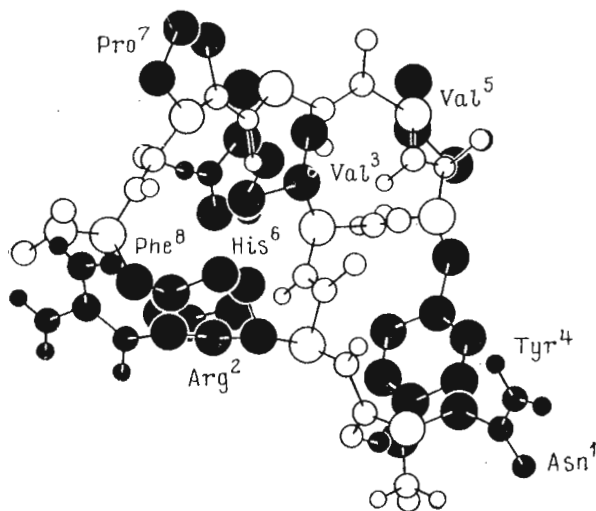


Рис. 2. Молекула ангиотензина в конформации $B_5B_4L_2R_3R_2 \cdot B_2BB_3$

жены, и их дисперсионные взаимодействия являются дополнительным фактором стабилизации. В структурах с χ_1 остатка $Arg^2 \sim -170^\circ$ основные свойства боковых цепей остаются теми же; исключение составляет лишь параллельное расположение боковых цепей остатков Asn^1 и Tyr^4 , вследствие которого конформация с $\chi_1 \sim -60^\circ$ несколько более выгодна для остатка Tyr^4 .

Конформация остова $BBLRRBBB$. Эти конформации отличаются от описанных выше (с χ_1 остатка $Arg^2 \sim -170^\circ$) лишь поворотом на 180° плоскости пептидной группы между остатками Arg^2 и Val^3 (рис. 2). Поворот плоскости этой группы несколько повышает энергию U , однако форма пептидной цепи и свойства боковых цепей (табл. 5.2) в обоих типах конформации остова весьма сходны (за исключением некоторой предпочтительности конформации B_2 остатка His^6).

Конформация остова $BBBRRBBB$. Данная конформация пептидного остова также в главных деталях сходна с двумя предыдущими (рис. 3).

Таблица 5.1

Варьирование конформаций боковых цепей молекулы ангиотензина
при конформации остова **BRRRBBB**

Конформация								Энергия, ккал/моль		
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	<i>U</i>	<i>U</i> _{общ}	ΔU _{общ}
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₁	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-34,8	-54,7	12,3
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-36,8	-61,3	5,7
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-40,4	-65,5	1,5
<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-39,3	-63,3	3,7
<i>B</i> ₅	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-40,0	-66,0	1,0
<i>B</i> ₅	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-38,0	-64,6	2,4
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-33,4	-60,0	7,0
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-40,2	-61,8	5,3
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-36,8	-58,9	8,2
<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-39,8	-64,8	2,2
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-43,4	-66,2	0,8
<i>B</i> ₄	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-43,5	-67,0	0,0
<i>B</i> ₅	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-41,1	-66,9	0,1
<i>B</i> ₄	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-37,2	-62,0	5,1
<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-36,8	-58,9	8,2
<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-37,1	-64,0	3,1
<i>B</i> ₅	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-40,2	-66,8	0,3
<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-37,4	-60,5	6,5
<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₅	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-26,2	-49,4	17,6

Таблица 5.2

Варьирование конформаций боковых цепей молекулы ангиотензина
при конформации остова **BBLRBBB**

Конформация								Энергия, ккал/моль		
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	<i>U</i>	<i>U</i> _{общ}	ΔU _{общ}
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-37,7	-62,5	4,5
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-33,7	-61,0	7,1
<i>B</i> ₅	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-35,5	-64,2	2,9
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-32,4	-57,2	9,8
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-30,1	-58,3	9,7
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-36,5	-61,8	5,3
<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-35,8	-61,3	5,7

Таблица 5.3

Варьирование конформаций боковых цепей молекулы ангиотензина
при конформации остова **BBBBBBB**

Конформация								Энергия, ккал/моль		
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	<i>U</i>	<i>U</i> _{общ}	ΔU _{общ}
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-32,6	-60,1	7,0
<i>B</i> ₅	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-31,1	-61,1	5,9
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-32,6	-60,4	6,7
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-30,7	-59,7	7,4
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-27,9	-54,3	12,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-30,9	-58,2	8,9
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-21,3	-49,6	17,4
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₃	-29,2	-56,7	11,4

Таблица 5.4

Варьирование конформаций боковых цепей молекулы ангиотензина
при конформации остова **BBLRRBB**

Конформация								Энергия, ккал/моль		
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	<i>U</i>	<i>U</i> _{общ}	ΔU _{общ}
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-38,4	-56,4	10,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-30,1	-48,5	18,6
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-37,6	-57,5	9,5
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-32,8	-51,4	15,7
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-38,8	-57,4	9,6
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-38,4	-58,7	8,3
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-32,6	-53,3	13,8
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-27,5	-51,4	15,7
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-35,6	-56,6	10,5
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₆	<i>L</i> ₂	<i>R</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-35,7	-56,0	11,0

Таблица 5.5

Варьирование конформаций боковых цепей молекулы ангиотензина
при конформации остова **BBBBBBB**

