



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 6 * № 6 * 1980

УДК 547.962 : 541.63

СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДНОГО ГОРМОНА АНГИОТЕНЗИНА

III. * «БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ» КОНФОРМАЦИИ МОЛЕКУЛЫ АНГИОТЕНЗИНА

Балодис Ю.Ю., Никифорович Г.В.

Институт органического синтеза Академии наук ЛатвССР, Рига

Предложен метод выделения «биологически активных» конформаций молекулы олигопептида, заключающийся в сопоставлении наборов стабильных структур природного олигопептида и его аналогов с высоким и низким сродством к рецепторам природного соединения. Указанный метод реализован на примере исследования серии аналогов ангиотензина, в которых аминокислотные остатки центральной части молекулы заменены на *аза- α' -гомоаминоциклоты*; наборы стабильных структур аналогов установлены методами полуэмпирического конформационного анализа. Показано, что «конформации по жесткости» участками молекулы, отвечающими в основном за эффективное связывание с рецепторами, являются пентапептид 3–7 и центральный тетрапептид 3–6 молекулы ангиотензина.

Представление о «биологически активной» конформации олигопептидов как о структуре, характерной для молекулы пептидного эффектора при связывании с рецептором, было, по-видимому, наиболее полно развито впервые в работах группы исследователей, возглавляемой Вальтером [2]. Эти работы были посвящены изучению структурно-функциональных отношений молекулы лейрогипофизарного гормона окситоцина и основывались на модели пространственной структуры молекулы в растворе, предложенной в работе [3] в соответствии с некоторыми данными ЯМР- и КД-спектроскопии, а также данными тестирования биологической активности ряда аналогов окситоцина.

Ясно, однако, что подобный подход к выделению «биологически активной» конформации (или конформаций) олигопептидов является в значительной степени упрощенным. Прежде всего для молекулы олигопептида в растворе характерно наличие нескольких стабильных конформеров, а не одной пространственной структуры; следовательно, для суждения о сходстве или различии конформаций природного соединения и его аналога необходимо располагать сведениями о полных наборах стабильных структур обеих молекул. Далее следует учитывать, что потеря аналогом биологической активности не всегда связана с изменением конформационных возможностей: с «конформацией» точки зрения допустимо объяснение причин повышения или понижения сродства молекулы аналога к рецепторам природного соединения, а не возрастания или потери биологической активности. Наконец, важно отметить, что выбор «биологически активных» конформаций из набора стабильных структур молекулы зависит от топографии и «жесткости» рецептора, которые, как пра-

* Сообщение II см. [1].

вило, совершенно не исследованы; иными словами, нужно считаться с возможностью того, что «биологически активными» окажутся не какие-либо структуры полной молекулы (понимаемые как определенная совокупность межатомных расстояний), а лишь некоторые избранные межатомные расстояния.

Можно полагать тем не менее, что основной особенностью «биологически активных» конформаций данного олигопептида должно быть следующее: конформации, сходные с «биологически активными» в пространственном отношении, должны содержаться в наборах стабильных конформеров природного олигопептида и всех его аналогов с высоким средством

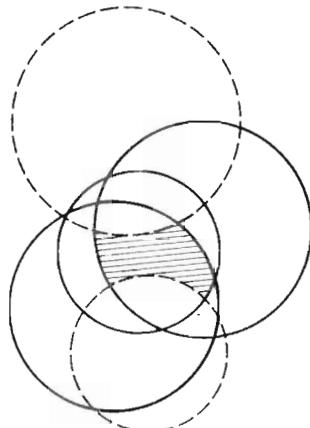


Рис. 1. Схематическое изображение выделения «биологически активных» конформаций олигопептида. Сплошные окружности символизируют наборы стабильных конформаций природного олигопептида и аналогов с высоким средством к рецептору, прерывистые — аналогов с низким средством. Штриховой отмечена область «биологически активных» конформаций

к рецептору; в то же время ни одна из структур, входящих в наборы стабильных конформаций аналогов с низким средством, не должна быть сходной с «биологически активными» конформациями (рис. 1).

С использованием изложенного предположения в работе [4] была найдена «биологически активная» конформация молекулы энкефалина; при этом пространственное сходство различных стабильных структур энкефалина и его аналогов устанавливалось с точностью до совпадения областей локальных энергетических минимумов *B*, *R*, *L* и *H* остова отдельных аминокислотных остатков (здесь и далее обозначения локальных минимумов те же, что и в предыдущих сообщениях [4, 5, 6]). Однако, вообще говоря, более корректной процедурой следует считать сопоставление не областей локальных минимумов, а систем внутримолекулярных межатомных расстояний в различных парах конформаций.

При этом, однако, следует учитывать, что различные межатомные расстояния могут оказаться весьма неравноценными «с точки зрения рецептора». Тогда выделение «биологически активных» конформаций может проводиться лишь в предположении, что данное межатомное расстояние (или группа расстояний) является наиболее существенным для связывания с рецептором. Описанная ситуация, как легко видеть, будет по существу эквивалентна наличию в составе молекулы природного соединения «конформационно жесткого» участка, который играет основную роль в обеспечении специфичности лиганд-рецепторного взаимодействия, как предполагается в работах [7, 8].

