



УДК 547.963:541.6

© 1993 Т. В. Гогитидзе, Е. М. Попов

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЫ
АНГИОТЕНЗИНА II
II. ОБРАТНАЯ СТРУКТУРНАЯ ЗАДАЧА

Всероссийский заочный институт пищевой промышленности, Москва

Рассмотрен ряд модификаций аминокислотной последовательности молекулы ангиотензина II, приводящих к ограничению ее конформационной свободы. Сопоставлены величины относительной энергии взаимодействия валентно не связанных атомов в предпочтительных конформациях самого гормона и родственных им низкоэнергетических конформациях рассматриваемых аналогов. Приведены диагональные матрицы взаимодействия валентно не связанных атомов для аналогов [Pro³]ангиотензин II и [Pro⁵]ангиотензин II в конформациях, представляющих наибольший интерес. Произведен подробный сравнительный анализ конформационных изменений у всех рассматриваемых аналогов молекулы ангиотензина II.

В первом сообщении этой серии [1] были рассмотрены результаты теоретического анализа пространственного строения ангиотензина II, Asp¹-Arg²-Val³-Tyr⁴-Val⁵-His⁶-Pro⁷-Phe⁸. Исследование конформационных возможностей октапептидного гормона позволило выяснить его структурную организацию и тем самым определить набор низкоэнергетических пространственных форм, потенциально являющихся биологически активными. Решение следующей задачи, касающейся структурно-функциональной организации гормона, заключается в выявлении в найденном наборе конформаций структур, актуальных для реализации физиологических действий, и в установлении конкретных связей между этими структурами и функциями. Продвижение в этом направлении требует обращения к экспериментальным данным о функциональных особенностях ангиотензина II. Поэтому кратко сообщим об имеющихся на этот счет опытных фактах.

Ангиотензин II — основной действующий элемент ренин-ангиотензиновой системы, регулирующей водно-солевой обмен в организме млекопитающих [2]. Общий эффект, производимый пептидом в организме, является суммой разнообразных откликов, характер которых зависит от органов и тканей, на которые действует гормон. Имеющийся экспериментальный материал свидетельствует о том, что ангиотензин II, как и большинство других гормонов, полифункционален.

Малая изученность рецепторов пептидных гормонов, являющихся, как правило, интегральными мембранными белками, оставляет нерешенным вопрос о причине полифункциональности пептидных гормонов. Согласно одной точке зрения способность гормона стимулировать совершенно разные процессы в разных частях организма объясняется наличием нескольких специфических для данного гормона рецепторных белков, согласно другой — каждый гормон может образовывать продуктивный комплекс только с одним специфическим рецептором и, следовательно, вызывать всегда одно и то же аллостерическое изменение его конформации. В этом случае полифункциональность гормона связывается уже не со спецификой

самих гормон-рецепторных взаимодействий, а с особенностями систем, воспринимающих посылаемый сигнал. Естественно допустить возможность существования механизмов, отвечающих обеим трактовкам гормон-рецепторных взаимодействий.

Большое количество полученных в последние годы экспериментальных данных свидетельствует в пользу гетерогенности рецепторов ангиотензина II, и в дальнейшем изложении мы будем исходить именно из этого предположения.