Конформация								Энергия, ккал/моль		
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	<i>U</i>	<i>U</i> _{общ}	ΔU _{общ}
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-32,0	-56,3	10,8
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-31,2	-55,6	11,5
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-30,8	-57,0	10,0
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-30,1	-53,6	13,5
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-27,4	-50,9	16,2
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>B</i>	<i>B</i> ₁	-19,8	-44,8	22,3

Таблица 5.6

Варьирование конформаций боковых цепей молекулы ангиотензина
при конформации остова **BBBBBBB**

Конформация								Энергия, ккал/моль		
Asn ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸	<i>U</i>	<i>U</i> _{общ}	ΔU _{общ}
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-32,1	-54,5	12,5
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-32,6	-54,7	12,4
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-30,0	-54,3	12,8
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-21,9	-47,3	19,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-22,3	-49,3	17,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-25,1	-52,2	14,9
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-31,1	-54,2	12,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₃	-30,5	-55,2	11,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-19,6	-45,2	21,8
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₁	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-26,0	-51,2	15,9
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-31,8	-54,9	12,1
<i>B</i> ₃	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-31,3	-54,0	13,1
<i>B</i> ₆	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₂	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₆	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-30,2	-55,9	11,2
<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₄	<i>B</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i> ₂	<i>B</i> ₃	<i>R</i>	<i>B</i> ₁	-29,0	-51,2	15,8

Несмотря на то что спрямление N-концевого плеча шпильки ведет к некоторому увеличению ее размеров и уменьшению компактности структуры, варьирование конформаций боковых цепей (табл. 5.3) дает результаты, аналогичные описанным выше. Несколько более предпочтительными оказываются здесь структуры с χ_1 остатка Tyr⁴ —60°, а изменение конформации боковой цепи остатка His⁶ вызывает существенное повышение энергии U .

Конформация остова BBLRRBBB. Дополнительный изгиб пептидной цепи, обусловленный конформацией R остатка Pro⁷, несколько увеличивает расстояние между гуанидиновой группой остатка Arg² и C-концевым карбоксилем, ослабляя связь ионного типа. Однако дополнительная стабилизация этого типа конформации остова достигается за счет образования водородной связи между NH-группой остатка Val³ и карбонилем остатка His⁶ (рис. 4). Результаты варьирования конформаций боковых цепей (табл. 5.4) показывают, что в этом случае боковая цепь остатка Phe⁸ обладает значительной конформационной подвижностью; некоторую конформационную свободу имеют также боковые цепи остатков Tyr⁴, His⁶ и Asn¹ (за исключением конформаций с χ_1 остатка Asn¹ ~ 60°).

Конформация остова BBBRRBBB. Конформация R остатка Val⁵ создает изгиб цепи на 90°, так что общие очертания молекулы напоминают деформированный прямоугольник с «размерами» ~ 10 × 16 Å, стороны которого составляют дипептиды Asn¹-Arg², Val³-Tyr⁴, His⁶-Pro⁷ и боковая цепь остатка Arg² (рис. 5). Дисперсионные взаимодействия колец остатков Phe⁸ и Tyr⁴ делают конформацию боковой цепи последнего с χ_1 ~ 50° значительно более предпочтительной при любых конформациях боковой цепи гистидина (кроме области с χ_1 остатка His⁶ ~ 80°). Далее, результаты варьирования расположения боковых цепей показывают (табл. 5.5), что изменение конформации боковой цепи остатка Asn¹ практически не сказывается на стабильности молекулы в целом.

Конформация остова BBBRBBB. По форме пептидной цепи эта конформация напоминает предыдущую, несмотря на то что дополнительный изгиб остова в районе остатка Pro⁷ удаляет боковую цепь остатка Phe⁸ от боковой цепи остатка Tyr⁴ (рис. 6). С другой стороны, как убеждают данные табл. 5.6, существует некоторая корреляция конформаций боковых цепей остатков His⁶ и Tyr⁴ и His⁶ и Phe⁸. Наибольшей конформационной подвижностью в этом случае обладает боковая цепь остатка Asn¹.

Описанные выше структуры представляют собой основной результат настоящей работы — выделение ограниченного набора конформаций молекулы ангиотензина в водном растворе средствами тотального полуэмпирического конформационного анализа. Указанный набор включает в себя шесть типов конформаций пептидного остова молекулы (значения углов внутреннего вращения конформаций с оптимальным расположением боковых цепей для каждого типа структуры остова приведены в табл. 6; эти же конформации изображены на рис. 1—6), причем для трех наиболее низкоэнергетических конформаций, BRBRRBBB, BBLRRBBB и BBBRRBBB, сходны практически все основные пространственные характеристики.

Главным фактором стабильности описанных структур является, как упоминалось, наличие связи ионного типа между гуанидиновой группой остатка Arg² и C-концевой карбоксильной группой, что приводит к их квазициклизации. Важно отметить, однако, что наличие такого рода особенности не противоречит всей системе внутримолекулярных взаимодействий, а, наоборот, поддерживается и предопределяется ею.