Хорошей иллюстрацией изложенных положений может служить рассмотрение конформационно-функциональных отношений в ряду *аза*-аналогов молекулы ангиотензина *Asn*¹-*Arg*²-*Val*³-*Tyr*⁴-*Val*⁵-*His*⁶-*Pro*⁷-*Phe*⁸, получаемых с помощью последовательных замен отдельных аминокислотных остатков на *аза*- α' -токоаминокислотные остатки, т. е. по существу вставкой в пептидный остов молекулы «дополнительной» NH-группы, перемещающейся вдоль пептидной цепи ангиотензина. Замены такого рода способны привести к значительному изменению конформационных воз-

Таблица 1

Данные тестирования миотропной активности (colon ascendens крысы)
аза-аналогов ангиотензина [9]

Соединение	«Внутренняя активность» (α)	pD_2	Соединение	«Внутренняя активность» (α)	pD_2
Ангиотензин (AT)	1,00	9,0	[аза-Val ⁵]-АТ	0,98	5,6
[аза-Val ³]-АТ	0,97	8,2	[аза-His ⁶]-АТ	0,86	7,4
[аза-Tyr ⁴]-АТ	1,27	8,7			

можностей получаемых аза-аналогов по сравнению с природным олигопептидом [6]. С другой стороны, данные по тестированию миотропной активности аза-аналогов ангиотензина с модификациями в положениях 3, 4, 5 и 6 [9] показывают, что эти соединения, обладая более или менее сопоставимой величиной «внутренней активности» α , близкой к единице, существенно различаются по величине параметра pD_2 , представляющего собой характеристику сродства аналога к рецепторам природной молекулы [10]. Если аналоги [аза-Val³]-, [аза-Tyr⁴]- и [аза-His⁶]ангиотензин можно считать соединениями с высоким сродством (различия с величиной pD_2 для ангиотензина ΔpD_2 0,3–1,6), то аналог [аза-Val⁵]ангиотензин практически утрачивает сродство к рецептору: ΔpD_2 3,4 (табл. 1). Таким образом, можно полагать, что в данной серии аналогов изменения сродства к рецептору обусловлены лишь конформационными изменениями, что позволяет, в частности, попытаться выделить «биологически активную» конформацию этого соединения.

Полный набор стабильных структур молекулы ангиотензина был выявлен и описан средствами тотального теоретического конформационного анализа в работах [11–13] в «вакуумном» приближении. В этих же работах содержатся необходимые сведения об использованной методике расчетов, геометрии молекулы (*транс*-конформация связи His-Pro) и потенциальных функциях межатомных взаимодействий. По аналогичной схеме в настоящей работе был проведен тотальный теоретический конформационный анализ четырех аза-аналогов ангиотензина: [аза-Val³]-, [аза-Tyr⁴]-, [аза-Val⁵]- и [аза-His⁶]ангиотензина.

Прежде всего для каждого из перечисленных аналогов были рассчитаны конформационные энергии (U) структур фрагментов, перекрывающихся в аминокислотной последовательности: 3–5, 4–5, 4–7, 6–7 и 6–8, т. е. тетрапептидов аза-Tyr⁴-Val⁵-His⁶-Pro⁷ (символ Pro⁷ означает, что при расчетах С-концевая пентидная группа у монопептида пролина не учитывалась; как показано в работе [13], ее влияние мало оказывается на величинах конформационных энергий структур соответствующих фрагментов), Tyr⁴-аза-Val⁵-His⁶-Pro⁷ и Tyr⁴-Val⁵-аза-His⁶-Pro⁷, трипептидов аза-Val³-Tyr⁴-Val⁵, Val³-аза-Tyr⁴-Val⁵, Val³-Tyr⁴-аза-Val⁵ и аза-His⁶-Pro⁷-Phe⁸ и дипептидов аза-Tyr⁴-Val⁵, Tyr⁴-аза-Val⁵ и аза-His⁶-Pro⁷. Сведения о конформационных энергиях структур фрагментов, не содержащих аза-группировки, были заимствованы из работы [13].

Энергии ближних взаимодействий (E) структур С-концевых гексапептидов рассматриваемых аналогов оценивались затем по формуле

$$E_{3-8} = U_{3-5} + U_{4-7} - U_{4-6} + U_{6-8} - U_{6-7}.$$

Для дальнейшего расчета были отобраны структуры С-концевых гексапептидов, различающиеся типом конформации пентидного остова и удовлетворяющие условию $\Delta E = E - E_{\min} \leq 8$ ккал/моль, хотя бы при одном из вариантов расположения боковых цепей. Как показано в работе [13], величина ΔE является достаточно хорошим критерием для отбора наиболее предпочтительных типов конформаций остова С-концевого гексапептида.