Полифункциональность ангиотензина II и гетерогенность его рецепторов естественным образом можно связать с молекулярной структурной организацией гормона, изученной теоретически. Его предрасположенность к реализации ряда функций проявляется в существовании в физиологических условиях нескольких близких по энергии и легко переходящих друг в друга пространственных форм. Высокая эффективность и строгая избирательность взаимодействий ангиотензина II с различными рецепторами связаны с тем, что каждая его функция реализуется посредством актуальной только для данного рецептора конформации из состава самых предпочтительных структур свободной молекулы. Таким образом, поиск структурно-функциональной организации ангиотензина II сводится к выяснению для каждого биологического действия пептида актуальной конформации. Для решения задачи при отсутствии необходимых данных о потенциальных поверхностях мест связывания требуется использование дополнительной информации. В качестве такой информации, как правило, привлекаются данные по биологической активности синтетических аналогов природных пептидов. Однако при формировании серии аналогов случайным образом без предварительного изучения конформационных возможностей как природного пептида, так и его искусственных аналогов в ходе исследования по существу ищется прямая зависимость между отдельными остатками аминокислотной последовательности гормона и его функциями. Поскольку стимулированные гормоном аллостерические эффекты возникают в результате не точечных, а множественных контактов между комплементарными друг другу потенциальными поверхностями лиганда и рецептора (иначе отсутствовала бы избирательность гормональных действий), нарушение функции при замене даже одного остатка может быть следствием ряда причин: исчезновения нужной функциональной атомной группы, потери необходимых динамических свойств актуальной конформации, запрещения последней из-за возникающих при замене остатков стерических напряжений, смещения конформационного равновесия из-за изменившихся условий взаимодействия с окружением и т. д.

Таким образом, случайная замена отдельных остатков не приводит к решению задачи о структурно-функциональной организации гормонов. Об этом свидетельствует отсутствие в течение нескольких десятков лет заметного прогресса в ведущихся с привлечением множества искусственных аналогов исследованиях зависимости между структурой и функцией ангиотензина II, энкефалинов и эндорфинов, нейрогипофизарных гормонов и брадикининпотенцирующих пептидов, а также ряда других. Отсюда следует неизбежный вывод о необходимости привлечения к изучению структурно-функциональных соотношений у пептидных гормонов специального подхода, который позволил бы отойти от метода проб и ошибок и при поиске синтетических аналогов делать сознательный выбор до их синтеза и биологических испытаний.

Рассмотрим в этой связи работу Г. В. Никифоровича и сотр. [3], в которой предпринята попытка идентифицировать биологически активные конформационные состояния ангиотензина II, используя наряду с опытными данными результаты теоретического анализа. Предполагаются известными конформационные возможности молекул гормона и двух видов его аналогов: A_1, A_2, \dots, A_n , имеющих высокое сродство к определенному рецептору, и B_1, B_2, \dots, B_n , являющихся неактивными. Авторы полагают, что конформации, присутствующие в наборах низкоэнергетических состояний гормона и аналогов A_1, A_2, \dots, A_n и отсутствующие в наборах

аналогов B_1, B_2, \dots, B_n , относятся к биологически активным структурам ангиотензина II.

При реализации подхода были использованы три синтетических аналога, имеющих высокое сродство, и один аналог, не обладающий сродством к рецептору гладкомышечной ткани крысы. Расчет [3], однако, показал, что среди найденных конформаций ангиотензина II и трех его активных аналогов нет структур, которые хотя бы фрагментарно совпадали между собой. Отсутствие совпадения свидетельствовало лишь о некорректности анализа ангиотензина II, о чем мы уже писали в первом сообщении [1]. Однако авторы работы [3], не ставя под сомнение результаты своих расчетов, сделали, с нашей точки зрения, принципиально неверный шаг. Они отказались от принципа комплементарности потенциальных поверхностей гормона и рецептора и посчитали, что для образования продуктивного комплекса достаточно точечного соответствия. Для отбора конформаций ими были учтены всего два расстояния, причем с вариациями в очень широких интервалах — между атомом C^β остатка Val³ и атомами C^β остатков His⁶ (4,2—6,2 Å) и Pro⁷ (6,7—8,2 Å).

Выбранный в работе [3] критерий крайне неэффективен, так как ему, вообще говоря, могут удовлетворять десятки совершенно различных структур ангиотензина II, различающихся как формой основной цепи, так и ориентациями боковых цепей. В указанные интервалы межатомных расстояний попадает, в частности, одна из наиболее предпочтительных конформаций рассчитанного нами и обсуждаемого ниже [Pro²]ангиотензина II — аналога, сродство которого к рецепторам гладкомышечной ткани составляет всего 0,7% сродства природного пептида.

