



УДК 547.963:541.6

© 1993 Т. В. Гогитидзе, Е. М. Попов

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ  
АНГИОТЕНЗИНА II  
I. СТРУКТУРНАЯ ЗАДАЧА

*Всероссийский заочный институт пищевой промышленности, Москва*

На основании теоретического конформационного анализа перекрывающихся фрагментов исследованы структурная организация и конформационные свойства октапептидного гормона ангиотензина II. Показано, что пространственное строение молекулы описывается двумя немногочисленными семействами низкоэнергетических конформаций. Найдены значения двугранных углов основных и боковых цепей аминокислотных остатков гормона и оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий у всех потенциально физиологически активных конформаций.

Современные исследования механизмов физиологического действия природных олигопептидов, в частности пептидных гормонов, проводятся, как и много десятилетий назад, не только при отсутствии минимально необходимой информации о сопряженных рецепторах, но фактически и без знания структурной организации самих природных пептидов. Изучение строится на результатах химических исследований, кинетических измерений и биологических испытаний гормона и его синтетических аналогов, причем последние выбираются методом проб и ошибок, т. е., строго говоря, вслепую. В изучении природных олигопептидов все еще господствует чисто эмпирический подход в направлении от функции к структуре, единственно возможном в этом случае.

Исследование структурно-функциональной организации пептидов при отсутствии информации о геометрии и конформационных возможностях молекул, по существу, означает поиск прямой зависимости между химическим строением и физиологическим действием. На отсутствие такой зависимости указывает потеря биологической активности природных пептидов в процессе денатурации, приводящей к изменению лишь конформационных состояний их молекул. В подходе «от функции к структуре» явно или неявно также предполагается существование простой связи между отдельными аминокислотными остатками и функциями пептида. Это предположение, однако, неизбежно исключает учет кооперативности структурной организации и стерической комплементарности взаимодействующих молекул, индуцированного характера и многостадийности биологических процессов. Поскольку в основе биологических процессов, их взаимообусловленности, высокой чувствительности, строгой избирательности, эффективности и автоматизма действия лежит тонкое стереохимическое соответствие взаимодействующих молекул, определяемое главным образом спецификой структурной организации пептидов и белков, только знание этих структурных организаций дает основу для изучения их биологического действия.

Недавно одним из нас был разработан новый подход к изучению биологической

активности природных олигопептидов, идущий от структуры к функции, т. е. имеющий направленность, противоположную существующему подходу [1—3]. Он основан на знании структурной организации молекул низкомолекулярных пептидов [2], наличии прямой связи между конформационными возможностями ряда пептидных гормонов и их физиологическим действием [4—5] и предположении о принципиальной близости физико-химической природы гормон-рецепторных и фермент-субстратных взаимодействий [6—7]. Основу подхода составляют следующие принципы структурно-функциональной организации молекул природных олигопептидов.

1. Спектр функционального действия низкомолекулярного пептида обусловлен наличием в физиологических условиях равновесия между несколькими структурами.

2. Отдельная функция пептида реализуется посредством актуальной только для нее конформации, входящей в состав самых предпочтительных структур свободной молекулы.

3. Эффективность работы природного олигопептида при реализации всех его функций объясняется различным характером внутримолекулярных взаимодействий, стабилизирующих разные предпочтительные конформации, и относительной легкостью конформационных превращений при изменении внешних условий.

При поиске зависимости между структурой и функцией с помощью предложенного подхода [1—3] известными считаются аминокислотная последовательность пептида и его физиологические функции с количественными оценками каждой из них.

Первый шаг заключается в решении прямой структурной задачи, т. е. в определении для природного олигопептида набора наиболее вероятных, низкоэнергетических конформаций, среди которых и следует искать биологически активные структуры олигопептида.

Следующий шаг связан с соотнесением полученных конформаций с набором известных из опыта функций, т. е. с определением актуальной для каждого вида биологической активности конформации.

В аналогичной по постановке задаче о фермент-субстратных взаимодействиях ситуация значительно проще, поскольку во многих случаях известны не только принципы структурной и структурно-функциональной организации взаимодействующих молекул и конформационные возможности субстрата, но и трехмерная структура фермента [6, 7]. При отсутствии информации о геометрии молекулы рецептора выбор комплементарной активному центру конформации пептида невозможен без дополнительной информации. Она может исходить из набора синтетических аналогов природной последовательности, отвечающих специальным требованиям. Главное из них состоит в том, чтобы каждый синтетический аналог обладал способностью принимать ограниченное число конформаций (желательно одну) из набора низкоэнергетических состояний гормона и, таким образом, в случае справедливости наших предположений о природе полифункциональности гормона мог бы реализовать лишь небольшое число функций из физиологического спектра природного пептида (в благоприятном случае одну). Следовательно, встает задача целенаправленного конструирования химической структуры молекулы по заданной пространственной форме. В сравнении с априорным расчетом конформации по известной аминокислотной последовательности она имеет противоположную постановку и поэтому была названа обратной структурной задачей [1].

Предсказание химических модификаций молекулы природного пептида, необходимых для выделения той или иной актуальной для соответствующей функции гормона конформации, возможно лишь на основе теоретического подхода. Использование этого пути привело к созданию метода, позволяющего до синтеза и биологических испытаний предсказывать набор искусственных аналогов, каждый из которых воспроизводит одну или несколько функций, а их совокупность — весь спектр биологической активности гормона.

Решение обратной структурной задачи делает реальным использование подхода от структуры к функции. Работа должна проводиться в следующем порядке.

1. Теоретический конформационный анализ природного олигопептида и определение всего набора низкоэнергетических и, следовательно, потенциально биологически активных конформаций (решение прямой структурной задачи).

2. Конструирование серии моделей искусственных аналогов, пространственные структуры которых отвечают набору низкоэнергетических конформаций природного олигопептида (решение обратной структурной задачи).

3. Синтез и биологические испытания искусственных модельных пептидов, определение спектра действия природного олигопептида, количественная оценка его биологической активности, изучение специфических взаимодействий с рецепторами и т. д.

4. Анализ результатов расчета и эксперимента и определение на атомно-молекулярном уровне зависимости между химическим строением, конформационными возможностями и эффективностью реализации биологических действий природного олигопептида.

Суть этой схемы заключается в том, что экспериментальному изучению пространственной структуры, биологической активности и механизма функционирования предшествует теоретическое моделирование необходимых аналогов.

*Цель исследования.* Настоящая работа преследовала две взаимосвязанные и в случае успеха достигаемые одновременно цели. Одна из них имеет более частный характер и сводится к установлению структурно-функциональной организации молекулы ангиотензина II с помощью предложенного в работах [1—3] подхода к изучению природных олигопептидов в направлении от структуры к функции. Вторая цель, имеющая общий характер, заключается в апробации использованного в конкретном анализе подхода и в оценке его реальных возможностей.

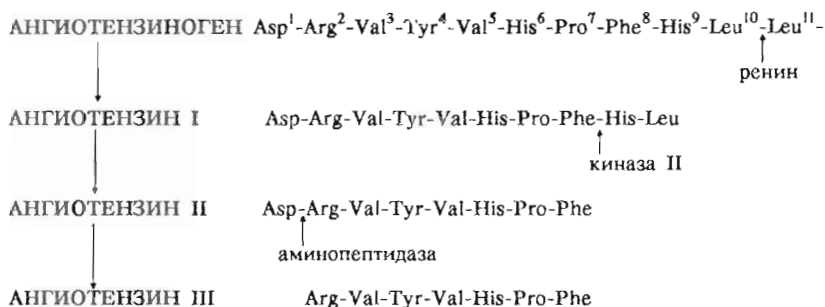
Изложение работы соответствует порядку решения задач в приведенной выше схеме (пункты 1—4). В первом сообщении, открывающем серию наших публикаций об ангиотензине, рассматриваются результаты решения прямой задачи, приведшие к определению структурной организации молекулы (п. 1). Второе сообщение будет посвящено обратной структурной задаче и формированию минимального набора искусственных аналогов, моделирующих биологически активные конформационные состояния ангиотензина II и с этой точки зрения перспективных для синтеза и последующего изучения функций природного пептида (п. 2).

Следующий шаг на пути к познанию структурно-функциональных особенностей ангиотензина II требует привлечения опытных данных, касающихся спектров биологических активностей гормона и его синтетических аналогов (п. 3). Эти данные были заимствованы нами из литературы, что поставило нас в определенную зависимость от объема и качества имеющегося экспериментального материала. Наш выбор ангиотензина II в качестве объекта исследования был обусловлен тем обстоятельством, что на сегодняшний день этот природный олигопептид является самым широко изученным, а потому наиболее подходящим для апробации нового подхода.