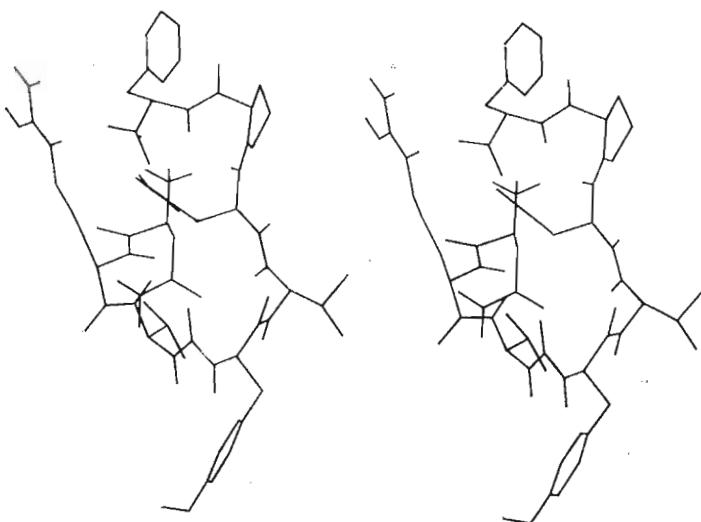


Рис. 2. Стереоизображение конформации BRR^*RB_2RB молекулы [аза-Val³]ангиотензина

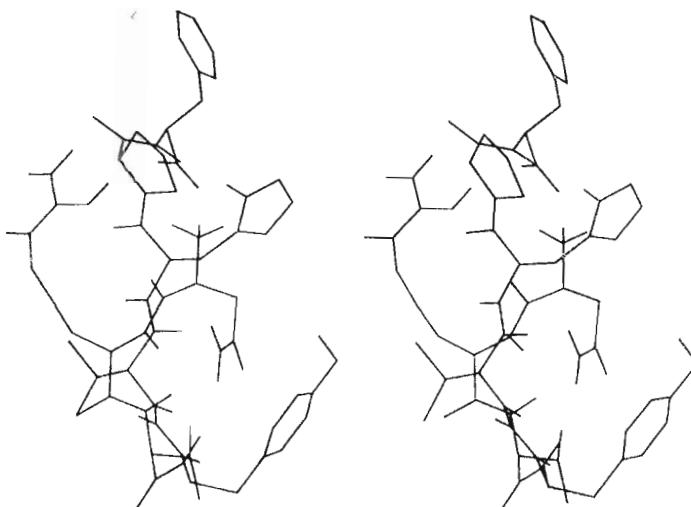


Рис. 3. Стереоизображение конформации $BBRQ^*BBRB$ молекулы [аза-Тир⁴]ангиотензина

тида в случае молекулы ангиотензина; в связи с этим минимизация энергии структур гексапептидов не проводилась.

Отказ от расчета конформационных энергий структур С-концевых гексапептидов явился единственным отклонением описываемой схемы расчетов от методики, использованной при расчете ангиотензина [12, 13]. В то же время в полном соответствии с этой методикой исследование влияния ионизованной боковой цепи остатка Arg² проводилось с помощью расчета модельных фрагментов 2–8, в которых остатки Tyr⁴, His⁶ и Phe⁸ были заменены остатками аланина; рассматривались лишь отобранные ранее типы конформаций пептидного остова фрагментов 3–8. При этом учитывалось пять возможных конформаций остатка Arg²–B₁, B₂, B₃, R₃ и R₅ (см. [5]) и ротамер боковых цепей остатков Val³ и Val⁵, соответствующий $\chi_1 \sim 180^\circ$. Всего для модельных фрагментов 2–8 [аза-Val³]-, [аза-Тир⁴]-, [аза-Val⁵]- и [аза-His⁶]ангиотензина было рассчитано 140, 215, 110 и 85 конформаций соответственно.

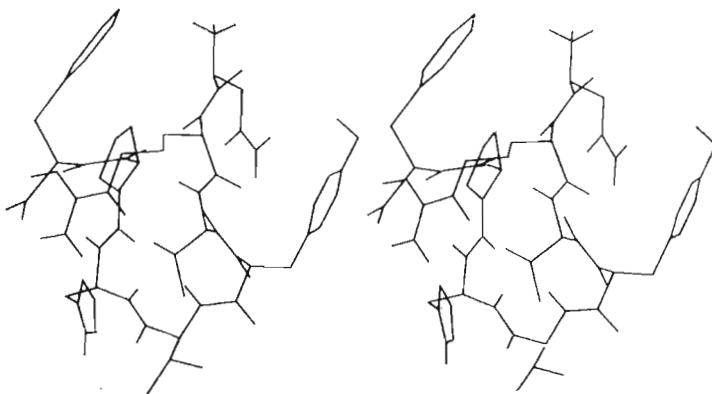


Рис. 4. Стереоизображение конформации *BBRBL*BRB* молекулы [*аза*-*Val*⁵]ангиотецина

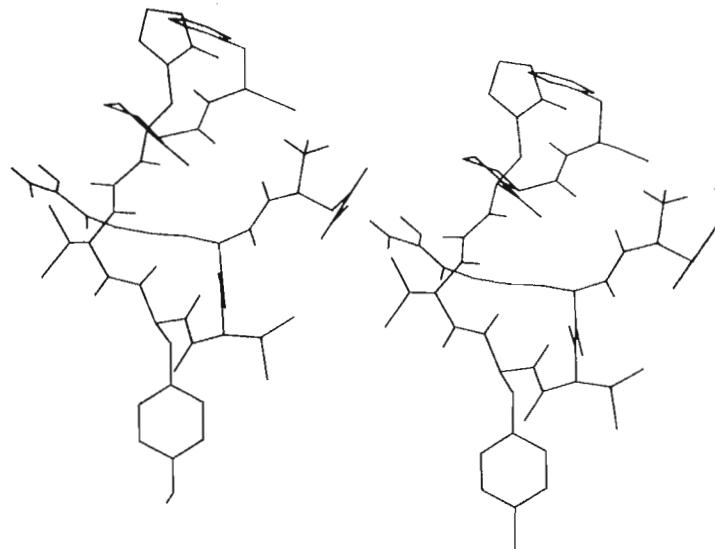


Рис. 5. Стереоизображение конформации *BRBBRR*RB* молекулы [*аза*-*His*⁶]ангиотецина