Но дело не только в выборе более надежного критерия отбора конформаций. Задача осталась бы нерешенной даже и в том случае, если бы была обнаружена общность в наборах низкоэнергетических конформационных состояний ангиотензина II и его активных синтетических аналогов, что непременно должно было бы наблюдаться при правильном решении прямой структурной задачи. Привлечение теоретического конформационного анализа в отсутствие информации о рецепторах и при случайном выборе аналогов не решает задачу структурно-функциональной организации природного пептида.

В условиях полифункциональности ангиотензина II и гетерогенности его рецепторов связи между низкоэнергетическими конформациями и функциями гормона могут быть установлены с помощью весьма немногочисленной серии синтетических аналогов в том случае, если каждое соединение этой серии будет принимать только одно состояние из набора предпочтительных конформаций природного пептида. Тогда все аналоги будут иметь возможность реализовать только по одной гормональной функции, или, точнее, воспроизводить взаимодействие гормона только с одним рецептором. При монофункциональности каждого аналога лишь их совокупность сможет передать весь спектр биологических действий природного пептида. По сравнению с прямой структурной задачей (априорным расчетом конформаций по известной аминокислотной последовательности) возникающая здесь задача противоположна по своей постановке и поэтому была названа обратной структурной задачей. Она заключается в теоретическом определении характера химических модификаций аминокислотной последовательности гормона, необходимых для выделения той или иной актуальной для соответствующей функции природного пептида конформации и запрещения других. Иными словами, речь идет о целенаправленном конструировании химического строения искусственных аналогов, каждый из которых заведомо принимает пространственное строение, необходимое для реализации вполне определенной функции.

Ранее одним из нас был предложен метод решения обратной структурной задачи [4]. Он основан на количественной конформационной теории природных пептидов и белков [5], в частности на оценке особой роли ближних (внутри-остаточных) невалентных взаимодействий атомов в пространственной организации

природных аминокислотных последовательностей и использовании естественной классификации пептидных структур на шейки, формы и конформации [6]. Что касается ближних взаимодействий, то они обладают чрезвычайно важным для решения обратной задачи свойством — полностью определять исходные наборы дозволённых конформационных состояний остатков. При свертывании пептидной цепи только из этих наборов происходит выбор конформационных состояний для каждого остатка, поэтому, влияя контролируемым образом на изменения ближних взаимодействий, можно сознательно формировать наборы конформационных состояний остатков и тем самым эффективно и целенаправленно воздействовать на пространственную организацию пептида. Как было показано [4], добиться этого можно теми же сравнительно простыми средствами, которые выработала сама природа в процессе эволюции органического мира: это замена в последовательности одного стандартного остатка на другой стандартный остаток, существенно отличающийся по своим конформационным возможностям (например, замена Gly на Ala или Pro), химическая модификация стандартного остатка (N-метилирование, замена L-аминокислоты на D-изомер и т. д.), замена аминокислоты на гидроксикислоту. Можно также заменять остатки Cys, например, на Ala и тем самым исключать образование дисульфидных связей, не внося стерических осложнений, или, напротив, заменять пространственно сближенные остатки на Cys и таким образом способствовать созданию макроциклов, скрепленных S—S-мостиками. Таким образом, имеется много возможностей целенаправленно конструировать наборы искусственных аналогов гормона.

Обратную задачу можно разделить на три ступени в соответствии с классификацией пептидных структур на конформации, формы и шейки основной цепи и решить ее путем последовательной конкретизации искомой структуры. Вначале определяется соответствующий шейп пептидного скелета, затем форма основной цепи и наконец точная геометрия нужной конформации. На первой ступени решение ищется в символах e и f , на второй — в символах R , B , L , P и лишь на третьей — в численных значениях конформационных параметров φ , ψ , χ , χ' , ... или в координатах атомов [4].

Перейдем к рассмотрению результатов решения обратной структурной задачи для ангиотензина II.