В третьем сообщении будет сделано сопоставление результатов теоретического анализа молекулы гормона с экспериментальными данными и на этой основе обсуждена специфика его структурно-функционального устройства (п. 4). Здесь же будут рассмотрены возможности и перспективы развития подхода к исследованию природных олигопептидов в направлении от структуры к функции.

*Объект исследования.* Ангиотензин II, октапептидный тканевый гормон, входит в качестве центрального действующего элемента в ферментную ренин-ангиотензиновую систему, в которой осуществляется его биогенез и распад. Ангиотензин II — самый мощный из известных прессорных агентов в системе кровообращения. Он стимулирует сужение периферических артериол по всему организму и тем

самым повышением артериального давления. Помимо этого ангиотензин II активизирует секрецию ряда гормонов (главным образом альдостерона), влияет на работу сердца, печени, центрального и периферического отделов нервной системы, а также вызывает ряд других откликов в организме млекопитающих. Его непосредственный биохимический предшественник — ангиотензин I, который образуется, согласно приведенной ниже схеме, из глобулярного белка крови ангиотензиногена при действии протеолитического фермента ренина.



Почти все ткани обладают пептидной активностью, быстро разрушающей ангиотензин II. Из плазмы крови млекопитающих выделены две разновидности гормона. Одна из них приведена на схеме. Другая отличается от нее остатком Ile в положении 5.

Химический синтез ангиотензина II в 1961 г. [8] положил начало изучению его физиологических функций. С помощью многочисленных синтетических аналогов гормона удалось выяснить, что природный пептид взаимодействует с рядом рецепторов, расположенных в различных тканях организма млекопитающих, и обладает достаточно широким спектром биологического действия. Имеющийся к настоящему времени материал о физиологической роли ангиотензина II, свойствах его синтетических аналогов и результатах соответствующих биологических испытаний будет обсуждаться нами в третьем сообщении.

В литературе опубликовано большое число работ, посвященных исследованию пространственного строения ангиотензина II в растворе. В них использован практически весь арсенал существующих физико-химических методов: тонкопленочный диализ [9], титрование ионогенных групп [10], водородный обмен [11], все виды оптической и резонансной молекулярной спектроскопии [12—15] и ряд других. Результаты исследований и их интерпретация весьма противоречивы. Разными авторами было предложено большое число существенно отличающихся друг от друга структур ангиотензина II [16]. Каждая из них касается исключительно основной цепи молекулы и удовлетворяет лишь ограниченному кругу экспериментальных данных (см., например, [11, 16—19]). Положение боковых цепей аминокислотных остатков, составляющих большую часть молекулы и формирующих ее конформационное состояние, при обсуждении структуры гормона вообще не рассматривается.

Причины малой эффективности физико-химических методов исследования пространственного строения олигопептидов достаточно подробно были рассмотрены ранее [2]. Отметим лишь одну из них. Она связана с тем, что для изучения структурно-функциональной организации этих соединений недостаточно знания лишь самой выгодной по энергии конформации, как в случае белков, или представления о среднестатистическом конформационном состоянии молекулы, как в случае синтетических пептидов. Здесь требуется количественная оценка геометрических параметров ряда структур, их конформационных возможностей и вероятности реализации в различных условиях. Получение такой информации находится за пределами чувствительности и интерпретационных возможностей физико-химических методов. Более того, из-за сложности соединений и недостаточной разработанности физических основ соответствующих явлений ни один

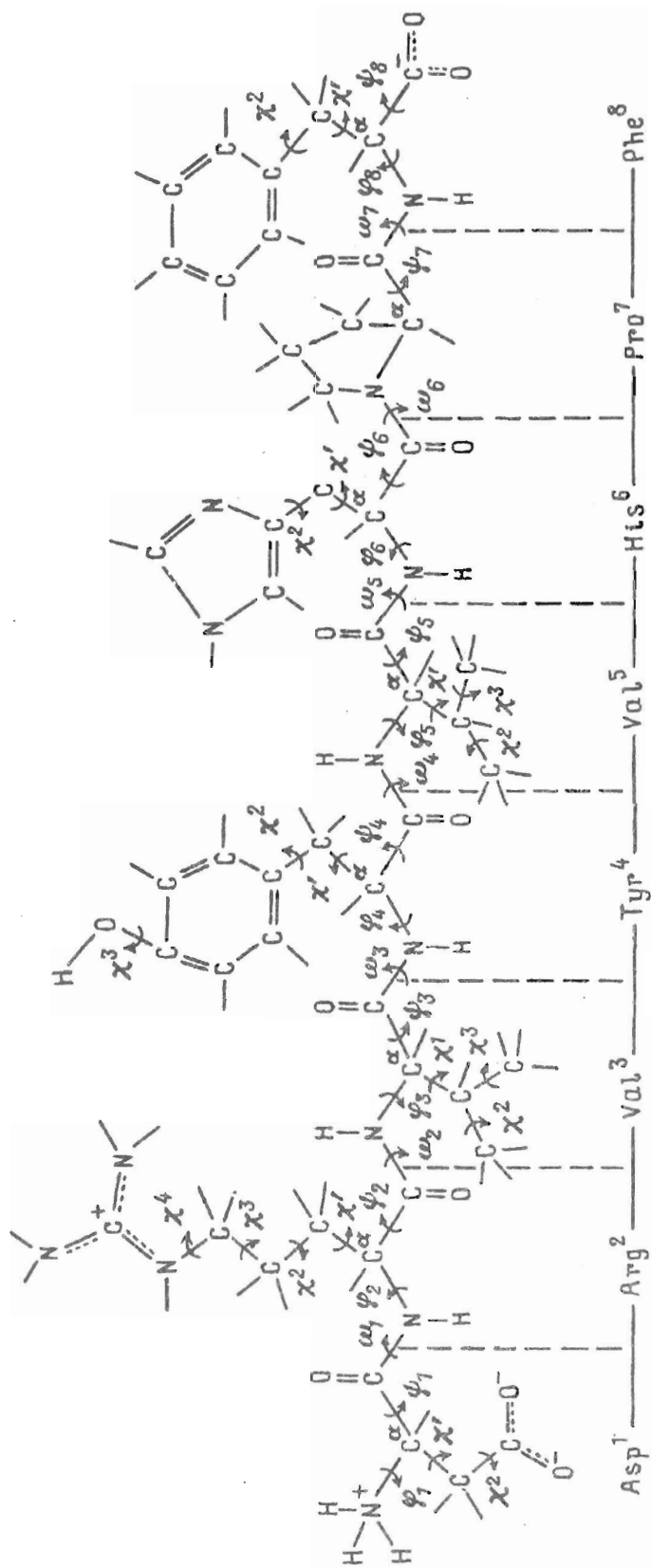


Рис. 1 Расчетная модель молекулы ангиотензина II

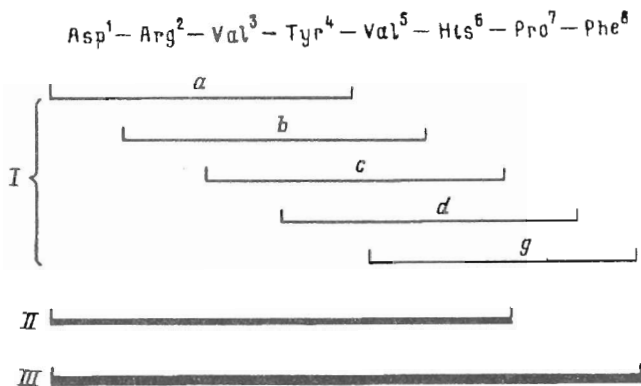


Рис. 2. Схема конформационного анализа молекулы ангиотензина II

из методов пока не позволяет однозначно и достаточно полно описать даже одно, пусть доминирующее в растворе, конформационное состояние пептида, используя для этого лишь результаты собственных измерений.

К решению этих задач привлечен полуэмпирический метод конформационного анализа. Однако и здесь полученные результаты весьма скромны. Из сопоставления имеющихся в литературе многочисленных расчетных данных о конформационных возможностях ангиотензина II следует, что предложенные для гормона наборы низкоэнергетических структур существенно отличаются друг от друга. Именно это обстоятельство побудило нас предпринять собственное исследование структурной организации молекулы этого соединения. К обсуждению опубликованных работ по теоретическому конформационному анализу октапептидного гормона мы вернемся в заключительной части настоящего сообщения.