Исследование конформационной подвижности боковых цепей показало, что в наибольшей мере ею обладают боковые цепи остатков Asn¹, Tyr⁴ и Phe⁸; подвижность боковой цепи фенилаланина оказывается коррелированной с конформацией остатка Pro⁷, достигая максимальной в слу-

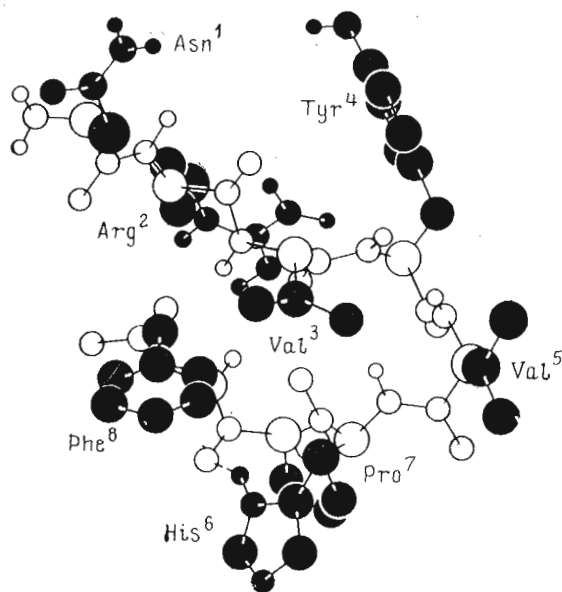


Рис. 3. Молекула ангиотензина в конформации $B_5B_4B_2R_3R_2 \cdot B_3BB_3$

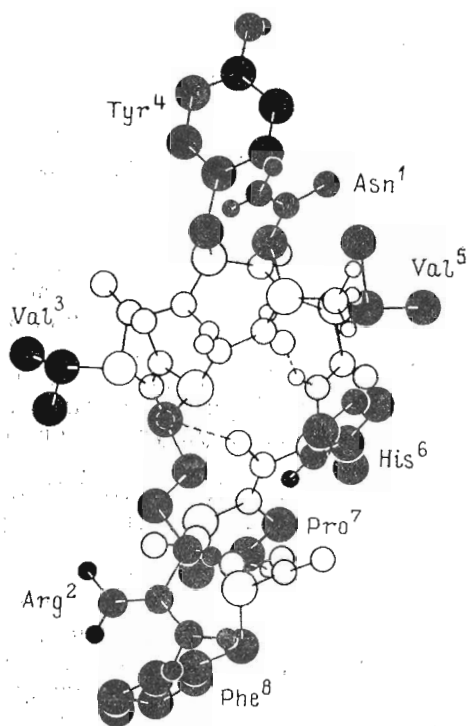


Рис. 4. Молекула ангиотензина в конформации $B_5B_6L_2R_2R_2 \cdot B_2RB_3$

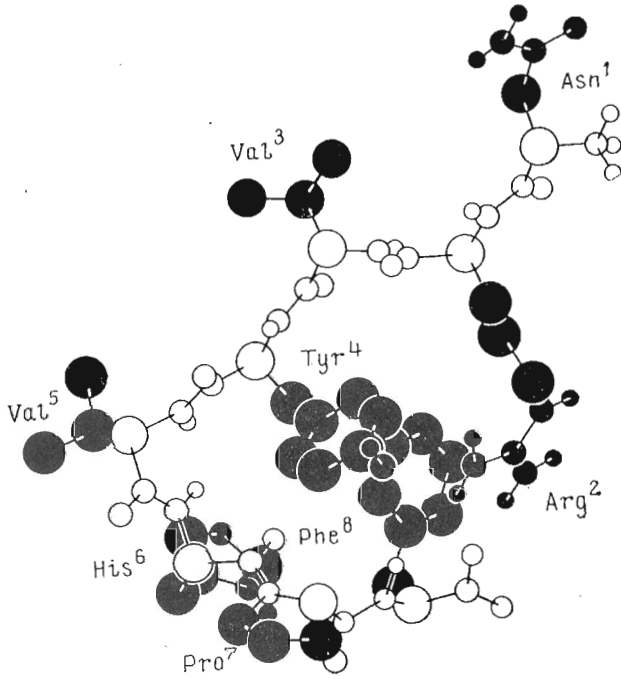


Рис. 5. Молекула ангиотензина в конформации $B_5B_1B_2B_1R_2 \cdot B_2BB_1$

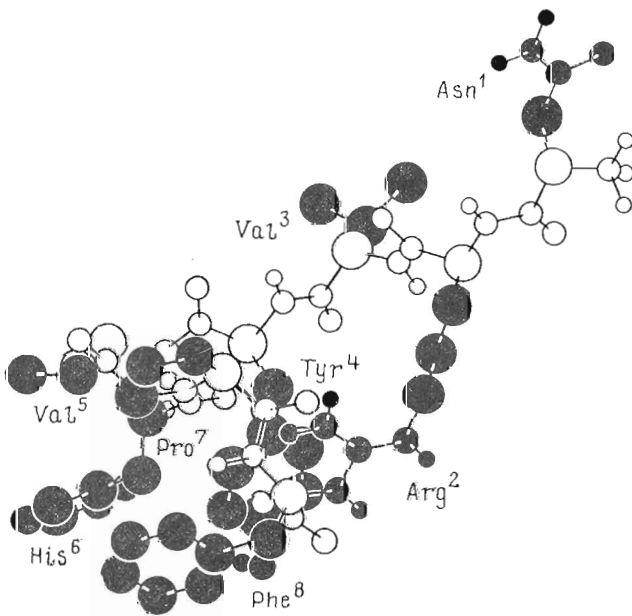


Рис. 6. Молекула ангиотензина в конформации $B_5B_1B_2B_2R_2 \cdot B_6RB_1$

Значения углов внутреннего вращения наиболее стабильных типов структуры остова молекулы ангиотензина с оптимальным расположением боковых цепей (в градусах)