В табл. 1 сопоставлены величины относительной энергии взаимодействий валентно не связанных атомов в предпочтительных конформациях самого гормона и в родственных им низкоэнергетических конформациях ряда его природных и синтетических аналогов. Напомним, что главные цели нашего исследования заключались в апробации концепции гетерогенности ангиотензиновых рецепторов [1] и в идентификации на основе предложенного в работе [4] подхода конформаций гормона, ответственных за определенные функции. И в том, и в другом случае наши действия были ограничены имеющимся экспериментальным материалом. Поэтому при формировании серии аналогов мы не могли быть в полной мере последовательными в соблюдении одного важного правила методологии аминокислотных замен: стремиться прежде всего производить такие модификации аминокислотной последовательности, которые влияли бы на конформационные возможности пептидной молекулы, но не затрагивали ее химически активных атомных групп. Замену потенциально функциональных остатков целесообразно производить на втором этапе исследования, когда уже известны биологически активные конформации гормона и встает вопрос о роли боковых цепей аминокислотных остатков и механизме взаимодействия с рецептором.

Исходными данными предложенного в работе [4] подхода к решению обратной задачи являются, с одной стороны, аминокислотная последовательность гормона и, следовательно, его конформационные возможности, а с другой — спектр биологического действия гормона и количественные оценки активности каждой функции. После определения минимально необходимого набора синтетических аналогов для каждого из них также необходимы столь же исчерпывающие биологические испытания. В настоящей работе, как отмечалось, мы опирались

Относительная энергия низкоэнергетических конформаций природных ангиотензинов и синтетических аналогов ангиотензина II (АТ II)

Группа	Номер конформации	Шейп	Относительная энергия конформаций (ΔU , ккал/моль)														
			АТ II	[Asn ¹]АТ II	АТ III	АТ I	АТ II-(1-6)-пептид	[Pro ³]АТ II	[Pro ⁵]АТ II	[Ala ³]АТ II	[Ala ⁵]АТ II	[Pro ²]АТ II	[Ala ⁸]АТ II	[Leu ⁸]АТ II	[Val ⁸]АТ II	[Ile ⁸]АТ II	[Tyr ⁸]АТ II
A	1	fe	0	4,4	7,4	0,8	2,6	0	0	0	—	0	0	0	0	1,3	0
	2	ff	0,9	0	1,2	0	2,8	0	0,6	0,9	—	1,3	2,0	2,3	4,0	0	0
	3	ff	3,5	3,4	5,1	7,9	—	8,8	2,7	4,6	—	4,7	1,5	4,9	0	3,8	0
	4	fe	4,0	3,5	7,3	3,0	2,6	4,5	1,8	3,5	4,8	—	3,4	0,3	5,0	0,2	3,6
B	1	ff	3,5	5,3	4,1	9,9	3,6	—	6,4	4,3	4,9	—	6,2	4,6	5,4	1,3	3,0
	2	ee	3,7	2,5	1,8	9,6	0	—	6,5	5,8	7,4	4,6	6,5	5,7	7,4	5,1	3,8
	3	fe	4,4	2,6	—	—	0,8	—	—	3,8	5,5	—	5,7	2,8	6,2	3,7	5,5
	4	ee	4,6	2,7	0	7,5	0	—	—	5,8	7,4	9,5	6,5	6,3	4,9	7,9	6,2
	5	fe	6,0	3,2	—	8,3	0,8	—	—	5,4	7,0	—	5,8	4,9	2,8	6,0	8,9
	6	ef	7,0	8,0	4,1	—	5,6	—	6,5	7,5	7,4	0	9,3	6,1	5,7	5,4	7,7
C	1	ff-eje-ee	7,5	—	9,5	—	5,8	—	—	10,0	7,5	—	7,6	4,1	3,7	4,2	7,1
D	1	fe-fff-ef	7,8	9,8	5,3	5,4	2,7	—	—	8,8	9,0	—	8,0	9,1	2,6	—	7,0
E	1	fe-eee-ee	7,8	—	9,0	—	5,6	—	7,4	7,3	7,7	—	8,2	4,5	3,8	4,0	7,3
F	1	ef-fff-ef	8,0	4,8	4,0	7,6	5,1	—	—	7,9	7,8	0,8	8,0	8,9	5,5	5,0	7,6

Примечание: прочерк означает, что энергия конформации превышает 10 ккал/моль.