**Методы расчета и обозначения.** Структурная организация молекулы ангиотензина II исследована на основе развитых в работах [2, 20] конформационной теории и соответствующего расчетного метода в предположении жесткой валентной схемы, представленной на рис. 1. Конформационные возможности октапептидного гормона определяются 41 значением двугранных углов вращения вокруг связей основной цепи ( $\varphi, \psi, \omega$ ) и боковых цепей ( $\chi^1, \chi^2, \dots$ ). Используемые в расчете потенциальные функции и полуэмпирические параметры для оценки невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и водородных связей указаны в работах [21, 22]. В расчете и при изложении результатов использована предложенная в сообщениях [2, 20, 22] естественная классификация пептидных структур по трем уровням пространственной организации: конформации, форме и шейпу основной цепи.

Для обозначения конформации применена система идентификаторов, согласно которой конформационное состояние каждого остатка определяется через  $X_{ij}^n$ , где  $X$  характеризует форму основной цепи остатка ( $R, B, L, P$ ),  $n$  — номер остатка в последовательности, а символы  $ij\dots = 11\dots, 12\dots, 13\dots, 21\dots$  и т. д. отвечают положениям боковой цепи ( $\chi^1, \chi^2, \dots$ ); индекс 1 соответствует значениям углов в области  $0-120$ , индекс 2 — области  $120 - -120$ , а индекс 3 — области  $120 - 0^\circ$ . Кроме формы основная цепь характеризуется еще шейпом или структурным типом, описываемым сочетанием символов  $f$  и  $e$ , которые обозначают соответственно свернутую и развернутую конфигурацию виртуальных связей  $C_{i-1}^\alpha - C_i^\alpha - C_{i+1}^\alpha - C_{i+2}^\alpha$ . Количественно конфигурация определяется виртуальным углом вращения вокруг связи  $C_i^\alpha - C_{i+1}^\alpha$ ,  $\theta = \psi_i + \varphi_{i+1}$ . Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют общепринятой номенклатуре [23].

Конформационный анализ октапептидного гормона был разбит на три этапа (рис. 2). Первый включал в себя независимый расчет пяти перекрывающихся

Энергетическое распределение оптимальных конформаций тетрапептидных фрагментов а — g ангиотензина II (рис. 2)

Тетрапептиды	Шейп	$\Delta U$ , ккал/моль				Тетрапептиды	Шейп	$\Delta U$ , ккал/моль			
		0—2	2—4	4—6	6			0—2	2—4	4—6	6
a	eee	1	12	9	4	a	eff	—	1	2	9
b		3	11	1	8	b		—	—	—	4
c		7	4	—	—	c		—	4	—	—
d		5	1	—	2	d		—	—	—	—
g		4	8	—	—	g		—	—	—	—
a	eef	—	2	1	4	a	fef	—	2	2	3
b		—	—	1	5	b		—	—	—	5
c		—	2	2	2	c		—	1	2	—
d		—	—	—	—	d		—	—	—	—
g		6	4	2	—	g	ffe	6	3	2	1
a	efe	2	2	2	1	a		3	4	2	1
b		2	4	—	2	b		—	4	3	—
c		3	—	—	—	c		2	1	1	—
d		4	—	1	3	d		—	8	3	1
g		—	—	—	—	g		—	—	—	—
a	fee	1	3	1	1	a	fff	—	3	9	22
b		—	1	2	—	b		—	1	4	27
c		3	3	—	—	c		3	2	4	1
d		—	4	—	2	d		—	—	—	—
g		4	4	3	1	g		—	—	—	—

по трем аминокислотным остаткам тетрапептидных фрагментов (а — g). Второй этап заключался в расчете гексапептидного фрагмента Asp<sup>1</sup> — His<sup>6</sup>, а третий — в расчете всей молекулы ангиотензина.

*Тетрапептидные фрагменты.* Нулевые приближения фрагментов формировались из низкоэнергетических конформационных состояний свободных молекул метиламидов N-ацетил-L-аминокислот [2, табл. 8]. Первоначально учитывались только R- и B-формы остатков. Всего для минимизации энергии при варьировании двугранных углов  $\varphi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$  и  $\chi$  было составлено 109 исходных структурных вариантов фрагмента а, 78 — фрагмента b, 47 — с, 34 — d и 48 — g. Результаты минимизации в виде энергетического распределения конформаций пяти тетрапептидов по шейпам представлены в табл. 1.

Для изолированных фрагментов а, b и с реальны конформации всех шейпов пептидного скелета. У фрагментов d и g имеется ограничение, уменьшающее число возможных шейпов в 2 раза. Оно связано с наличием в последовательности остатка Pro, что, как известно [24—26], практически запрещает для предшествующего остатка (если он не глицин) реализацию формы R. Поэтому дипептидный участок His<sup>6</sup>-Pro<sup>7</sup> во фрагментах d и g в состоянии принимать только формы развернутого шейпа. Среди рассчитанных конформаций свободных тетрапептидных фрагментов ангиотензина существенной энергетической дифференциации по типам основной цепи не наблюдается. В связи с этим в расчете гексапептида Asp<sup>1</sup> — His<sup>6</sup> допускались конформации всех 32 шейпов, в принципе возможных для фрагмента такой длины.

*Гексапептидный фрагмент Asp<sup>1</sup> — His<sup>6</sup>.* Начальные приближения были составлены из конформационных состояний четырех тетрапептидных фрагментов а — d, энергия которых не превышала 7,0 ккал/моль. Сначала они включали

Энергетическое распределение оптимальных конформаций гексапептидного фрагмента ангиотензина II (рис. 2)

Шейп	$\Delta U$ , ккал/моль					Шейп	$\Delta U$ , ккал/моль				
	0—2	2—4	4—6	6—8	8		0—2	2—4	4—6	6—8	8
<i>eeee</i>	—	—	1	6	6	<i>eeff</i>	—	2	—	—	8
<i>eeef</i>	—	—	—	3	10	<i>effe</i>	—	—	—	—	8
<i>eeefz</i>	—	—	2	4	4	<i>fffe</i>	—	2	2	—	5
<i>efee</i>	1	2	—	4	11	<i>efeff</i>	—	—	2	1	2
<i>efeee</i>	—	—	—	6	3	<i>effef</i>	—	—	—	—	3
<i>feeee</i>	—	—	—	3	3	<i>feeff</i>	—	—	—	1	3
<i>eeeff</i>	—	—	—	2	6	<i>fefef</i>	—	1	3	1	8
<i>eeffe</i>	—	—	—	—	10	<i>felfe</i>	—	—	—	—	7
<i>effee</i>	—	—	1	1	4	<i>ffeef</i>	—	—	—	—	3
<i>ffeee</i>	—	—	1	2	2	<i>ffefe</i>	—	—	1	—	3
<i>eefef</i>	—	—	2	3	6	<i>effff</i>	—	—	—	—	6
<i>efef</i>	—	—	—	—	5	<i>ffife</i>	—	—	—	—	3
<i>feef</i>	—	—	—	1	3	<i>fffej</i>	—	1	1	1	9
<i>efefe</i>	—	1	—	5	4	<i>ffeff</i>	—	—	—	1	4
<i>feefe</i>	—	—	—	1	2	<i>fefff</i>	—	2	1	1	3
<i>fefee</i>	2	1	2	5	9	<i>iffff</i>	—	—	—	—	12

только *R*- и *B*-формы остатков. Минимизация энергии исходных структур выполнена при варьировании двугранных углов  $\varphi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$  и  $\chi$  (рис. 1). Наиболее низкоэнергетические варианты всех шейпов затем были воспроизведены с учетом всех *R*-, *B*- и *L*- форм остатков и вновь проминимизированы. Предварительно для уточнения ориентации боковой цепи остатка  $\text{Arg}^2$  (ранее у него варьировались лишь углы  $\chi^1$  и  $\chi^2$ , а  $\chi^3$  и  $\chi^4$  принимались равными  $180^\circ$ ) в низкоэнергетических конформациях гексапептида строились карты потенциальной поверхности  $\chi^3 - \chi^4$ . Окончательное энергетическое распределение по шейпам рассмотренной 261 пространственной структуры фрагмента  $\text{Asp}^1 - \text{His}^6$  представлено в табл. 2.