Расчет модельных соединений позволил значительно сократить количество рассматриваемых конформаций за счет учета дальних взаимодействий в основной цепи и проверки возможности эффективного кулоновского взаимодействия ионогенных групп: боковой цепи аргинина и C-концевого карбоксила. При этом энергетически выгодными оказались лишь те конформации, для которых было реализовано близкое пространственное расположение ионогенных групп; эти структуры, удовлетворяющие условию $U - U_{\min} \leq 12$ ккал/моль, были использованы далее для расчета конформационных энергий структур полных молекул *аза*-аналогов, различающихся типом конформации пентидного остатка. Для каждой из таких структур рассматривался ротамер боковой цепи остатка Arg², наиболее стабильный по данным расчетов фрагментов 2–8; конформация остатка Asn¹ выбиралась по результатам расчета дипентида Asn¹-Arg² (см. [13]), а конформации ротамеров боковых цепей остальных остатков — по данным расчетов фрагментов 3–8. При расчете не учитывалась конформация типа *L* остатка Arg², поскольку она отличается от конформации типа *B* лишь значением угла внутреннего вращения φ , что

Таблица 2

Описание стабильных конформаций аза-аналогов ангиотензина (AT)

Остаток	Углы	[аза-Val ³]-АТ				[аза-Tyr ⁴]-АТ				[аза-Val ⁵]-АТ				[аза-His ⁶]-АТ			
		BRR*RBBRB		BRR*QRBRB		BRL*QRB RB		BRRQ*BBRB		BLL*BBRB		BRBD*BBRB		BRBS*BBB		BBL*LBB	
		BRR	RBBRB	BRR	QRBRB	BRL	QRB RB	BRRQ	BBRB	BLL	BBRB	BRBD	BBRB	BRBS	BBB	BBL	LBB
Asn ¹	φ	--8	2	--1	3	-6	--7	-8	--8	--7	2	--8	--6	--7			
	ψ	115	132	113	145	147	137	127	129	148	149	121	144	152			
	χ ₁	180	177	180	161	63	--174	179	--175	58	167	--175	175	62			
	χ ₂	93	78	91	94	--83	88	92	92	--85	82	94	97	--84			
Arg ²	φ	--142	--150	--123	--154	--137	--115	--108	--114	--132	--102	--139	--119	--127			
	ψ	--48	--47	--38	36	126	--45	--41	--40	122	--57	29	--48	104			
	χ ₁	--72	--159	--166	--102	--65	--64	--63	--67	--157	--74	--83	--174	--166			
	χ ₂	--178	167	177	148	177	168	167	--178	--176	172	--178	--175	--167			
	χ ₃	--164	83	176	--157	--165	--161	--145	--163	--164	172	175	91	170			
	χ ₄	--166	--137	--172	94	169	131	140	152	148	149	--100	--124	--142			
Val ³	φ	--93	--93	51	--95	36	--121	--125	--114	--125	--136	--52	--126	--137			
	ψ	--22	--34	133	--51	86	146	137	153	--47	--54	--37	154	138			
	χ ₁	175	171	175	178	--176	--177	179	179	174	--175	169	--165	177			
Tyr ⁴	φ	--51	--84	--99	--119	44	--35	--89	--23	--146	--146	--126	--114	--122			
	ψ	--35	1	--17	22	99	99	128	--56	102	123	36	46	--45			
	χ ₁	--76	--7	--61	54	--178	--71	--67	--70	--84	--86	41	--61	--78			
	χ ₂	98	9	94	79	86	100	93	102	102	102	79	94	81			
	χ ₃	--90	--89	--91	--86	--90	--90	--90	--90	--90	--90	--90	--90	--94			
	χ ₄																
Val ⁵	φ	--108	--96	--97	--118	--127	--108	--62	53	45	39	43	--130	--119			
	ψ	107	--36	--46	128	124	96	--39	90	117	134	125	--46	--54			
	χ ₁	--179	180	180	--179	--178	--178	173	--178	176	176	177	177	179			
His ⁶	φ	--168	--126	--150	--140	--154	--141	--127	--156	--74	--121	--41	--125	--160			
	ψ	128	135	136	140	136	132	99	133	134	134	136	--35	15			
	χ ₁	--153	--148	--152	--152	--153	--145	33	--155	--152	--154	--172	23	58			
	χ ₂	--116	--110	--107	--110	--110	--103	--81	--116	--115	--115	--81	--90	--113			
Pro ⁷	ψ	--30	--29	--41	--33	--31	--36	153	--30	--31	--35	132	--43	132			
Phe ⁸	φ	--113	--124	--107	--121	--117	--118	--141	--117	--112	--109	--145	--136	--149			
	ψ	--22	--60	--33	--47	--84	--32	--42	--27	--48	--30	--36	--41	--31			
	χ ₁	--48	--39	--52	--49	--52	--58	--85	--54	--51	--51	--75	--68	--102			
	χ ₂	96	99	96	96	96	93	95	94	97	96	117	92	88			
<i>U</i> , ккал/моль	0,0	9,4	9,8	0,0	2,4	2,9	6,6	9,2	0,0	4,4	8,3	0,0	6,5				