Оста-ток	Угол	Тип структуры					
		BBRRRBBB	BBLRRBBB	BBBRRBBB	BBLRRBRB	BBBBRBBB	BBBBRRBB
Asn	φ	-133	-131	-140	-135	-136	-122
	ψ	128	152	147	145	136	152
	χ_1	180	-61	-60	-60	-60	-61
	χ_2	-89	88	89	89	90	86
Arg	φ	-112	-124	-131	-88	-143	-124
	ψ	-42	150	148	153	120	134
	χ_1	-70	-149	-165	-94	-139	-167
	χ_2	-173	-176	-162	-176	172	180
	χ_3	-159	-173	171	175	-177	173
	χ_4	102	226	270	216	262	254
Val	φ	-122	58	-113	50	-126	-116
	ψ	138	113	144	33	124	103
	χ_1	-174	-179	-174	-169	-179	-178
Tyr	φ	-74	-116	-95	-148	-157	-154
	ψ	-39	-48	-36	-50	165	158
	χ_1	-179	-51	-63	-165	49	-134
	χ_2	85	93	94	87	88	84
	χ_3	90	92	92	90	93	90
Val	ψ	-57	-119	-59	-112	-100	-73
	φ	-40	-46	-30	-46	-32	-29
	χ_1	171	-179	172	180	-179	175
His	φ	-152	-134	-126	-140	-129	-108
	ψ	124	151	135	140	136	144
	χ_1	-169	55	-168	47	63	-56
	χ_2	-71	61	-74	80	86	87
Pro	ψ	68	96	59	-100	59	-85
Phe	φ	-141	-128	-142	-134	-153	-116
	ψ	144	157	142	140	159	161
	χ_1	-84	-74	-86	-65	78	51
	χ_2	105	91	99	98	103	84

чае конформации *R* этого остатка. Конформацией остатка Pro⁷ во многом определяется также конформационная свобода боковой цепи гистидина: в структурах с конформацией *B* остатка Pro⁷ группа NH имидазольного кольца гистидина вовлечена, как правило, в водородную связь с карбониллом остатка Pro⁷. С другой стороны, конформации боковых цепей остатков Val³ и Val⁵ практически полностью определяются их локальными стерическими условиями.

В дополнение к сказанному следует добавить, что подробно описанная выше расчетная процедура представляет интерес также и в методическом отношении, особенно в сопоставлении с попыткой тотального расчета молекулы ангиотензина, предпринятой в последнее время в работе [19]. Авторы этой работы предварительно ограничивали число возможных конформаций пептидного остова молекулы на основании так называемого приближения стереоалфавита [20], в котором совокупность возможных конформаций остова определяется стабильностью всевозможных комбинаций шести стандартных конформаций остова аминокислотных остатков, входящих в состав молекулы, причем минимизация потенциальной энергии не проводится. При таком подходе, очевидно, необоснованно исключаются

из рассмотрения те структуры, для которых стерические напряжения, имеющие место при стандартных значениях углов внутреннего вращения, легко устраняются на первых же этапах минимизации потенциальной энергии; в то же время именно такие структуры наиболее компактны и, следовательно, наиболее стабильны с точки зрения дисперсионных взаимодействий. Однако основная ошибка работы [19] заключается, по-видимому, в выборе октапептида $(\text{Ala})_5\text{-Pro-Ala}$ в качестве модельного фрагмента для дальнейшего ограничения набора стабильных конформаций остова ангиотензина. Исключение из рассмотрения боковой цепи остатка Arg^2 привело к тому, что основными факторами, стабилизирующими пространственную структуру модельного фрагмента, оказались внутримолекулярные водородные связи и электростатические взаимодействия ионогенных концевых групп. В сочетании с приближением стереоалфавита и довольно «жестким» энергетическим критерием ($\Delta U \sim 8$ ккал/моль) для отбора стабильных конформаций модельного фрагмента это привело к результатам, которые не могли быть исправлены последующим введением боковых цепей: среди 20 наиболее стабильных типов структур пептидного остова молекулы ангиотензина, полученных в работе [19], оказалась лишь одна из шести предлагаемых в настоящей работе (конформация *BBBBRRB*). Естественно, что после минимизации потенциальной энергии этих 20 конформаций указанная структура оказалась наиболее низкоэнергетической. Тем не менее полученное в настоящей работе оптимальное расположение боковых цепей для этой структуры не было найдено в работе [19]. Можно, таким образом, заключить, что результаты работы [19] определяются искусственными факторами, которые ведут свое происхождение от произвольных модельных и расчетных допущений и, следовательно, не могут дать исчерпывающей информации о полном наборе стабильных конформаций молекулы ангиотензина.

Сопоставление расчетных результатов с данными физико-химических исследований

Физико-химические исследования пространственной структуры молекулы ангиотензина в растворе проводятся в настоящее время весьма интенсивно. К сожалению, данные, полученные с их помощью, весьма различаются в отношении детальности сведений о пространственной структуре молекулы. Это во многом затрудняет как прямую их интерпретацию, так и разработку корректных процедур сопоставления экспериментальных данных с результатами расчетов. Следует считаться также с тем, что не только данные, относящиеся к различным экспериментальным методам, но и результаты экспериментов, проводимых различными авторами по сходным методикам, подчас явно противоречат друг другу. Тем не менее анализ данных по ряду физико-химических методов исследования структуры позволяет выделить некоторые надежные характеристики пространственной структуры молекулы ангиотензина и сопоставить с ними результаты расчета.

Диализ на тонких пленках. Скорость диффузии молекул через тонкие мембраны позволяет по существу судить (при отсутствии адсорбции) лишь о сравнительной компактности молекулярной структуры при различных рН и ионной силе растворителя; в случае молекулы ангиотензина работы по диализу [21—23] подтверждают его компактность и эллипсоидальную форму — характеристики, присущие всем без исключения структурам, предлагаемым расчетом.