Расчет показал, что при соединении четырех конформационно весьма лабильных тетрапептидов (a, b, c и d) в единый фрагмент имеет место заметная дифференциация. Лишь некоторые из лучших конформационных состояний четырех тетрапептидов оказываются комплементарными друг другу и в структурной организации гексапептида образуют комбинации, обладающие дополнительным стабилизирующим эффектом. Из 261 рассчитанной конформации в интервал 0—2,0 ккал/моль попадает только 3, а в интервал 0—4,0 ккал/моль — лишь 14. Для дальнейшего анализа были отобраны структурные варианты всех шейпов, энергия которых не превышала 7,0 ккал/моль. Их оказалось 19. Последующий расчет показал, что можно было ограничиться набором конформаций с энергией, не превышающей 4,0 ккал/моль.

Молекула ангиотензина II. Низкоэнергетические конформационные состояния N-концевого гексапептидного участка (табл. 2) и тетрапептидных фрагментов d и g (табл. 1) составили 55 исходных структурных вариантов гормона. После минимизации энергии в интервал 0—8,0 ккал/моль попали 14 конформаций, представленных в табл. 3.

Первые четыре структуры с  $\Delta U = 0 - 4,0$  ккал/моль составляют группу А. Для них характерна жесткая нуклеация типа *fef* центрального участка молекулы при относительной подвижности N- и C-концевых дипептидных фрагментов. На рис. 3 показаны шейпы пептидных скелетов этих структур и пути их взаимной



Относительная энергия ( $\Delta U$ ) и энергетические вклады невалентных ( $U_{\text{нв}}$ ), электростатических ( $U_{\text{эл}}$ ) и торсионных ( $U_{\text{торс}}$ ) взаимодействий предпочтительных оптимальных конформаций молекулы ангиотензина II

Группа	Номер конформации	Шейп	Конформация	$\Delta U$	$U_{\text{нв}}$	$U_{\text{эл}}$	$U_{\text{торс}}$
A	1	$fe$ / $ef$	$R_{23}B_{12}R_{222}B_{212}R_{122}B_{31}R$ $R_{11}$	0	-38,4	-3,5	4,2
	2	$ff$ \ / $ef$	$R_{23}R_{3222}R_{222}B_{212}R_{122}B_{31}R$ $R_{11}$	0,9	-41,4	-0,9	5,5
	3	$ff$ / $fee$ \ / $ee$	$R_{21}R_{3222}R_{222}B_{212}R_{122}B_{31}B$ $B_{31}$	3,5	-38,0	-1,4	5,2
	4	$fe$ / $ee$ \ / $ef$	$R_{23}B_{12}R_{222}B_{212}R_{122}B_{31}B$ $B_{31}$	4,0	-36,7	-0,3	3,1
B	1	$ff$ \ / $ee$	$R_{23}R_{3222}R_{222}B_{212}B_{222}B_{11}B$ $B_{31}$	3,5	-38,4	0,9	3,2
	2	$ee$ \ / $ee$	$B_{21}B_{1222}R_{222}B_{212}B_{222}B_{11}B$ $B_{31}$	3,7	-36,7	0,3	3,1
	3	$fe$ \ / $ee$	$R_{21}B_{1222}R_{222}B_{212}B_{222}B_{11}B$ $B_{31}$	4,4	-36,8	0,5	3,0
	4	$ee$ \ / $ef$	$B_{21}B_{1222}R_{222}B_{212}B_{222}B_{11}R$ $R_{11}$	4,6	-36,3	-1,1	4,3
	5	$fe$ / $ef$ \ / $ee$	$R_{23}B_{1222}R_{222}B_{212}B_{222}B_{11}R$ $R_{11}$	6,0	-36,0	0,1	4,1
	6	$ef$ / $ee$ \ / $ef$	$B_{11}R_{2122}R_{222}B_{212}B_{222}B_{11}B$ $B_{31}$	7,0	-34,1	0,8	2,6
C	1	$ff$ - $efe$ - $ee$	$R_{23}R_{3222}B_{122}R_{312}B_{222}B_{11}B$ $B_{31}$	7,5	-33,2	0,2	2,8
D	1	$ff$ - $eee$ - $ee$	$R_{23}R_{3222}B_{222}B_{112}B_{222}B_{11}B$ $B_{31}$	7,8	-33,7	0,7	3,2
E	1	$fe$ - $fff$ - $ef$	$R_{23}B_{1222}R_{222}R_{312}R_{222}B_{31}R$ $R_{11}$	7,8	-32,0	-0,3	2,3
F	1	$ef$ - $eff$ - $ef$	$B_{23}R_{2122}B_{122}R_{312}R_{222}B_{31}R$ $R_{11}$	8,0	-35,9	2,4	3,8

Примечание. Энергия водородных связей входит в  $U_{\text{нв}}$ .

конверсии. Все изменения конформационных состояний основной цепи ангиотензина в пределах группы А осуществляются через вращения вокруг связи  $C^{\alpha} - C'$  остатка  $Arg^2$  или  $Pro^7$ , точнее, через низкоэнергетические переходы  $R \rightleftharpoons B$  путем изменения соответствующего угла  $\psi$  на  $180^\circ$  [2].

Следующие шесть конформаций с относительно невысокой энергией ( $\Delta U = 3,5 - 7,0$  ккал/моль), объединенные в группу В, также имеют структуру центрального участка  $Val^3 - Pro^6$ . Она принадлежит шейпу  $fee$  и отличается от структуры этого участка в предшествующих конформациях состоянием лишь одного остатка ( $Val^5$ ). Переход между представителями групп А и В низкоэнергетичен и сводится к изменению двугранного угла  $\psi$ , (рис. 4). При этом боковая цепь остатка  $His^6$  удаляется от бензольного кольца боковой цепи остатка  $Tyr^4$ , что приводит к небольшой ( $\sim 1,0$  ккал/моль) дестабилизации конформаций группы В относительно А. Шейпы шести низкоэнергетических конформаций группы В и пути перехода их друг в друга показана на рис. 5.

Лучшие конформации групп С, D, E, F (табл. 3) заметно уступают по энергии конформациям групп А и В. Они менее компактны и проигрывают прежде всего по энергии невалентных взаимодействий. Следующие представители этих групп имеют энергию, превышающую 10 ккал/моль.

Итак, спектр энергетического распределения оптимальных конформаций ангиотензина II состоит из нескольких основных уровней (А, В, С, ...), определяемых конформационными состояниями центрального фрагмента  $Val^3 - His^6$ , и сравнительно небольшого числа подуровней, различающихся конформационными состояниями лабильных N- и C-концевых дипептидов; первый может принимать пространственные формы всех возможных типов ( $ee$ ,  $ef$ ,  $fe$ ,  $ff$ ), а второй — только двух ( $ee$ ,  $ef$ ). Распределение конформаций в каждом семействе по энергии в

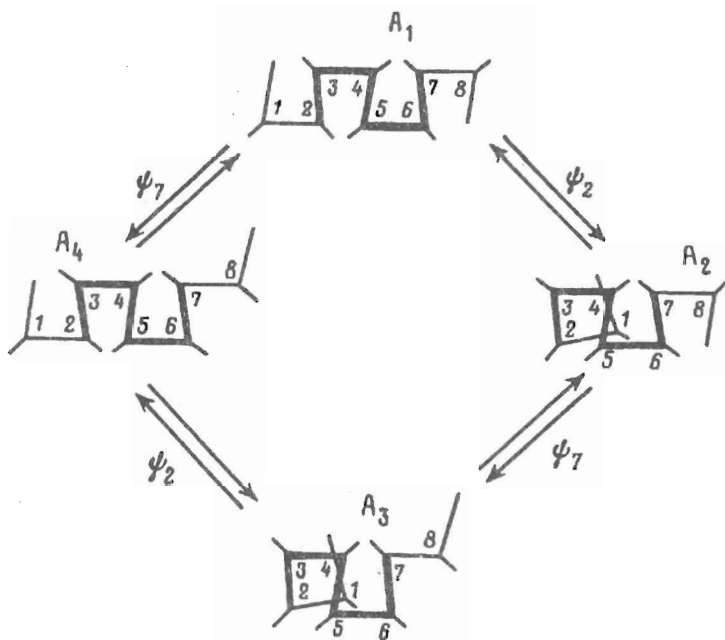


Рис. 3. Шейки и пути взаимных переходов низкоэнергетических конформаций группы А (табл. 3)

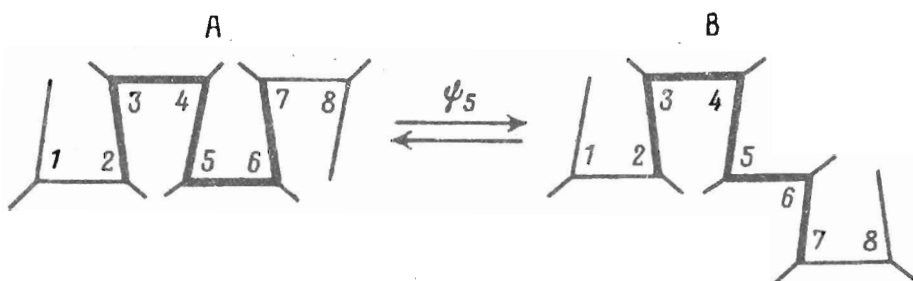


Рис. 4. Взаимный переход конформаций групп А и В (табл. 3)

наибольшей мере зависит от числа и эффективности стабилизирующих контактов между остатками лабильных и жестких фрагментов.