способно изменить только ориентацию остатка Asn¹, слабо влияющую, как показано в работе [43], на иерархию стабильности структур молекулы ангиотензина. Таким образом, в общей сложности для аналогов [аза-Val³]-, [аза-Tyr⁴]-, [аза-Val⁵]- и [аза-His⁶]ангиотензина было рассчитано 25, 41, 16 и 8 конформаций соответственно.

Найденные стабильные конформации аналогов ($U - U_{\min} \leq 10$ ккал/моль) описаны в табл. 2; ниже кратко охарактеризованы основные детали их пространственной организации.

[аза-Val³]ангиотензин. Все три стабильные конформации остова этой молекулы (*BRR'RB RB*, *BRR'QRBRB* и *BRL'QRBRB*) сравнительно схожи по пространственной организации (рис. 2). Во всех структурах имеются небольшие перегибы остова на остатках Arg² и Pro⁷, а также поворот основной цепи в окрестности остатков аза-Val³-Tyr⁴-Val⁵. Боковые радикалы остатков His⁶ и Phe⁸ пространственно сближены, а остаток Tyr⁴ удален от них и находится в противоположной стороне молекулы. Конформации различаются между собой организацией поворота остова в районе остатков аза-Val³-Tyr⁴-Val⁵ и различным взаимным расположением

ионогенных групп. В конформации *BRR'RB RB RB* перегиб пептидной цепи осуществляется на остатке Tyr^4 , благодаря чему реализуется энергетически выгодное пространственное расположение ионогенных групп: С-концевой карбоксил располагается между гуанидиновой группой аргинина и N-концевой аминогруппой. В конформациях же *BRR'QR RB RB* и *BRL'QR RB RB* изгиб остова находится в окрестности остатков $\text{Tyr}^4\text{-Val}^5$; в первой из конформаций реализуется эффективное электростатическое взаимодействие между С-концевой карбоксильной группой и гуанидиновой группой остатка аргинина, а во второй — между ионизированными С- и N-концевыми группами молекулы.

[*аза-Tyr⁴*]ангиотензин. Набор стабильных конформаций остова молекулы насчитывает пять структур. Все конформации являются компактными и стабилизируются кулоновскими взаимодействиями заряженных групп: N-концевой амидной, С-концевой карбоксильной и гуанидиновой группой аргинина. Структуры *BBRQ'BB RB*, *BBLL'BB RB*, *BRBB'BB RB* и *BRBR'LBRB* (рис. 3) имеют сходные пространственные очертания и характеризуются изгибом остова на остатке Pro^7 и перегибом в центральной части молекулы — в окрестности остатка *аза-Tyr⁴*. Боковая цепь остатка *аза-Tyr⁴* находится «снаружи» молекулы и пространственно удалена от остатков His^6 и Pro^7 . В конформации *BRBB'RB BB* поворот непептидной цепи реализуется в районе остатков *аза-Tyr⁴-Val⁵*.

[*аза-Val⁵*]ангиотензин. В случае аналога [*аза-Val⁵*]ангиотензин к числу стабильных относятся конформации *BBRBL'BRB*, *BRRBL'BRB* и *BQRQL'BBB* (рис. 4). Две из них, *BBRBL'BRB* и *BRRBL'BRB*, отличаются лишь конформацией остатка Arg^2 . В связи с этим различным образом реализуется квазициклизация молекулы. В конформации *BBRBL'BRB* стабилизирующими элементом является электростатическое взаимодействие между С-концевой карбоксильной и N-концевой аминогруппой, а в конформации *BRRBL'BRB* — между С-концевой карбоксильной группой и гуанидиновой группой аргинина. Обе конформации сравнительно компактны — среднее расстояние между C^β-атомами молекулы составляет ~8,0 Å. Остаток Tyr^4 находится на вытянутом участке остова, удаленном от остатков His^6 и Phe^8 . В районах остатков Val^3 и *аза-Val⁵* пептидная цепь изменяет направление; поворот цепи осуществляется под углом ~90°. Конформация *BQRQL'BBB* отличается от предыдущих более высокой компактностью. Остов молекулы имеет перегибы в окрестности остатков $\text{Val}^3\text{-Tyr}^4$ и на остатке His^6 . Эффективное электростатическое взаимодействие реализуется в этом случае между С-кощцевой карбоксильной и N-концевой аминогруппами. Все три ароматические группы (остатки Tyr^4 , His^6 и Phe^8) расположены по одну сторону молекулы.