на имеющийся в литературе экспериментальный материал. Хотя для ангиотензина II он наиболее обширен, тем не менее и здесь ощущается острый недостаток опытных фактов, касающихся биологических испытаний синтетических аналогов. Последние, как правило, тестируются лишь по одной функции, а поэтому остаются неизвестными очень важные для нас полные спектры их биологических активностей. Наличие таких данных позволило бы значительно расширить результаты нашего исследования и углубить их понимание.

Решение обратной структурной задачи для ангиотензина II строится на основе известного из работ [1] набора предпочтительных по энергии конформаций природной молекулы. Расчет показал, что структурная организация октапептидного гормона может быть представлена ограниченным числом низкоэнергетических и сравнительно легко переходящих друг в друга конформаций, которые в зависимости от геометрии центрального тетрапептидного фрагмента Val³ — His⁶ распадаются на две группы (табл. 1). В одной из них (А) основная цепь тетрапептидного участка имеет структуру типа *fef*, а в другой (В) — типа *fee*. В каждой группе конформации отличаются друг от друга состояниями N- и C-концевых дипептидов и в свою очередь могут быть разделены на структуры со свободной боковой цепью остатка Asp или Arg. В интервал 0—8,0 ккал/моль входят четыре конформации группы А, в том числе наиболее выгодная по энергии ($\Delta U = 0$ ккал/моль), и шесть конформаций группы В, самая предпочтительная из которых обладает энергией 3,5 ккал/моль. В высокоэнергетическую часть этого интервала (7,5—8,0 ккал/моль), кроме того, попали еще четыре конформации, имеющие на центральном участке Val³ — His⁶ отличные от А и В шейки основной цепи (*efe*, *fff*, *eee* и *eff*).

В организмах млекопитающих ангиотензин II встречается в двух разновидностях, различающихся аминокислотным остатком в пятом положении. Функциональные спектры и физиологические активности обоих гормонов практически не различаются. Выше мы рассматривали [Asp¹]ангиотензин II и будем следовать этому в дальнейшем. Близкие физиологические активности проявляет и [Asn¹]ангиотензин II.

Из табл. 1 видно, что конформационные возможности этого аналога весьма схожи с конформационными возможностями нативного гормона. Заслуживает быть отмеченной лишь смена глобальной конформации в группе А. В молекуле [Asp¹]ангиотензина II (АТ II) наименьшую энергию имеет конформация А₁. В ее стабилизацию существенный вклад вносит остаток Arg², гидрофобная часть боковой цепи которого осуществляет эффективные дисперсионные взаимодействия почти со всеми остатками фрагмента Val³ — Pro⁷ (—11,5 ккал/моль), а гуанидиновая группа, несущая целочисленный положительный заряд, — также и с C-концевым остатком Phe⁸, заряженным отрицательно (—2,9 ккал/моль; табл. 5 в [1]). Остаток аспарагиновой кислоты практически не взаимодействует с остальной частью молекулы и ориентирован в окружающую среду. В конформации А₂, энергия которой (0,9 ккал/моль) лишь незначительно превышает энергию А₁, ситуация меняется: свободной оказывается боковая цепь остатка Arg², а связанной — Asp¹.

В молекуле [Asn¹]АТ II в отличие от [Asp¹]АТ II отсутствует отрицательный заряд у первого остатка, и поэтому резко ослабляется стабилизирующая энергия его электростатического взаимодействия с остатком Arg². Это и служит причиной меньшей предпочтительности конформации А₁ по сравнению с конформацией А₂, которая и становится наиболее выгодной.

К интересному результату, хорошо коррелирующему (как можно будет убедиться в сообщении III) с физиологической активностью, привел расчет ангиотензина III, отличающегося от ангиотензина II отсутствием в последовательности первого остатка. Удаление Asp¹ существенно изменяет положение конформационного равновесия $A \rightleftharpoons B$, смещая его вправо. Наиболее выгодной становится

конформация B_4 или B_5 , что абсолютно одно и то же, а лучшая у ангиотензина II конформация A_1 приобретает довольно высокую относительную энергию (7,4 ккал/моль; табл. 1) и становится малореальной.