Из сопоставления представленных в табл. 3 энергетических вкладов от невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий в низкоэнергетические конформации молекулы ангиотензина следует, что решающее значение в стабилизации пространственной структуры имеют невалентные, главным образом дисперсионные, взаимодействия или, иными словами, плотность упаковки аминокислотной последовательности. Между величинами  $\Delta U$  и  $\Delta U_{\text{нв}}$  четкой корреляции нет, хотя тенденции в их изменении аналогичны. Конформации А в среднем компактнее В ( $U_{\text{нв}}^A = -38,6$ , а  $U_{\text{нв}}^B = -36,4$  ккал/ммоль) и тем более С, D.

Более детальное представление о факторах, стабилизирующих конформации семейств А и В, дают треугольные матрицы энергии межостаточных взаимодействий (табл. 4, 5). Их можно разделить на две субматрицы — константную, отвечающую конформационно жесткой нуклеации центрального тетрапептидного фрагмента (в табл. 4, 5 она обведена), и переменную, зависящую от ориентаций лабильных N- и С-концевых дипептидных участков. Геометрия и

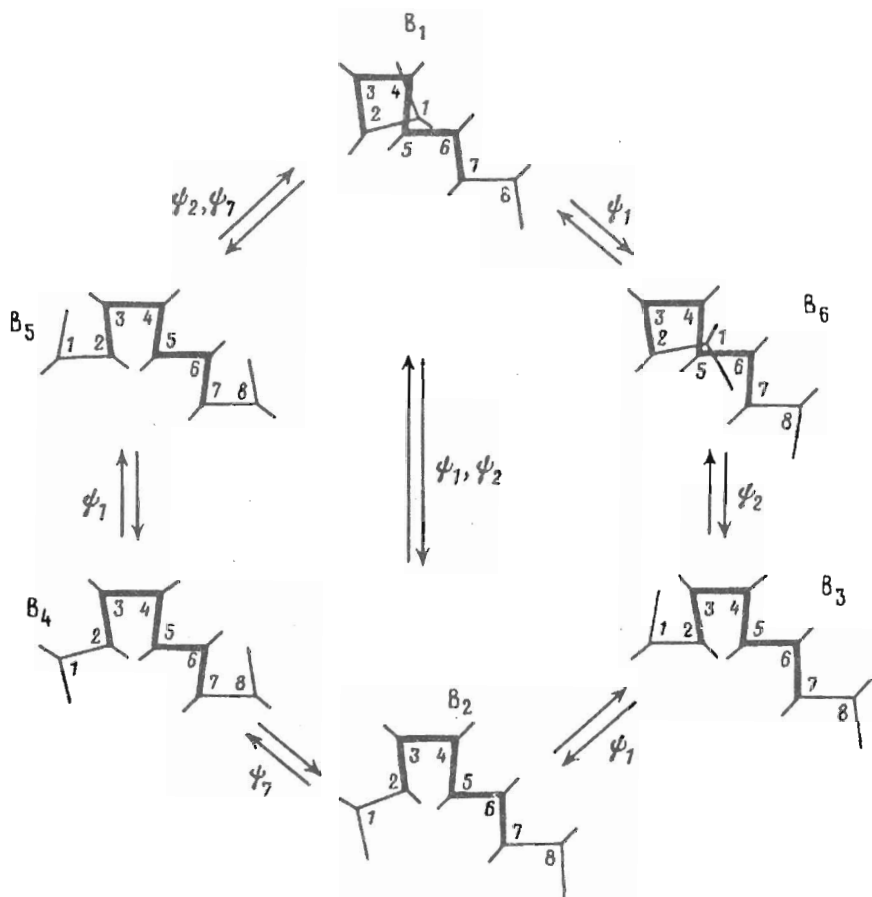


Рис. 5. Шейпы и пути взаимных переходов низкоэнергетических конформаций группы В (табл. 3)

энергия фрагмента Val<sup>3</sup> — His<sup>6</sup> практически постоянны в конформациях каждой группы. В семействе А энергия стабилизации равна  $\sim -12,0$  ккал/моль, а в В — примерно  $-10,0$  ккал/моль. Изменение при переходе от структуры фрагмента *fef* (А) к *fee* (В) обусловлено ослаблением взаимодействий между остатками His<sup>6</sup>, с одной стороны, и Val<sup>5</sup>, Tyr<sup>4</sup> — с другой. Различия в энергии конформаций в пределах каждой группы определяются состояниями концевых дипептидов и их расположением относительно центрального тетрапептида.

Самая выгодная по энергии конформация А<sub>1</sub> имеет вытянутую зигзагообразную форму (рис. 3); расстояние между концевыми атомами N и C составляет 15,1 Å. Наибольший вклад в стабилизацию А<sub>1</sub> вносит остаток Arg<sup>2</sup>. Энергия его взаимодействий с другими остатками молекулы равна  $-25,5$  ккал/моль (табл. 4). Боковая цепь аргинина образует две водородные связи с карбоксильной группой Asp<sup>1</sup> и карбонильной группой Val<sup>5</sup>. Боковая цепь Asp<sup>1</sup> ориентирована в среду и электростатически взаимодействует лишь с положительно заряженной гуанидиновой группой Arg<sup>2</sup>, ее взаимодействие с остальной частью молекулы составляет всего 0,8 ккал/моль и имеет к тому же дестабилизирующий характер.

Конформация А<sub>2</sub> с  $\Delta U = 0,9$  ккал/моль отличается от конформации А<sub>1</sub> состояниями основной и боковой цепи Arg<sup>2</sup>. Изменение двугранного угла  $\psi_2$  этого остатка сближает концевые атомы N и C' до 6,1 Å и ведет к переориентации боковой цепи Arg<sup>2</sup>. В конформации А<sub>2</sub> она ориентирована в сторону от молекулы

Совмещенные треугольные матрицы энергий внутри- и межостаточных взаимодействий валентно не связанных атомов (ккал/моль) в конформациях  $A_1$  и  $A_2$  (см. табл. 3) (верхняя и нижняя строки соответственно)\*

	Asp <sup>1</sup>	Arg <sup>2</sup>	Val <sup>3</sup>	Tyr <sup>4</sup>	Val <sup>5</sup>	His <sup>6</sup>	Pro <sup>7</sup>	Phe <sup>8</sup>
Asp <sup>1</sup>	0,1	-11,5	-0,2	0,2	0,1	0,1	0	0,6
Arg <sup>2</sup>	-1,8	-5,1	-0,8	-3,3	-0,4	-2,4	-2,3	-1,2
		0,4	-1,7	-2,7	-3,2	-1,2	-2,3	-2,9
Val <sup>3</sup>		-0,4	-0,9	-1,1	-0,1	-0,4	-0,1	-1,9
			0,5	-1,2	-0,4	-0,1	0	-0,1
Tyr <sup>4</sup>			0,5	-1,2	-0,4	-0,1	0	-0,1
				1,6	-3,3	-4,8	-0,4	-0,3
Val <sup>5</sup>				1,6	-3,3	-4,6	-0,3	-0,9
					0,9	-1,8	-0,9	-0,1
His <sup>6</sup>					0,9	-2,1	-0,5	-0,1
						-0,1	-2,5	-4,9
Pro <sup>7</sup>						0,2	-3,8	-5,2
							0,1	-1,7
Phe <sup>8</sup>							0,2	-2,4
								1,4
								1,7

\* Обведена константная субматрица.

и лишь слабо взаимодействует с другими остатками, за исключением остатка Asp<sup>1</sup> (соответственно -4,5 и -5,1 ккал/моль; табл. 4). Остаток Asp<sup>1</sup>, напротив, обретает многочисленные стабилизирующие контакты, суммарный эффект которых составляет -15,5 ккал/моль. В частности, две его группы NH образуют водородные связи с группами CO остатков Tyr<sup>4</sup> и His<sup>6</sup>.