Титрование. Константы диссоциации всех ионогенных групп молекулы ангиотензина (за исключением гуанидиновой), а также целого ряда ее аналогов и гомологов в водном растворе получены в работе [24] методом потенциометрического титрования; результаты этой работы хорошо согласуются с данными более раннего исследования [25], а также титрования

с помощью средств ^{13}C - и ^1H -ЯМР-спектроскопии [26, 27] и КД-спектроскопии [28, 29]. Это позволяет рассматривать выводы работ [24—29] в отношении пространственной структуры молекулы как вполне достоверные. К таким выводам можно отнести следующие:

1) пространственное расположение N- и C-концевых групп молекулы на более близком расстоянии, чем в состоянии статистического клубка;

2) отсутствие ион-дипольного взаимодействия между имидазольным кольцом остатка His⁶ и C-концевой карбоксильной группой;

3) наличие взаимодействия с растворителем (по крайней мере частичного) фенольной группы остатка Tyr⁴;

4) сопоставление констант диссоциации C-концевой карбоксильной группы в случае аналогов [Gly¹]-АТ и [Gly¹, Gly²]-АТ показывает, что наличие гуанидиновой группы облегчает диссоциацию C-концевого карбоксилата. Это обстоятельство можно интерпретировать как указание на близость этих двух групп.

Все расчетные структуры в той или иной степени обладают указанными деталями пространственной структуры; в особенности это относится к чрезвычайно характерному для них сближению гуанидиновой группы остатка Arg² и C-концевого карбоксилата (подобная трактовка подтверждается также данными ^{13}C -ЯМР-спектроскопии; см. ниже). Однако результаты расчета C-концевого трипептида не противоречат возможности существования ион-дипольного взаимодействия между боковой цепью остатка His⁶ и C-концевой карбоксильной группой (предлагаемого в работе [30] на основании спектров ЭПР аналога C-концевого трипептида), но при дальнейшем «поостаточном наращивании» молекулы подобная особенность пространственной организации приводит к дестабилизации соответствующих структур ангиотензина.

Водородно-дейтериевый и водородно-третийевый обмен. К сожалению, экспериментальные данные по исследованию кинетики изотопного обмена в молекуле ангиотензина [25, 27, 31—34] (в том числе и полученные с помощью ^1H -ЯМР-спектроскопии [27, 31, 32]) существенно расходятся в оценке скоростей обмена амидных протонов; именно данные такого рода во многом послужили основой для взаимно противоречивых моделей пространственной структуры ангиотензина: γ - и β -витков [35], так называемой кросс- β -формы II [28], и состояния статистического клубка [25]. Большое согласие экспериментальных результатов наблюдается в случае оценки скоростей обмена неамидных протонов молекулы [27, 34].

В целом данные по кинетике изотопного обмена позволяют, по-видимому, утверждать лишь следующее:

1) один [27], два [31, 32, 34] или три [33] амидных протона, локализованных в АТ 3—8, экранированы от влияния растворителя и/или вовлечены во внутримолекулярную водородную связь;

2) амидный протон остатка Arg², протоны боковых цепей остатков Asn¹ и Arg², а также α -аминогруппы доступны растворителю и не вовлечены в водородные связи.

Обоим приведенным требованиям (в том числе и относящемуся к боковой цепи остатка Arg²: не все протоны гуанидиновой группы участвуют в образовании связи ионного типа) вполне удовлетворяют все структуры, предлагаемые расчетом, в особенности если учесть, что медленная скорость обмена амидных протонов не обязательно должна интерпретироваться как их вовлечение во внутримолекулярную водородную связь: амидные протоны, например, остатков Phe⁸ и His⁶ частично или полностью недоступны для растворителя во всех шести наиболее стабильных конформациях остова ангиотензина. В структурах типа *BBLRRBBB* (рис. 2), кроме того, частично, экранирован от растворителя амидный протон остатка Val³. Таким образом, для предлагаемых конформаций молекулы ангиотензина следует ожидать наличия двух или трех медленно обменивающихся амидных протонов.

Дисперсия оптического вращения (ДОВ) и круговой дихроизм (КД). Как отмечалось в работе [36], высокая чувствительность этих методов к изменениям пространственной структуры пептидов — одна из причин их широкого распространения; однако именно это свойство чрезвычайно затрудняет корректную интерпретацию спектров ДОВ и КД, в особенности в случае нерегулярных структур. В то же время большинство работ по ДОВ- и КД-спектроскопии ангиотензина и его аналогов [25, 28, 29, 37, 38] не обнаруживает элементов регулярных структур; исключение составляет лишь работа [39], в которой результаты ДОВ-спектроскопии расцениваются как доказательство наличия α -спиральной структуры молекулы (в некоторой степени нарушаемой остатком Pro⁷). Эта интерпретация полностью опровергается авторами последующих работ по КД-спектроскопии ангиотензина. Так, в уже упомянутой работе [25] утверждается, что молекула скорее находится в состоянии статистического клубка, а работы [28, 29, 37, 38] указывают на возможность наличия в молекуле изгиба типа антипараллельной β -структуры («кросс- β -форма»). Тем не менее, даже если последняя интерпретация правильна, она все же не дает достаточно надежного представления о пространственной структуре молекулы. Не случайно авторы, первыми предложившие такую интерпретацию КД-спектров ангиотензина, в работе [40] утверждают, что указанный изгиб находится в районе остатков Val³-Tyr⁴ («кросс- β -форма I»), а в работе [28] предлагают иное его расположение — в районе остатков Asn¹-Arg²-Val³ («кросс- β -форма II»). Таким образом, на основании опубликованных данных КД-спектроскопии ангиотензина можно, очевидно, говорить лишь о вероятном наличии в структуре молекулы изгиба типа кросс- β -формы, причем вероятность наличия такой особенности увеличивается при переходе от водного к органическим растворителям. Та же интерпретация может быть отнесена и к инфракрасным и рамановским спектрам ангиотензина и ряда его фрагментов, полученным в работе [40]. Очевидно, что подобная структурная характеристика присутствует у всех конформаций молекулы ангиотензина, предлагаемых расчетом. Об этом неоднократно упоминалось выше при обсуждении различных типов пространственной организации остова молекулы.