Одна из причин повышения энергии A_1 по сравнению с B_4 связана с большей величиной у этой конформации дестабилизирующей электростатической энергии взаимодействий положительных зарядов, принадлежащих основной и боковой цепям остатка Arg^2 . У конформации A_1 энергия невалентных взаимодействий остатка аргинина составляет +14,0 ккал/моль, а у B_4 — +9,0 ккал/моль. Вторая причина смещения конформационного равновесия при отсутствии в последовательности ангиотензина N-концевого остатка Asp^1 заключается в более компактной упаковке и, следовательно, в меньшей энергии дисперсионных межостаточных взаимодействий валентно не связанных атомов боковой цепи Arg^2 в конформации B_4 (−22,1 ккал/моль), чем в A_1 (−17,6 ккал/моль).

Ангиотензин I (см. табл. 1) — декапептид, содержащий в C-концевой части последовательности остатки His и Leu . Увеличение цепи заметно повлияло на распределение конформаций по энергии. Оно привело к большей детерминации конформационных состояний пептида, т. е. к ограничению конформационной свободы. Из структурного набора ангиотензина II разрешенными фактически остаются три конформации группы A (A_1 , A_2 и A_4), причем самыми низкоэнергетическими по-прежнему являются A_1 и A_2 . Конформация A_2 более выгодна по энергии, чем A_1 , так как ее потенциальная поверхность более комплементарна поверхности дополнительного дипептидного фрагмента His^9 — Leu^{10} . Заметное повышение у ангиотензина I энергии конформаций группы B, делающее их практически запрещенными, объясняется, во-первых, значительно более слабыми взаимодействиями участка His^9 — Leu^{10} с остальной частью молекулы (их энергия, например, у B_1 составляет −6,2 ккал/моль, в то время как у A_2 и A_1 соответственно −11,3 и −9,4 ккал/моль), а во-вторых, потерей по стерическим причинам ряда стабилизирующих взаимодействий остатка Phe^8 , концевого у ангиотензина II и промежуточного у ангиотензина I.

Если удлинение пептидной цепи на два остатка (AT I) понижает относительную энергию конформаций группы A, то укорочение на два остатка цепи по сравнению с ангиотензином II (AT II-(1—6)-пептид) действует в противоположную сторону: две из четырех конформаций группы B обретают самую низкую энергию, не превышающую 1,0 ккал/моль. Изменения, однако, не так резки, как в случае AT I, и конформационные возможности гексапептидного аналога ангиотензина, лишенного с потерей двух остатков ряда стабилизирующих взаимодействий, естественно, возрастают. Реальными при определенных внешних условиях становятся не только конформации группы A, но даже C_1 — F_1 , особенно D_1 .

Замены в молекуле ангиотензина II остатков валина в третьем и пятом положениях на остатки пролина ($[\text{Pro}^3]\text{AT II}$ и $[\text{Pro}^5]\text{AT II}$; табл. 1) и аланина ($[\text{Ala}^3]\text{AT II}$ и $[\text{Ala}^5]\text{AT II}$) преследовали цель внести определенные, причем заранее известные, стерические затруднения и запретить реализацию большого числа конформаций (первые два пептида) и, напротив, сделать аминокислотную последовательность ангиотензина II более лабильной и оценить ограничительный эффект на формирование пространственного строения молекулы достаточно объемных и разветвленных при атоме C^β остатков валина (вторая пара пептидов).