Конформация  $A_2$  имеет самую низкую энергию невалентных взаимодействий ( $U_{нв} = -41,4$  ккал/моль; табл. 3) и, следовательно, наиболее компактна. Однако она менее предпочтительна, чем  $A_1$  и некоторые другие конформации, по энергии электростатических взаимодействий. Это обстоятельство делает поведение структур  $A_1$  и  $A_2$  альтернативным по отношению к природе окружения. Как известно, переход от полярной среды к неполярной сопровождается усилением водородных связей и электростатических взаимодействий. Поэтому конформационное равновесие ангиотензина II  $A_1 \rightleftharpoons A_2$  будет смещено в сильно полярной среде в сторону структуры  $A_2$  со свободной боковой цепью Arg<sup>2</sup>, а в неполярной среде — в сторону структуры  $A_1$  со свободной боковой цепью Asp<sup>1</sup>.

Группа В представлена шестью конформациями, энергия которых не превышает 8,0 ккал/моль. Четыре из них практически изоэнергетичны ( $\Delta U = 3,5 - 4,6$  ккал/моль). Остановимся на описании конформации  $B_1$  и  $B_2$  (рис. 5, табл. 3), отношения между которыми аналогичны отношениям  $A_1$  и  $A_2$ . Они также отличаются друг от друга только состояниями N-концевого дипептида, близки по энергии и по тем ролям, которые играют остатки Asp<sup>1</sup> и Arg<sup>2</sup> в структурной стабилизации. В конформации  $B_1$  первые четыре остатка образуют виток  $\alpha$ -спирали, сближающий остаток аспарагиновой кислоты с центральной частью молекулы. В этом положении боковая цепь остатка Asp<sup>1</sup> в состоянии эффективно взаимодействовать почти со всеми звеньями цепи. Его группа NH образует водородную связь с карбонильной группой остатка Tyr<sup>4</sup>. Общий вклад Asp<sup>1</sup> в энергию межостаточных взаимодействий составляет -14,1 ккал/моль (табл. 5).

Совмещенные треугольные матрицы энергий внутри- и межостаточных взаимодействий валентно не связанных атомов (ккал/моль) в конформациях  $V_1$  и  $V_2$  (см. табл. 3) (верхняя и нижняя строки соответственно) \*

	Asp <sup>1</sup>	Arg <sup>2</sup>	Val <sup>3</sup>	Tyr <sup>4</sup>	Val <sup>5</sup>	His <sup>6</sup>	Pro <sup>7</sup>	Phe <sup>8</sup>
Asp <sup>1</sup>	-1,9	-5,5	-0,9	-2,9	-0,4	-2,6	-0,1	-1,7
Arg <sup>2</sup>	-0,5	-2,6	-0,2	0,1	0	0	0	-0,1
		-0,5	-0,7	-1,1	-0,1	-0,4	0	-1,6
Val <sup>3</sup>		-0,1	-1,8	-2,5	-3,0	-5,4	-0,3	-6,1
			0,5	-1,2	-0,6	0	0	0
Tyr <sup>4</sup>			0,4	-1,1	-0,5	-0,1	0	0
				1,2	-3,9	-3,4	-0,1	0,1
Val <sup>5</sup>				1,4	-4,0	-3,5	0	0,3
					0,5	-0,5	-0,4	-0,5
His <sup>6</sup>					0,7	-0,6	-0,5	-0,1
						-0,5	-4,3	-3,7
Pro <sup>7</sup>						-0,5	-4,4	-1,5
							0,2	-1,4
Phe <sup>8</sup>							0,3	-1,7
								0,7
								0,8

\* См. табл. 4.

Остаток же Arg<sup>2</sup>, как и в конформации  $A_2$ , оказывается фактически выключенным из внутримолекулярных взаимодействий. Его боковая цепь направлена в сторону растворителя и образует сравнительно слабые электростатические контакты с отрицательными зарядами Asp<sup>1</sup> и Phe<sup>8</sup>. В конформации  $V_2$  роли Asp<sup>1</sup> и Arg<sup>2</sup> в структурной организации ангиотензина меняются. Первый лишается почти всех межостаточных взаимодействий и обретает конформационную свободу, а второй теряет ее и устанавливает стабилизирующие контакты в пределах всей молекулы (-21,7 ккал/моль). Структура  $V_2$  предпочтительнее структуры  $V_1$  по числу водородных связей и энергии электростатических взаимодействий. Поэтому она может доминировать над  $V_1$  в менее полярных средах или при гидрофобных контактах ангиотензина с рецептором.

Таким образом, решение прямой задачи для ангиотензина II может быть сведено к утверждению, что структурная организация молекулы описывается набором низкоэнергетических, легко переходящих друг в друга конформационных состояний нескольких семейств. Энергетически и энтропийно наиболее предпочтительны состояния семейств А и В. Геометрические параметры их лучших представителей ( $A_1$ ,  $V_1$ ) приведены в табл. 6.

*Экспериментальные данные о структуре ангиотензина.* Естественное желание теоретиков — сопоставить результаты своих расчетов с опытными данными. Однако эта обычно столь простая процедура в данном случае невыполнима по ряду причин принципиального и методологического характера [1]. Существующие физико-химические методы исследования пространственного строения олигопептидов являются не прямыми, а косвенными. Поэтому данные теоретического анализа приходится сравнивать не с непосредственно наблюдаемыми фактами, а с результатами их обработки, которая из-за несовершенства соответствующих теорий неизбежно вносит в трактовку этих фактов элемент субъективности. Возможности используемых методов неадекватны в данном случае самой постановке задачи, заключающейся в определении геометрии ряда конформаций довольно сложной молекулы и в оценке вероятности их реализации в различных

Значения двугранных углов вращения (град.) в конформациях A<sub>1</sub> (верхняя строка) и B<sub>1</sub> (нижняя строка) молекулы ангиотензина II

Остаток	Основная цепь			Боковая цепь			
	$\varphi$	$\psi$	$\omega$	$\chi^1$	$\chi^2$	$\chi^3$	$\chi^4$
Asp <sup>1</sup>	-1	-60	-178	180	-92	-	-
	-50	-60	180	178	-93	-	-
Arg <sup>2</sup>	-151	160	179	61	-179	64	-179
	-86	-35	-176	-60	-178	180	180
Val <sup>3</sup>	-97	-60	179	178	-179	179	-
	-97	-61	-177	179	180	180	-
Tyr <sup>4</sup>	-90	146	-169	170	61	180	-
	-91	44	-176	-175	90	180	-
Val <sup>5</sup>	-61	-38	175	70	179	-175	-
	-99	105	177	180	-179	180	-
His <sup>6</sup>	-85	126	174	-60	102	-	-
	-122	153	174	59	92	-	-
Pro <sup>7</sup>	-60	-31	179	180	180	180	-
	-60	124	-178	180	180	180	-
Phe <sup>8</sup>	-95	-38	-	60	86	-	-
	-96	121	-	-60	92	-	-

условиях. Получение информации в таком объеме, а именно это требуется для последующего изучения структурно-функциональной организации природного пептида, находится за пределами чувствительности и интерпретационных возможностей физико-химических методов [1].

Таким образом, вопрос о правильности решения прямой структурной задачи природного олигопептида не может быть решен путем прямого сопоставления рассчитанных и экспериментальных конформационных параметров. Непротиворечивость результатов теоретического анализа всем имеющимся опытным данным, хотя и является положительным фактором, тем не менее не может служить строгим критерием правильности априорного предсказания конформационных возможностей природных олигопептидных молекул. Отсутствие совпадения, как это ни парадоксально, также не является бесспорным доказательством нереальности результатов расчета (подробнее см. [1]). На сегодняшний день ни один из существующих методов исследования пространственного строения молекул не позволяет однозначно и достаточно полно описать не только весь набор низкоэнергетических конформаций природного олигопептида, но даже одно доминирующее в растворе конформационное состояние молекулы.

Этот вывод следует из анализа экспериментальных данных всех структурных исследований природных олигопептидов, и прежде всего ангиотензина II, изученного наиболее детально и широко.

Рассмотрим сделанные оценки опытным проявлениям молекулярных свойств ангиотензина II и попытаемся на этой основе составить общее представление о характерных особенностях структурной организации гормона, а затем сравнить его с представлением, следующим из теоретического анализа.

Противоречивыми оказались первые же исследования ангиотензина II методом диализа на тонких пленках. В одних работах [27, 28] сделан вывод о том, что молекула гормона в растворе имеет одну компактную форму, а в другой [9] предположено наличие конформационного равновесия двух форм.