[*аза-His⁶*]ангиотензин. Энергетическому критерию 10 ккал/моль удовлетворяют лишь две конформации [*аза-His⁶*]ангиотензина — *BRBB RR'RB* и *BBB RR'Q'BB* (рис. 5). Несмотря на то, что обе конформации являются компактными, квазициклическими и стабилизируемыми электростатическим взаимодействием между С-кощцевым карбоксилом и гуанидиновой группой аргинина, в пространственном отношении они сильно различаются. В конформации *BRBB RR'RB* молекула имеет почти сферическую форму и остатки Tyr^4 , His^6 и Phe^8 удалены друг от друга на примерно равные расстояния. В конформации же *BBB RR'Q'BB* боковые радикалы остатков Tyr^4 и Phe^8 сближены.

Итак, располагая наборами стабильных структур *аза-аналогов ангиотензина* (табл. 2) и результатами тестирования их миотропной активности (табл. 1), можно переходить к выделению «биологически активных» конформаций ангиотензина. Сопоставление наборов стабильных структур аналогов, модифицированных в различных местах пептидного остова, можно проводить, сравнивая друг с другом одни и те же внутримолекулярные межатомные расстояния в различных конформациях различных аналогов. В данном случае проблема выделения «биологически активных»

Таблица 3

Сопоставление межостаточных расстояний (\AA) наборов стабильных структур ангиотензина и его *аза*-аналогов *

Пары остатков	Ангиотензин							[аза-Val ³]-АТ		
	BR _{RR} BBB	BBL _{RR} RB	BB _{LR} RRBB	BB _{RR} REBB	BBBBR _{RR} BB	BR _{LR} RRBBB	BHR*RB _{BB} RB	BRR*QR _{BR} RB	BRL*QR _{BR} RB	
1-3	7,0	7,4	7,7	7,4	6,6	6,7	6,1	7,8	7,6	6,2
2-4	8,9	6,4	8,1	7,4	6,0	6,5	5,3	9,0	8,8	8,3
3-5	4,9	8,4	7,6	5,2	9,1	8,6	8,2	6,1	5,4	8,1
4-6	7,9	7,7	7,6	7,5	5,3	6,0	7,4	7,5	8,1	8,3
5-7	8,7	8,8	8,9	8,9	8,8	8,9	8,9	8,6	8,9	8,8
6-8	6,4	6,0	7,4	6,1	5,0	6,0	5,1	5,5	5,5	5,6
1-4	7,4	3,9	7,2	11,0	10,5	10,8	10,2	6,7	6,2	12,2
2-5	9,7	7,3	11,3	10,2	10,9	11,6	8,6	9,1	9,6	6,0
3-6	5,1	8,3	6,8	4,4	10,7	11,3	7,3	4,4	4,2	7,8
4-7	8,4	9,3	9,7	8,9	7,5	7,0	9,4	12,0	9,4	9,5
5-8	9,3	10,3	10,0	9,4	9,9	9,3	8,3	10,8	10,3	10,1
1-5	10,1	4,8	11,9	12,2	14,8	15,0	13,0	7,9	9,2	11,6
2-6	8,4	6,2	10,6	9,0	9,6	11,9	8,6	4,2	6,9	4,3
3-7	7,0	6,7	5,4	8,2	11,0	12,0	5,3	9,6	7,8	6,7
4-8	9,9	11,6	8,9	8,2	8,0	6,1	8,4	12,6	11,8	12,5
1-6	8,8	7,5	13,3	11,3	14,7	16,7	11,2	5,5	8,2	9,1
2-7	7,5	6,8	8,4	9,9	8,3	10,1	9,1	8,8	6,8	6,8
3-8	5,3	9,2	5,6	5,5	13,0	11,3	6,4	8,9	7,0	8,7
1-7	4,7	10,6	12,7	14,2	12,8	15,6	8,8	8,9	5,0	7,9
2-8	3,6	6,7	5,4	4,8	9,4	9,5	6,1	6,8	5,5	5,9
1-8	6,5	11,2	10,3	8,9	14,9	14,8	7,3	8,0	8,7	6,4

Пары остатков	[аза-Tyr ⁴]-АТ				[аза-His ⁶]-АТ			[аза-Val ³]-АТ		
	B _{BR} Q*BB _{RB} B	B _{BL} L*BB _{RB} B	B _{RB} B*BB _{RB} B	B _{RB} B*RB _{BB} B	B _{RB} R*LB _{RB} B	B _{RB} B _{RR} *RB _{BB}	B _{BB} RRQ*BB _{BB}	B _{BR} BL*BR _{BB}	B _{RR} BL*BR _{BB}	B _{QR} QL*BB _{BB}
1-3	5,6	8,0	7,1	7,1	7,0	7,2	5,8	6,4	7,1	5,7
2-4	8,4	8,2	9,1	8,7	9,1	8,6	7,6	7,8	7,5	7,3
3-5	8,7	9,1	8,2	8,0	6,5	4,8	7,2	8,5	8,4	7,9
4-6	7,9	8,7	8,0	8,3	7,2	8,5	7,9	9,0	9,3	7,8
5-7	8,2	8,3	8,4	8,3	8,7	8,9	8,3	9,3	9,7	8,8
6-8	5,6	5,5	5,7	7,1	5,5	6,9	7,6	5,4	5,5	6,5
1-4	7,1	7,6	8,0	6,9	8,2	6,9	10,7	10,3	7,1	8,3
2-5	6,7	8,3	10,5	12,2	10,0	9,5	11,0	7,9	8,7	5,5
3-6	8,4	7,7	5,6	6,2	4,0	5,8	6,7	9,2	10,1	10,1
4-7	12,9	13,5	12,9	7,5	12,3	8,4	7,9	11,3	11,6	11,3
5-8	10,6	10,7	11,0	10,8	10,9	10,0	5,6	11,7	11,6	10,1
1-5	8,3	6,0	7,4	11,1	8,2	10,4	12,9	11,9	6,6	9,8
2-6	6,4	4,0	5,6	9,6	4,9	8,9	11,2	6,5	7,3	7,7
3-7	13,4	13,2	11,1	6,7	9,1	6,8	5,5	10,4	10,8	11,5
4-8	13,2	13,9	13,3	9,3	12,4	10,8	3,8	13,0	13,8	9,6
1-6	4,2	4,8	4,8	9,6	5,3	10,2	11,5	8,4	7,2	8,4