Флуоресцентный анализ. Данные по флуоресцентному анализу могут быть интерпретированы в терминах средних расстояний между ароматическими боковыми цепями молекулы [41, 42]. Подобная оценка расстояния между боковыми цепями остатков в положениях 1 и 4 молекулы ангиотензина была проведена для случая аналога [Trp¹]-AT [43], оно составило менее 8 Å, что, по мнению автора, противоречит как предположению о существовании вытянутой формы молекулы, так и моделям α -спирали или γ - и β -витков.

Если предполагать, что для структур, предлагаемых расчетом, замена остатка Asn¹ на остаток Trp¹ не скажется на конформации остова, то можно, пользуясь, например, молекулярными моделями Дрейдинга, оценить среднее расстояние между C ^{β} -атомами остатков триптофана и тирозина в каждой из наиболее стабильных конформаций остова (см. табл. 6). Такое «усредненное» по рогамерам боковых цепей расстояние составило для структуры *BRBRBBB* $\sim 7,0$ Å, для структуры *BBLRBBB* $\sim 7,5$ Å, для структуры *BBRRBBB* $\sim 11,4$ Å, для структуры *BBLRRBRB* $\sim 5,0$ Å, для структуры *BBBRRBBB* $\sim 10,8$ Å и для структуры *BBBBRBRB* $\sim 10,6$ Å. Таким образом, учитывая точность оценок, можно считать, что и эта пространственная характеристика совместима со структурами (в особенности с наиболее стабильными), предлагаемыми расчетом.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Выводы, сделанные авторами различных работ по ¹³C-ЯМР-спектроскопии ангиотензина [28, 44], в целом хорошо согласуются друг с другом. Так, из данных обеих работ следует, что пептидная связь His⁶-Pro⁷ имеет *транс*-конформацию (5—10% *цис*-изомеров по результатам работы [28]), а боковая цепь

Сопоставление различных моделей пространственной структуры молекулы ангиотензина с экспериментальными данными

Экспериментальная характеристика пространственной структуры	Расчетные структуры, удовлетворяющие указанным требованиям	Модели пространственной структуры ангиотензина						
		Антиор- ные структу- ры [18]	γ-виток [35]	β-виток [35]	Кресс- β-форма I [40]	Кресс- β-форма II [28]	α-спи- раль [39]	Стаби- стиче- ский кау- чок [23]
Остов								
1. Компактная структура 8 Å (дипализ, ¹³ C-ЯМР)	Весь набор	+	+	+	+	+	+	-
2. Сближенность N- и C-концов (титрование ¹³ C-ЯМР)	То же	+	-	+	+	+	-	-
3. Изгиб кресс-β-типа (КД, ИК, рамановские спектры)	»	+	+	+	+	+	-	-
4. Наличие двух или трех «медленных» амидных протонов (кинетика изотопного обмена, ¹ H-ЯМР)	»	+	+	+	+	-	+	-
5. Доступность растворителю амидного протона-Arg ² (кинетика изотопного обмена)	»	+	+	+	?	-	?	?
6. Транс-конфигурация пептидной связи His ⁶ -Pro ⁷ (¹³ C-ЯМР)	»	+	-	+	-	+	+	+
7. Набор констант ³ J _{H-NC^α-H} (¹ H-ЯМР)	»	+	-	+	+	+	+	+
Боковые цепи								
1. Подвижность боковой цепи остатка Tyr ⁴ (титрование, ¹³ C-ЯМР)	»	+	+	+	+	+	-	?
2. Расстояние между боковыми цепями остатков в положениях 1 и 4 < 8 Å (флюоресцентный анализ)	BRBRRBBB BBLRRBBB BBLRRBBB	-	-	-	?	+	-	-
3. Подвижность боковой цепи остатка Phe ⁸ (¹³ C-ЯМР)	BBLRRBRB BBBBRBRB	?	?	?	?	+	-	?
4. Доступность растворителю боковых цепей остатков Asp ¹ и Arg ² (кинетика изотопного обмена, ¹³ C-ЯМР)	Весь набор	+	+	+	+	+	+	?
5. Ограничение подвижности боковой цепи остатка Arg ² (титрование, ¹³ C-ЯМР)	То же	-	-	-	-	-	-	?

остатка Phe⁸ обладает сравнительно высокой подвижностью. Кроме того, работа [28] указывает на то, что C-конец молекулы вовлечен во внутримолекулярные взаимодействия, а данные работы [44] свидетельствуют о высокой подвижности боковой цепи остатка Tyr⁴ и ограниченной конформационной подвижности боковой цепи остатка Arg². Наконец, в работе [44] приведена оценка среднего радиуса молекулы ангиотензина — 8Å. Все эти данные хорошо согласуются с расчетными структурами; можно лишь отметить, что подвижность боковой цепи остатка Phe⁸ характерна главным образом для структур с конформацией R остатка Pro⁷.