Не менее противоречивы выводы разных авторов из кинетических данных

по изотопному замещению протона в водородных связях ангиотензина II. Шерага и сотр. [29] отмечают одинаковую скорость обмена всех амидных протонов, Ленкинский и сотр. [30] говорят об аномально низкой скорости обмена амидного протона His<sup>6</sup>, а Блейх и сотр. [31] выделяют по этой же причине остатки Val<sup>1</sup> и Val<sup>5</sup>. В работе [18] амидные протоны разделены по скорости обмена на три группы, причем к группе с наибольшими скоростями отнесены протоны Asp<sup>1</sup> и Arg<sup>2</sup>. В классификации, предложенной в работе [32], все обменивающиеся протоны разделены на четыре группы. К одной группе отнесены амидные протоны всех остатков ангиотензина II, за исключением Asp<sup>1</sup> и Phe<sup>8</sup>, имеющие, согласно сообщению [32], одинаковую скорость обмена.

По значениям констант диссоциации ионогенных групп гормона, полученных потенциометрическим титрованием [10] и с помощью спектров ЯМР и КД [33], сделан вывод о сближенности N- и C-концевых групп пептидной цепи, допускающей их взаимодействие. Расстояние между группами значительно меньше соответствующего расстояния в случае пребывания ангиотензина в состоянии статистического клубка. В работе [33], кроме того, предположено, что все ионогенные группы доступны растворителю, а имидазольное кольцо остатка His<sup>6</sup> взаимодействует с фенильным кольцом остатка Tyr<sup>4</sup> и удалено от остатка Phe<sup>8</sup>.

Спектры ДОВ и КД, по мнению Ферманджана и сотр. [34, 35], свидетельствуют о наличии в молекуле ангиотензина II антипараллельной  $\beta$ -структуры. Подобным же образом интерпретируются ими колебательные спектры гормона [13].

Ряд работ посвящен исследованию спектров ЯМР ангиотензина II, дающих наибольшую информацию о пространственном строении молекулы. Однако единства в интерпретации экспериментальных данных нет и здесь. Одни авторы [36] считают, что спектры свидетельствуют о существовании ангиотензина II в растворе в одной конформации, имеющей преимущественно вытянутую форму. Другие [37] делают вывод о том, что молекула имеет свернутую форму, в которой ароматические боковые цепи остатков Tyr<sup>4</sup> и His<sup>6</sup> располагаются параллельно друг другу и эффективно взаимодействуют, а карбонильная группа остатка Asp<sup>1</sup> образует водородную связь с аминогруппой остатка Tyr<sup>4</sup>. Изучение времени <sup>13</sup>C-спин-решеточной релаксации привело авторов работы [38] к выводу о наличии большой конформационной подвижности первых двух остатков и отсутствии  $\beta$ -загиба у этой части молекулы. Авторы работы [39], используя тот же метод, пришли к иному заключению. Они считают, что все остатки ангиотензина II, за исключением остатка Tyr<sup>4</sup>, имеют примерно одинаковую конформационную свободу; в наибольшей степени ограничена подвижность боковой цепи остатка Tyr<sup>4</sup>, взаимодействующей с многими остатками молекулы. Вицинальные константы всех остатков ангиотензина II [31, 40, 41] имеют значения, удовлетворяющие любым величинам  $\varphi$ ,  $\psi$  каждого остатка в низкоэнергетических областях R, B и, следовательно, 2<sup>7</sup> комбинациям конформационных состояний остатков в пептидной цепи молекулы.

Всего для молекулы ангиотензина на основе экспериментальных данных, главным образом спектров ЯМР, было предложено семь совершенно различных моделей [16].

Несмотря на существенно различающиеся, а часто взаимоисключающие друг друга трактовки опытных данных, полученные результаты, как нам кажется, позволяют сделать ряд заключений самого общего характера о структурной организации ангиотензина II, не противоречащих всем известным фактам.

Во-первых, пространственное строение ангиотензина II в растворе отвечает плотноупакованной структурной организации молекулы, а не флуктуирующему статистическому клубку.

Во-вторых, среди доминирующих в растворе конформаций гормона имеются структуры, в которых часть пептидной цепи образует виток спирали, или так называемый  $\beta$ -загиб.

В-третьих, сложная сеть внутримолекулярных контактов, стабилизирующих низкоэнергетические конформации ангиотензина II, включает в себя взаимодей-

Количество совпадающих по форме основной цепи низкоэнергетических конформаций, рассчитанных в работах [16, 42—45]

Литературный источник	Де Козл, Ралсон (1977) [42]	Галактионов, Никифорович и др. (1979) [16]	Никифорович, Галактионов, Чипенс (1983) [43]	Марчионини, Мейгзети, Премилла (1983) [44]	Никифорович, Вейстерман и др. (1987) [45]
[42]	10	1	1	2	0
[16]		6	4	0	2
[43]			5	0	2
[44]				5	0
[45]					6

ствия боковых цепей ароматических остатков Tyr<sup>4</sup> и His<sup>6</sup> и систему водородных связей.

Напрашивается еще один вывод о структурной организации ангиотензина II, вытекающий из самого факта существования столь противоречивых трактовок, казалось бы, одних и тех же опытных данных. Такой широкий разброс мнений может свидетельствовать, хотя бы отчасти, о наличии в растворе не одной, а ряда близких по энергии пространственных форм молекулы ангиотензина и высокой чувствительности положения конформационного равновесия к изменению внешних условий.

Рассчитанный нами набор низкоэнергетических конформаций октапептидного гормона (табл. 3, 6) полностью соответствует составленному на основе имеющихся опытных данных представлению о его структурной организации. Однако, повторяем, такое совпадение не является достаточно серьезным доводом в пользу результатов теоретического анализа. Позднее, в третьей статье этой серии, посвященной структурно-функциональной организации ангиотензина II, мы приведем более весомые аргументы. А сейчас сравним наши данные с результатами аналогичных расчетов этого же гормона других авторов.

В табл. 7 сопоставлены результаты независимых расчетов пространственного строения ангиотензина II, выполненных разными авторами в разное время [16, 42—45]. Сопоставление показывает, что найденные для одного и того же гормона наборы низкоэнергетических конформаций существенно различаются между собой. Между тем все они, как и результаты нашего расчета, не противоречат данным очень широкого для этого соединения круга экспериментальных исследований. Причины столь значительных расхождений подробно обсуждены в монографии [2]. Поэтому ниже мы кратко отмечаем лишь некоторые особенности подхода С. Г. Галактионова и сотр. [16, 43] к конформационному анализу природных олигопептидов. С нашей точки зрения, он более последователен в решении прямой структурной задачи, чем подходы, использованные в работах [42, 44].

С целью уменьшения числа рассматриваемых конформаций при одновременном расширении критического интервала энергии С. Г. Галактионов и сотр. [16, 43] предварительно рассматривают модели, в которых все аминокислотные остатки, кроме Arg и Pro, заменены остатками аланина. Далее для модельного пептида определяются все возможные оптимальные конформации, лучшие из которых служат затем исходными структурными вариантами основной цепи реального пептида. В основе этой процедуры лежит принципиально неправильное, по нашему мнению, предположение о доминирующем значении основной цепи в определении конформационных возможностей пептидов.

Если бы это было так и составляющая пептидный остов в среднем треть всех атомов действительно детерминировала положения остальных двух третей атомов, принадлежащих боковым цепям, все природные олигопептиды и белки



должны были бы иметь или одинаковые формы основной цепи, или очень ограниченное их количество. Что же касается синтетических олиго- и полипептидов, построенных из остатков глицина и аланина, фактически лишенных боковых цепей, то их пространственное строение в этом случае должно было бы описываться единичными жесткими структурами, а не состоянием статистического клубка, как это имеет место в действительности. Предположение С. Г. Галактионова и сотр. [16, 43] далеко от реальной картины. Вариации пространственных форм основной цепи у белков почти столь же множественны, как и вариации порядка расположения в этой цепи 20 стандартных аминокислотных остатков.

И в первой и во второй стадии расчета, где ведется поиск для выбранных пространственных форм основной цепи оптимальной взаимной ориентации боковых цепей исследуемого пептида, акцент делают главным образом на электростатических взаимодействиях ионогенных групп, считая их главным фактором структурной стабилизации. С этим трудно согласиться, поскольку укладка пептидной цепи в нативную конформацию или (при наличии, как в случае олигопептидов, ряда низкоэнергетических структур) установление конформационного равновесия происходит в водном растворе при физиологических условиях, препятствующих эффективному электростатическому взаимодействию, почти полностью сводя его на нет ( $\epsilon = 81$ ).