Таблица 3 (окончание)

Пары остатков	[аза-Тир ⁴]-АТ				[аза-Лис ⁶]-АТ				[аза-Val ⁵]-АТ		
	BBRQ*BBRB	BBLL*BBRB	BRRB*BBRB	BRBB*RB	BBRBL*BRB	BBBRRQ*BB	BBRBL*BRB	BQRQL*BBB			
2-7	9,6	9,1	9,8	7,5	8,8	6,6	6,0	4,8	6,7	6,8	
3-8	12,5	11,9	9,8	4,9	8,3	6,8	6,6	11,3	13,0	8,5	
1-7	9,2	8,2	7,4	4,7	9,0	5,0	7,6	8,3	6,1	8,1	
2-8	9,2	6,9	6,7	3,6	5,4	5,1	6,9	7,4	8,8	6,9	
1-8	7,1	8,0	7,1	6,5	7,4	7,7	10,9	7,0	10,2	3,5	

* Подчеркнуты межостаточные расстояния в стабильных конформациях, которые находятся за пределами допустимых изменений соответствующих расстояний для всего набора стабильных структур молекулы [аза-Val⁵]ангиотензина.

конформаций может быть сформулирована следующим образом: если эффективное связывание ангиотензина с рецепторами обусловлено величинами некоторых определенных межатомных расстояний, то в наборах стабильных структур соединений с высоким сродством к рецепторам (ангиотензин, [аза-Val⁵]-, [аза-Тир⁴]- и [аза-His⁶]ангиотензин) должны найтись конформации, в которых эти расстояния сходны между собой. В то же время именно этими структурными элементами весь набор стабильных конформаций аналога с низким сродством — [аза-Val⁵]ангиотензина — должен отличаться от наборов стабильных структур аналогов с высоким сродством.

Учитывая, что пространственные очертания молекулы в основном определяются стабильными конформациями пептидного остова, а не боковых цепей (которые гораздо более лабильны), можно полагать, что достаточно «устойчивой» характеристикой пространственной структуры молекулы в целом может служить совокупность внутримолекулярных межостаточных расстояний (расстояний между C^β-атомами). Подобные совокупности расстояний для семи стабильных ($\Delta U \leq 10$ ккал/моль) структур ангиотензина [13] и наборов стабильных структур упомянутых аза-аналогов приведены в табл. 3.

Следует обратить внимание, однако, на то обстоятельство, что межостаточные расстояния r_{ij} , приведенные в табл. 3, могут претерпевать некоторые изменения за счет малых флуктуаций углов внутреннего вращения пептидного остова в пределах данного локального энергетического минимума. Возможная величина таких изменений в каждом отдельном случае зависит от данной конформационной ситуации и может служить предметом отдельного исследования; можно, однако, полагать, что в сравнительно небольших и компактных молекулах типа ангиотензина и его аза-аналогов эти изменения не превышают ± 1 Å. Иными словами, при сопоставлении одного и того же межостаточного расстояния в данной паре конформаций (расстояния r_{ij} и r'_{ij}) для случая $|r_{ij} - r'_{ij}| \leq 2$ Å можно полагать, что по величине расстояния между остатками i и j данные конформации неразличимы.

Из данных табл. 3 видно, что при учете вышеизложенного сопоставление межостаточных расстояний имеет смысл проводить лишь начиная с трипептидов. В табл. 3 подчеркнуты те значения межостаточных расстояний в стабильных конформациях молекул аниготензина, [аза-Val⁵]-, [аза-Тир⁴]- и [аза-His⁶]ангиотензина, которые находятся за пределами допустимых изменений соответствующих расстояний для всего набора

стабильных структур молекулы [*аза*-Val⁵]ангиотензина. Видно, что лишь в трех случаях (r_{36} , r_{26} и r_{37}) значения межостаточных расстояний во всех аналогах с высоким сродством существенно отличаются от соответствующих значений для [*аза*-Val⁵]ангиотензина; при этом можно отметить, что не у всех аналогов с высоким сродством наблюдается сходство по расстоянию r_{26} . Следовательно, данные табл. 3 показывают, что для эффективного взаимодействия с рецепторами ангиотензина необходимо поддержание межостаточных расстояний $r_{36} \sim 4,2\text{--}6,2$ Å и $r_{37} \sim 6,7\text{--}8,2$ Å в молекулах самого ангиотензина и его аналогов.