Хорошо совпадают также значения вицинальных констант ${}^3J_{\text{H-NC}^\alpha\text{-H}}$ для молекулы ангиотензина, установленные различными авторами [28, 32, 45, 46]. Однако при рассмотрении допустимых пределов изменения угла φ в окрестностях локальных минимумов B , R и L легко убедиться, что однозначная интерпретация этих вицинальных констант с помощью уравнения Карплуса [47, 48] возможна лишь в случае $2,5 \text{ Гц} > {}^3J_{\text{H-NC}^\alpha\text{-H}} > 9,0 \text{ Гц}$ (этот факт отмечается также в работе [36]); в то же время, к сожалению, почти все вицинальные константы для молекулы ангиотензина, предлагаемые в работах [28, 32, 45, 46], лежат в «малоинформативной» области 6,5—9,0 Гц; исключение составляет лишь значение константы для остатка His⁶ ($6,0 \pm 0,5 \text{ Гц}$), полученное в работах [45, 46]: такое значение вицинальной константы более соответствует конформации R остова остатка His⁶, однако для предпролинового остатка такая конформация маловероятна по стерическим соображениям [21]. Работы [32] и [28] предлагают более высокое значение рассматриваемой константы: $7,0 \pm 0,3$ и $7,6 \text{ Гц}$ соответственно.

Таким образом, экспериментальные наборы значений вицинальных констант ${}^3J_{\text{H-NC}^\alpha\text{-H}}$ для молекулы ангиотензина удовлетворяют по существу любой структуре остова молекулы, образованной комбинацией районов локальных минимумов потенциальной энергии B , R и L . Тем более интересно, что расчетное значение вицинальной константы для остатка Val⁵ в структуре γ -витка [35] составляет 2,5 Гц ($\varphi \sim 175^\circ$), что выходит далеко за пределы допустимых значений для области локального минимума B . Учитывая, что подобное значение угла φ соответствует достаточно напряженному состоянию любого остатка, тем более ограниченного в стерическом отношении остатка валина, можно считать (как отмечалось, в частности, в работе [46]), что модель γ -витка не удовлетворяет установленному экспериментально набору вицинальных констант ${}^3J_{\text{H-NC}^\alpha\text{-H}}$.

Проведенное сопоставление с данными физико-химического эксперимента можно более наглядно представить в виде табл. 7, где знаком «+» отмечен факт совпадения тех или иных элементов пространственной структуры молекулы, предлагаемых различными моделями, с экспериментальными данными, знаком «—» — отсутствие такого совпадения и знаком «?» — случаи, когда данный вопрос не исследован в соответствующих оригинальных работах или когда уровень детализации данной модели недостаточен. Видно, что всей совокупности экспериментальных данных удовлетворяет лишь набор расчетных структур, предлагаемый в настоящей работе; многим экспериментальным характеристикам пространственной структуры молекулы удовлетворяют априорные структуры работы [19] и модель β -витка. Более слабое соответствие с экспериментом наблюдается для моделей кросс- β -форм I и II и γ -витка; состояние же статистического клубка и α -спиральная структура почти полностью не удовлетворяют экспериментальным данным.