Предшествующий пролину остаток, находясь в *R*-форме, имеет высокую энергию из-за перекрывания ван-дер-ваальсовых радиусов атомов водорода собственной метиленовой группы пролинового цикла. Для этого остатка наиболее предпочтительна форма *B*, а затем *L*. Поэтому дипептидный участок Arg^2 — Pro^3 у аналога $[\text{Pro}^3]$ ангиотензина II может обладать только развернутым шейпом *e*. Следовательно, реализация 6 из 14 низкоэнергетических конформаций ангиотензина II с *R*-формой Arg^2 и *f*-шейпом дипептида Arg^2 — Pro^3 становится у

Матрицы энергии внутри- и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях A₁ (a) и B₄ (б) AT II (верхние строки) и [Pro³]AT II (нижние строки)

a

	Asp ¹	Arg ²	Val ³ Pro ³	Tyr ⁴	Val ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸
Asp ¹	0,1 0,1	-11,5 -12,0	-0,2 -0,4	0,2 0,2	0,1 0,1	0,1 0,1	0,1 0	0,6 0,6
Arg ²		0,4 0,3	-1,7 -2,7	-2,7 -3,0	-3,2 -3,7	-1,2 -1,1	-2,3 -1,6	-2,9 -2,7
Val ³ Pro ³			0,5 0,3	-1,2 0,8	-0,4 -0,3	-0,1 -0,1	0 0	-0,1 -0,1
Tyr ⁴				1,6 1,6	-3,3 -3,3	-4,9 -4,8	-0,4 -0,4	-0,3 -0,1
Val ⁵					0,9 0,9	-1,8 -1,7	-0,9 -0,9	-0,1 -0,1
His ⁶						-0,1 -0,1	-2,5 -2,4	-4,9 -4,3
Pro ⁷							0,1 0,2	-1,7 -2,0
Phe ⁸								1,5 1,7

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

б

Матрицы энергии внутри- и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях A₁ (а) и B₁ (б) AT II (верхние строки) и [Pro⁵]AT II (нижние строки)

а

б

	Asp ¹	Arg ²	Val ³	Tyr ⁴	Val ⁵ Pro ⁵	His ⁶	Pro ⁷	Phe ⁸
Asp ¹	0,1 0,1	-11,5 -12,3	-0,2 -0,2	0,2 0,2	0,1 0,1	0,1 0,1	0 0	0,6 0,6
Arg ²		0,4 0,3	-1,7 -1,7	-2,7 -2,6	-3,2 -3,5	-1,2 -1,1	-2,3 -1,6	-2,9 -2,7
Val ³			0,5 0,5	-1,2 -1,2	-0,4 -0,7	-0,1 0	0 0	-0,1 -0,1
Tyr ⁴				1,6 1,5	-3,3 -2,8	-4,9 -4,3	-0,4 -0,4	-0,3 -0,1
Val ⁵ Pro ⁵					0,9 0,2	-1,8 -1,3	-0,9 -0,8	-0,1 -0,1
His ⁶						-0,1 -0,1	-2,5 -2,4	-4,9 -4,4
Pro ⁷							0,1 0,2	-1,7 -2,0
Phe ⁸								1,5 1,7

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

синтетического аналога маловероятной. Предпочтительными остаются лишь структуры A_1 и A_4 с относительной энергией 0 и 4,5 ккал/моль. Энергия остальных превышает 10,0 ккал/моль.

В табл. 2а сопоставлены энергетические матрицы взаимодействий валентно не связанных атомов в конформациях A_1 природного гормона и $[Pro^3]$ ангиотензина II. Видно, что замена Val^3 на Pro^3 практически не сказывается на энергии невалентных контактов. Без изменений остается геометрия конформаций A_1 в обеих молекулах. Заметно увеличился существовавший и ранее разрыв в энергии структур А и В. Теперь он значительно превысил отметку 10,0 ккал/моль. В табл. 2б сравнены внутриостаточные энергии взаимодействия конформации B_4 ангиотензина II (4,6 ккал/моль) с лучшей конформацией группы В — также B_4 $[Pro^3]$ ангиотензина II (11,8 ккал/моль). Рост у синтетического аналога конформационной энергии обусловлен ослаблением стабилизации приблизительно на 9,0 ккал/моль между Arg^2 и Val^5 , His^6 . Причиной послужило жесткое пролиновое кольцо, ставшее помехой для сближенности боковых цепей этих остатков.