Таким образом, можно полагать, что эффективное связывание с рецепторами в случае молекулы ангиотензина обеспечивается «конформационно жестким» участком — пентапептидом 3—7, причем конформация тетрапептида 3—6, входящего в его состав, также оказывается вполне определенной. Эта точка зрения согласуется с хорошо известными результатами биологического тестирования фрагментов ангиотензина [14], показавшими, что минимальным C-концевым его фрагментом, обладающим заметным сродством, является фрагмент 3—8, а минимальным центральным фрагментом, связывающимся с рецепторами, — фрагмент 3—6 [15]. Тем самым «биологически активными» конформациями, т. е. такими, в которых конформации фрагментов 3—7 и 3—6 отвечают указанным требованиям, можно считать структуры 1 и 4 молекулы ангиотензина, 2 — [*аза*-Val³]ангиотензина, 4 — [*аза*-Тир⁴]ангиотензина и 1 — [*аза*-His⁶]ангиотензина.

Таким образом, предлагаемая схема выделения «биологически активных» конформаций олигопептидов оказывается вполне оправданной в случае молекулы ангиотензина. Это обстоятельство в свою очередь открывает возможность для использования представления о «биологически активной» конформации при направленном синтезе аналогов ангиотензина, характеризующихся высокой эффективностью взаимодействия с рецепторами.

ЛИТЕРАТУРА

- Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Галактионов С. Г., Чипенс Г. И. (1979) Биоорган. химия, 5, 1609—1616.
- Walter R., Schwartz I. L., Darnell I. H., Urry D. W. (1971) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68, 1355—1359.
- Urry D. W., Walter R. (1971) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 68, 956—958.
- Balodis Yu. Yu., Nikiforovich G. V., Grinsteine I. V., Vegner R. E., Chipens G. I. (1978) FEBS Lett., 86, 239—242.
- Шендерович М. Д., Никифорович Г. В., Галактионов С. Г., Чипенс Г. И. (1978) Биоорган. химия, 3, 318—339.
- Балодис Ю. Ю., Вегнер Р. Э., Никифорович Г. В., Чипенс Г. И. (1978) Биоорган. химия, 4, 481—488.
- Chipens G. I., Krikis A. J., Romanovski P. J., Nikiforovich G. V., Mutulis F. M., Porunkevich E. A., Klusha V. E. (1979) In: Biophysical and Biochemical Information Transfer in Recognition (Vassileva-Popova J. G., Jensen E. V., eds), pp. 1—22, Plenum Press, New York — London.
- Кирнарский Л. И., Никифорович Г. В. (1975) Тез. докл. 1-й республиканской конф. молодых ученых-химиков, Таллин, с. 138—139.
- Макарова Н. А., Апсан Ю. Е., Клуша В. Е., Чипенс Г. И. (1978) в сб.: Фармакология нейротропных средств (Мелзобе М. Я., ред.), с. 144, Рига, Рижск. мед. ин-т.
- Molecular Pharmacology (1964) Ariens E. J., ed. vol. 1, p. 491, Acad. Press, New York — London.
- Galaktionov S. G., Nikiforovich G. V., Shenderovich M. D., Chipens G. I., Vegner R. E. (1976) in: Peptides-1976 (Loffet A., ed.), pp. 617—624, Bruxelles, Universite Bruxelles.
- Никифорович Г. В., Шендерович М. Д., Галактионов С. Г. (1976) Биоорган. химия, 2, 1268—1270.
- Шендерович М. Д. (1978) Канд. дис. «Исследование пространственной структуры и структурно-функциональных отношений молекулы ангиотензина», 214, Рига.
- Regoli D., Park W. K., Rioux F. (1974) Pharm. Rev., 26, 69—123.
- Chipens G. T., Ancan Yu. E., Afanasyeva G., Balodis Yu. Yu., Indulen J., Klusha V. E., Kudryashova V., Liepinsh E., Makarova N. A., Mishlyakova N. (1976) in: Peptides-1976, (Loffet A., ed.), pp. 353—360, Bruxelles, Universite Bruxelles.

Поступила в редакцию
8.X.1979

STRUCTURAL ASPECTS OF PEPTIDE HORMONE ANGIOTENSIN
FUNCTIONAL ACTIVITY.

III. «BIOLOGICALLY ACTIVE» CONFORMATIONS OF THE ANGIOTENSIN
MOLECULE

BALODIS Yu. Yu., NIKIFOROVICH G. V.

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

A method is proposed for selecting the «biologically active» conformations of an oligopeptide which involves a comparison of a set of stable structures both for naturally occurring oligopeptide and its analogs possessing either high or low affinity for the receptor of the native peptide. This approach is utilized with a series of angiotensin analogs, wherein some amino acid residues of the central part of the molecule were substituted for *aza*- α' -homoamino acids. The sets of stable spatial structures for these analogs were found by semi-empirical conformational analysis. It is shown that a conformational rigidity is inherent in the angiotensin fragments 3-7 and 3-6 which are essential for the effective binding to the receptor.