Следует особо отметить то обстоятельство, что весь набор расчетных структур, полученный выше, удовлетворяет всей совокупности имеющихся экспериментальных сведений о пространственной структуре молекулы в водном растворе (исключение может составить лишь требование подвижности боковой цепи остатка Phe⁸, но и в этом случае в наборе есть структуры, ему удовлетворяющие). Таким образом, можно с уверенностью утверждать, что обнаруженный в настоящей работе средствами теоретического конформационного анализа набор структур в полной мере соответствует реальному спектру стабильных конформаций молекулы ангиотензина в водном растворе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Scheraga H. A. (1968) *Advances Phys. Org. Chem.*, **6**, 103—108.
2. Ramachandran G. N., Sasisekharan V. (1968) *Advances Prot. Chem.*, **23**, 283—438.
3. Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Перельман Т. Л. (1974) Диффузия в сложных молекулярных структурах, с. 82—176, «Наука и техника», Минск.
4. Галактионов С. Г. (1974) Докт. дис. «Исследование пространственной молекулярной структуры пептидов и белков», Минск.
5. Burgess A. W., Momany F. A., Scheraga H. A. (1973) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **70**, 1456—1460.
6. Momany F. A. (1976) *J. Amer. Chem. Soc.*, **98**, 2990—2995.
7. Галактионов С. Г., Никифорович Г. В., Шерман С. А. (1971) в сб. Пластидный аппарат и жизнедеятельность растений, с. 138—144, Минск.
8. Попов Е. М. (1975) *Молекулярн. биология*, **9**, 578—582.
9. Ponnuswamy P. K., Warne P. K., Scheraga H. A. (1973) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **70**, 830—834.
10. Galaktionov S. G., Nikiforovich G. V., Shenderovich M. D., Chipens G. I., Vegner R. E. (1975) *Soviet-French Symposium on the Physical Chemistry of Proteins and Peptides*, **26**, Pushchino-on-Oka.
11. Regoli D., Park W. K., Rioux F. (1974) *Pharmacol. Revs*, **26**, 69—123.
12. Розина К. А., Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Шерман С. А., Галактионов С. Г. (1975) в сб. Исследование плазмохимических процессов и плазменных устройств (ред. Ясько О. И.), с. 118—128, ИТМО АН БССР, Минск.
13. Никифорович Г. В., Галактионов С. Г. (1971) *Докл. АН БССР*, **15**, 430—433.
14. Hopfinger A. J. (1973) *Macromolecules*, **24**, 731—739.
15. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1974) *Pure Appl. Chem.*, **40**, 293—307.
16. Ivanov V. T., Filatova M. P., Reissman Z., Reutova T. O., Pashkov V. S., Galaktionov S. G., Grigoryan G. L., Ovchinnikov Yu. A. (1975) in *Peptides: chemistry, structure, biology* (Walter R., Meienhofer J., eds.), pp. 151—157, Ann Arbor Sci.
17. Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Галактионов С. Г. (1976) *Биоорганич. химия*, **2**, 1268—1270.
18. Galaktionov S. G., Nikiforovich G. V., Shenderovich M. D., Chipens G. I., Vegner R. E. (1976) in «*Peptides 1976*», *Proceedings of the Fourteenth European Peptide Symposium*, pp. 617—624, Wepion, Belgium.
19. De Coen J.-L., Ralston E. (1977) *Biopolymers*, **16**, 1929—1943.
20. Ralston E., De Coen J.-L. (1974) *J. Mol. Biol.*, **83**, 393—420.
21. Damiani A., De Santis P., Pizzi A. (1970) *Nature*, **226**, 542—543.
22. Fernandez F. M. T., Delius A. E., Paladini A. C. (1968) *Biochim. et biophys. acta*, **154**, 223—225.
23. Ferreira A. T., Hampe O. G., Paiva A. C. M. (1969) *Biochemistry*, **8**, 3483—3487.
24. Juliano L., Paiva A. (1974) *Biochemistry*, **13**, 2445—2450.
25. Paiva T., Paiva A. C. M., Scheraga H. A. (1963) *Biochemistry*, **2**, 1327—1334.
26. Zimmer S., Haar W., Maurer W., Rüterjans H., Fermandjan S., Fromageot P. (1972) *Eur. J. Biochem.*, **29**, 80—87.
27. Glickson J. D., Cunningham W. D., Marshall G. R. (1973) *Biochemistry*, **12**, 3684—3692.
28. Fermandjan S., Lintner K., Haar W., Fromageot P., Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M. (1976) in «*Peptides 1976*», *Proceedings of the Fourteenth European Peptide Symposium*, Wepion, Belgium.
29. Lintner K., Fermandjan S., Fromageot P., Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M. (1975) *FEBS Lett.*, **56**, 366—369.
30. Weinkam R. J., Jorgensen E. C. (1971) *J. Amer. Chem. Soc.*, **93**, 7033—7038, 7038—7044.
31. Bleich H. E., Galardy R. E., Printz M. P. (1973) *J. Amer. Chem. Soc.*, **95**, 2041—2046.
32. Bleich H. E., Galardy R. E., Printz M. P., Craig L. C. (1973) *Biochemistry*, **12**, 4950—4957.
33. Nabedryk-Viala E., Thiéry C., Calvet P., Fermandjan S. (1975) *FEBS Lett.*, **58**, 273—276.
34. Printz M. P., Williams H. P., Craig L. C. (1972) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 378—382.
35. Printz M. P., Nemethy G., Bleich H. (1972) *Nature New Biol.*, **237**, 135—140.
36. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. (1975) *Tetrahedron*, **31**, 2177—2209.
37. Fermandjan S., Morgat J.-L., Fromageot P. (1971) *Eur. J. Biochem.*, **24**, 252—258.
38. Greff D., Fermandjan S., Fromageot P., Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M. (1976) *Eur. J. Biochem.*, **61**, 297—305.
39. Smeby R. R., Arakava K., Bumpus F. M., Marsh M. M. (1962) *Biochim. et biophys. acta*, **58**, 550—557.
40. Fermandjan S., Fromageot P., Tischenko A.-M., Leickham J.-P., Lutz M. (1972) *Eur. J. Biochem.*, **28**, 174—182.
41. Eisinger J. (1969) *Biochemistry*, **8**, 3902—3907.

42. Schiller P. W. (1972) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69, 975—979.
43. Schiller P. W. (1977) Can. J. Biochem., 55, 75—82.
44. Deslauriers R., Paiva A. C. M., Schaumburg K., Smith J. C. P. (1975) Biochemistry, 14, 878—886.
45. Glickson J. D., Dadok J., Marshall G. R. (1974) Biochemistry, 13, 11—14.
46. Marshall G. R., Bosshard E. H., Vine W. H., Glickson J. D. (1973) Nature New Biol., 245, 125—127.
47. Karplus M. (1958) J. Chem. Phys., 30, 11—18.
48. Bystrov V. F., Ivanov V. T., Portnova S. L., Balashova T. A., Ovchinnikov Yu. A. (1973) Tetrahedron, 29, 873—877.

Поступила в редакцию
10.VI.1977

После доработки
31.VIII.1977

STRUCTURAL ASPECTS OF PEPTIDE HORMONE ANGIOTENSIN FUNCTIONAL ACTIVITY. I. ANGIOTENSIN CONFORMATIONS IN AQUEOUS SOLUTION

SHENDEROVICH M. D., NIKIFOROVICH G. V., GALAKTIONOV S. G.,
CHIPENS G. I.

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

A semi-empirical conformational analysis of angiotensin has been carried out, whereby some improvements of the calculation procedures have been introduced. The hydration energy of the molecule has been taken into account and the side-chain conformational mobility investigated. The whole set of stable solution conformations has been found and described, all of them having the bond of ionic type between the guanidino group of Arg² residue and C-terminal carboxyl. The calculation results have been shown to agree well with the physico-chemical data on angiotensin structure.