При замене Val^5 на Pro^5 не запрещаются конформации ни в группе А, ни в группе В, так как и там, и там участок $Tyr^4 - Val^5$ имеет развернутую форму. Тем не менее расчет показал, что ситуация здесь в принципе аналогична только что рассмотренной, т. е. наблюдается понижение относительной энергии конформаций А и повышение относительной энергии конформаций В. Приведенные в табл. 3 данные о лучших структурах групп A_1 и B_1 природного пептида и его $[Pro^5]$ аналога объясняют энергетическую дифференциацию менее эффективными невалентными взаимодействиями остатка пролина в B_1 по сравнению с остатком валина. Конформации же A_1 обеих молекул энергетически и геометрически практически идентичны.

Замены Val^3 на Ala^3 и Val^5 на Ala^5 , представляющие, казалось бы, большую конформационную свободу основной цепи гормона в пределах тех же минимумов многомерной потенциальной поверхности, как показал расчет, практически не повлияли на положение конформационного равновесия. По-прежнему структуры группы А в полярной среде предпочтительнее В, а структуры $C_1 - F_1$ столь же высокоэнергетичны. Поэтому можно ожидать, что спектр физиологической активности аланиновых аналогов в отличие от пролиновых будет достаточно полно воспроизводить спектр природного ангиотензина II.

В $[Pro^2]$ ангиотензине II замена касается остатка, не только диктующего чисто стерические условия формирования конформационных состояний молекулы, как у рассматриваемых выше четырех синтетических аналогов природного гормона, но и, безусловно, играющего весьма важную роль в специфическом узнавании или в соответствующих последствиях гормон-рецепторных взаимодействий. Такая двойственность несколько осложняет трактовку результатов теоретического конформационного анализа этого аналога, представленного в табл. 1. Любопытно, что у $[Pro^2]$ ангиотензина II самые предпочтительные конформации — B_6 и F_1 , имеющие очень высокую энергию у ангиотензина II.

В следующих пяти аналогах остаток Phe^8 ангиотензина II последовательно заменен на остатки Ala , Leu , Val , Ile и, наконец, Tyr , т. е. на гидрофобные остатки постепенно увеличивающегося объема. Каких-либо существенных изменений конформационных возможностей по сравнению с природным октапептидом при этом не наблюдается. Во всех случаях доминируют структуры группы А. Энергетическое распределение конформаций $[Tyr^4]$ ангиотензина II практически совпадает, как и можно было ожидать, с распределением ангиотензина II.

Выбор для расчета всех аналогов ангиотензина II, представленных в табл. 1, особенно последних шести, обусловлен наличием соответствующего экспериментального материала, который будет проанализирован нами в следующем сообщении в свете изложенных результатов конформационного анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гогитидзе Т. В., Попов Е. М.//Биоорганич. химия. 1993. Т. 19. № 5. С. 517—535.
2. Orpil S., Haber E.//New Engl. J. Med. 1974. V. 291. № 8. P. 389—400.
3. Никифорович Г. В., Галактионов С. Г., Чипенс Г. И. Конформации пептидных биорегуляторов. М.: Медицина, 1983. 191 с.
4. Попов Е. М.//Молекулярн. биология. 1985. Т. 19. № 4. С. 1107—1137.
5. Попов Е. М.//Int. J. Quant. Chem. 1979. V. 16. № 3. P. 707—737.
6. Попов Е. М. Структурная организация белков. М.: Наука, 1989. 352 с

Поступила в редакцию
3.VI.1992

После доработки
22.XII.1992

T. V. Gogitidze, E. M. Popov

STRUCTURE-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF THE ANGIOTENSIN II MOLECULE. II. THE REVERSE PROBLEM

Russian Institute for Food Industry, Moscow

A number of modifications of the amido acids sequence of the peptide hormone angiotensin II leading to the hormone's analogues with restricted conformational properties are considered. The relative conformational energies for all the analogues were evaluated in conformations similar to the low-energy conformations of the native hormone. Presented is the comparative analysis of the spatial structures of the native hormone and its analogues.