Характерная особенность всех теоретических исследований пространственного строения ангиотензина II [16, 42—45] — отсутствие какой-либо классификации конформационных состояний молекулы, не говоря уже о такой, которая была бы обоснована с физической точки зрения и охватывала все возможные структурные варианты, систематизированные в соответствии с субординационными взаимоотношениями по таксономическим категориям. Отсутствие классификации — объективный признак отсутствия должного понимания самых существенных свойств изучаемых соединений, определяющих их единство и различие. Без структурной классификации, четко сформулированных принципов общей теории и физической модели (также отсутствующих в обсуждаемых работах) невозможен объективный выбор конформационных состояний. Все оценки оптимальных конформаций в расчетах Галактионова, Шераги, Де Коэна и сотр. выполнены на основе относительных величин общей энергии, без количественного анализа вкладов от отдельных внутри- и межкостаточных взаимодействий в структурных вариантах всевозможных форм различных типов основной цепи. Поэтому результаты расчетов [16, 42—45] не гарантированы ни от случайных пропусков, ни от неправильных оценок полученных данных. Подтверждением такому заключению является табл. 7.

Все структуры, найденные в обсуждаемых работах для ангиотензина II, автоматически входили в процедуру нашего расчета, но не попали в окончательный набор конформаций (табл. 3), так как оказались менее предпочтительными по энергии. В то же время найденные нами низкоэнергетические конформации молекулы вообще оказались не замеченными авторами работ [16, 42—45].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попов Е. М. // Молекулярн. биология. 1985. Т. 19. № 4. С. 1107—1138.
2. Попов Е. М. Структурная организация белков. М.: Наука, 1989. 352 с.
3. Попов Е. М. // Биооргани. химия. 1992. Т. 18. № 9. С. 1229—1244.
4. Спасов В. С., Попов Е. М. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 1. С. 25—44; № 4. С. 502—514.
5. Попов Е. М., Севастьянова И. Н. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 10. С. 1478—1486.
6. Попов Е. М. // Молекулярн. биология. 1977. Т. 11. № 1. С. 5—41.
7. Попов Е. М., Годжаев Н. М., Алиев Р. Э. // Молекулярн. биология. 1986. Т. 20. № 2. С. 367—387.
8. Arakawa K., Bumpus F. M. // J. Amer. Chem. Soc. 1961. V. 83. № 3. P. 728—732.
9. Ferreira A. T., Hampe O. G., Paiva A. C. M. // Biochemistry. 1969. V. 8. № 8. P. 3483—3487.
10. Juliano L., Paiva A. C. M. // Biochemistry. 1974. V. 13. № 11. P. 2445—2450.
11. Glickson J. D., Cunningham W. D., Marshall G. R. // Biochemistry. 1973. V. 12. № 19. P. 3684—3692.

12. *Smeby R. R., Acha K., Bumpus F. M., Harsh M. M.*//Biochim. et biophys. acta. 1962. V. 58. № 3. P. 550—557.
13. *Fernandjan S., Fromageot P., Tishechenko A. M., Leicham J. P., Lutz M.*//Eur. J. Biochem. 1972. V. 28. № 2. P. 174—182.
14. *Matsoukas J. M., Moore G. J.*//Spectr. Lett. 1988. V. 21. № 5. P. 477—491.
15. *Matsoukas J. M., Moore G. J.*//Arch. Biochem. and Biophys. 1986. V. 248. № 1. P. 419—423.
16. *Галактионов С. Г., Никифорович В. Н., Чупенс Г. И., Шендерович М. Д.* Ангиотензин. Молекулярные механизмы действия. Рига: Зинатне, 1979. 186 с.
17. *Regoli D., Park W. K., Rioux F.*//Pharm. Rev. 1974. V. 26. № 2. P. 69—123.
18. *Printz M. P., Williams H. P., Craig L. C.*//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1972. V. 69. № 2. P. 378—382.
19. *Nabedryck-Viala E., Thiery C., Calvest P., Fernandjan S.*//FEBS Lett. 1975. V. 58. № 1. P. 273—276.
20. *Popov E. M.*//Int. J. Quant. Chem. 1979. V. 16. № 4. P. 707—737.
21. *Akhmedov N. A., Akhverdieva G. A., Godjaev N. M., Popov E. M.*//Int. J. Peptide and Protein Res. 1986. V. 27. № 1. P. 95—111.
22. *Попов Е. М.*//Физика молекул. Т. 8. Киев: Наук. думка, 1980. С. 69—113.
23. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature//Biochim. et biophys. acta. 1971. V. 262. № 5. P. 1—17.
24. *Schimmel P. R., Flory P. J.*//J. Mol. Biol. 1968. V. 34. № 1. P. 105—120.
25. *Scheraga H. A.*//Adv. Phys. and Org. Chem. 1968. V. 6. № 1. P. 103—184.
26. *Попов Е. М., Липкин Г. М., Архунова С. Ф.*//Изв. АН СССР. Сер. хим. 1971. № 2. С. 312—319.
27. *Craig L. C., Harfenist E. J., Palladini A. C.*//Biochemistry. 1964. V. 3. № 6. P. 764—769.
28. *Franze de Fernandez M. T., Delius A. E., Palladini A. C.*//Biochim. et biophys. acta. 1968. V. 154. № 1. P. 223—225.
29. *Paiva T. B., Paiva A. C. M., Scheraga H. A.*//Biochemistry. 1963. V. 2. № 6. P. 1327—1334.
30. *Lenkinski R. E., Stephens R. L., Krishna N. R.*//Biochim. et biophys. acta. 1981. V. 667. № 1. P. 157—167.
31. *Bleich H. E., Galardy R. E., Printz M. P.*//J. Amer. Chem. Soc. 1973. V. 95. № 6. P. 2041—2042.
32. *Marshall G. R.*//Biochemistry. 1973. V. 12. № 1. P. 19—25.
33. *Lintner K., Fernandjan S., Fromageot P., Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M.*//FEBS Lett. 1975. V. 56. № 2. P. 366—369.
34. *Fernandjan S., Morgat J. L., Fromageot P.*//Eur. J. Biochem. 1971. V. 24. № 2. P. 252—258.
35. *Grefit D., Fernandjan S., Fromageot P., Khosla M. C., Smeby R. R., Bumpus F. M.*//Eur. J. Biochem. 1976. V. 61. № 1. P. 297—305.
36. *Секацис И. П., Анцанс Ю. А., Бисенице Д. А., Чупенс Г. И.*//Изв. АН СССР. Сер. хим. 1988. № 4. С. 478—486.
37. *Bumpus F. M.*//Fed. Proc. 1977. V. 36. № 8. P. 2128—2132.
38. *Секацис И. П., Липиньш Э. Э., Анцанс Ю. Е., Берга А. А., Чупенс Г. И.*//Биоорган. химия. 1981. Т. 7. № 7. С. 971—979.
39. *Deslauriers R., Paiva A. C. M., Schaumburg K., Smith J. C. P.*//Biochemistry. 1975. V. 14. № 5. P. 878—886.
40. *Glickson J. D., Dadok J., Marshall G. R.*//Biochemistry. 1974. V. 13. № 1. P. 11—14.
41. *Marshall G. R., Bosshard W. H., Glickson J. D.*//Nature. New Biol. 1973. V. 245. № 1. P. 125—127.
42. *De Coen J. L., Ralson E.*//Biopolymers. 1977. V. 16. № 8. P. 1929—1943.
43. *Никифорович Г. В., Галактионов С. Г., Чупенс Г. И.* Конформации пептидных биорегуляторов. М.: Медицина, 1983. 190 с.
44. *Marchionini C., Maigzet B., Premilat S.*//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1983. V. 112. № 1. P. 339—346.
45. *Nikiforovich G. V., Vesterman B., Betins J., Podins L.*//J. Biomol. Structure and Dynamics. 1987. V. 4. № 6. P. 1119—1135.

Поступила в редакцию  
3.VI.1992

После доработки  
22.XII.1992

*T. V. Gogitidze, E. M. Popov*

**STRUCTURE-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF ANGIOTENSIN II.  
I. THE DIRECT STRUCTURAL PROBLEM**

*Russian Institute for Food Industry, Moscow*

Conformational energy calculations were carried out for angiotensin II. Its spatial structure can be described by two groups of low-energy conformations. The values of all dihedral angles of the backbone and side chains as well as intra- and inter-residual interaction energies were calculated for all potential physiologically active conformations.