

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ $\alpha$ -S1-КАЗОМОРФИНА

Агаева Л.Н., Абдинова А.А., Ахмедова С.Р., Ахмедов Н.Ф., Ахмедов Н.А.

Бакинский государственный университет  
Азербайджанский государственный педагогический университет  
Азербайджанский технический университет  
ул. З. Халилова, 23, г. Баку, AZ1148, Азербайджан; e-mail: Namiq.49@bk.ru  
Поступила в редакцию: 25.06.2020

**Аннотация.** Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладает опиоидоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Первые известные экзорфины были получены при пепсиновом гидролизе  $\alpha$ -казеина и пшеничного глютена *in vitro*. Методом теоретического конформационного анализа исследованы конформационные возможности молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина (Tyr1-Val2-Pro3-Phe4-Pro5-NH<sub>2</sub>). Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найденны низкоэнергетические конформации молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина, значения двугранных углов основных и боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в состав молекулы, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Показано, что пространственная структура молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина представляется четырьмя структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. На основе полученных трехмерных структур, можно предложить для данной молекулы ее синтетические аналоги. Полученные результаты могут быть использованы для выяснения структурной и структурно-функциональной организации молекул казоморфинов.

**Ключевые слова:** экзорфин,  $\alpha$ -S1-казоморфин, опиоид, структура, конформация.

Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладает опиоидоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Первые известные экзорфины были получены при пепсиновом гидролизе  $\alpha$ -казеина и пшеничного глютена *in vitro*. Доказано устойчивость экзорфинов к действию ферментов поджелудочной железы и подтверждена опиоидная активность этих пептидов *ex vivo*. Оказалось, что опиоидоподобные производные казеина и глютена тормозят активность аденилатциклазы в культуре клеток, ингибируют сокращения семявыносящего протока мыши, а также вытесняют агонисты опиоидных рецепторов, помеченные радиоактивной меткой, из мест связывания на срезах головного мозга крысы. Среди экзорфинов животного происхождения лучше всего исследованы производные молочных белков. Наиболее известны молочные экзорфины –  $\beta$ -казоморфины-4,-5,-6,-7 продукты ферментативного гидролиза  $\beta$ -казеина коровьего молока. Аналогичные пептиды в составе молекулы  $\beta$ -казеина были позднее обнаружены в молоке других видов млекопитающих, включая и человека. Из других молочных белков также выделены экзорфины, но они изучены существенно хуже производных  $\beta$ -казеина и в основном имеют средство к опиоидным рецепторам. Из  $\alpha$ -казеина женского молока был выделен пентапептид  $\alpha$ -S1-казоморфин. Интересно, что этот пептид обладает способностью подавлять пролиферацию клеток опухоли молочной железы. Физиологическое действие антагонистических экзорфинов до сих пор изучено очень слабо. Некоторые молочные экзорфины могут не только образовываться при переваривании молока в желудочно-кишечном тракте, но и содержаться в сырах “готовым” виде, поскольку технология изготовления сыра связана с ферментативной обработкой. Особое внимание исследователей к казоморфинам связано с тем, что молоко является единственной пищей детей раннего возраста, причем известно, что некоторые изменения состава молока могут существенно влиять на физическое и психическое развитие грудных детей, в том числе вызывая долгосрочные эффекты [1-6].

Нами были исследованы структурно-функциональные организации опиоидных пептидов, а в настоящее время исследуется пространственная структура экзорфинов. Эта работа является продолжением наших предыдущих исследований [7-13].

Расчет молекулы выполнен с помощью метода теоретического конформационного анализа. Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Невалентные взаимодействия были оценены по потенциалу Леннарда-Джонса. Электростатические взаимодействия рассчитывались в монопольном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекулы рубисколина изучены в условиях водного окружения, в связи, с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе. В наших вышеупомянутых работах подробно описаны используемые потенциальные функции.

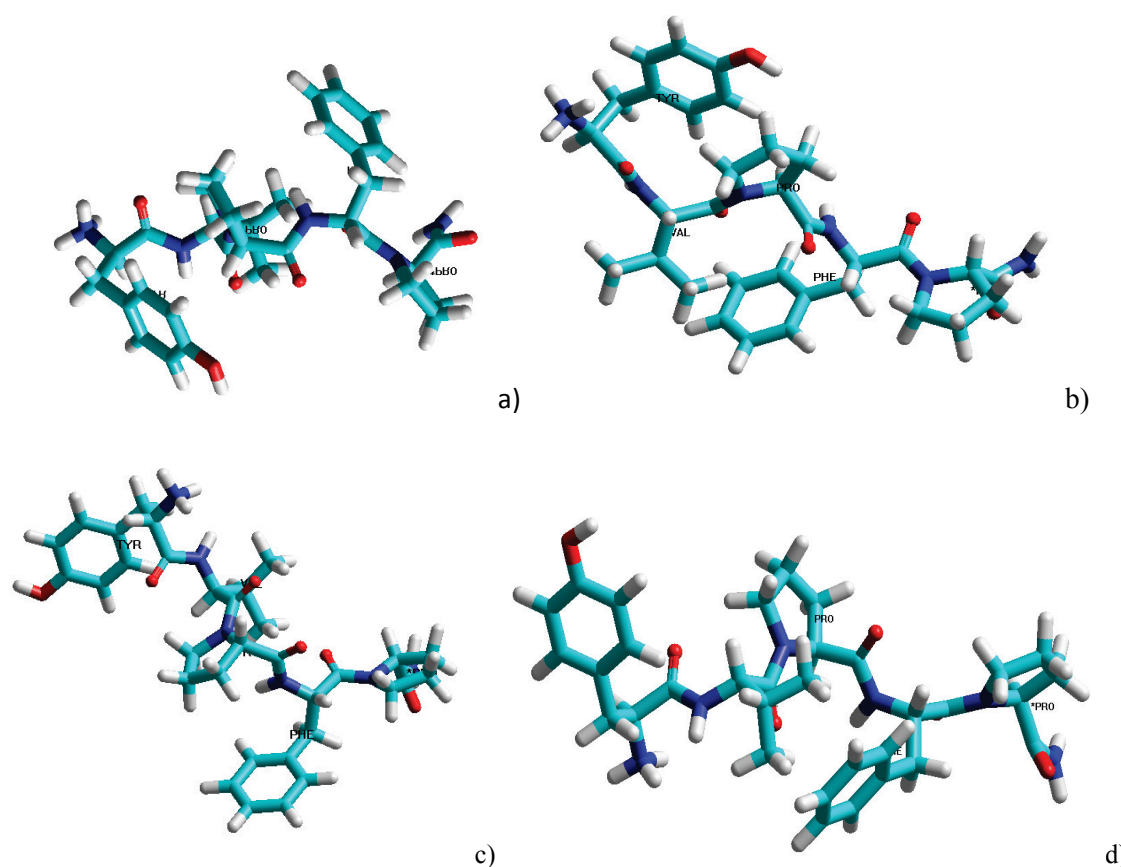
При изложении результатов расчета использована классификация пептидных структур по конформациям, формам основной цепи и шейкам пептидного скелета. Конформационные состояния полностью определяются значениями двугранных углов основной и боковых цепей всех аминокислотных остатков, входящих в данную молекулу. Формы основной цепи фрагмента образуются сочетаниями форм R, B, L остатков в данной последовательности. Формы основной цепи дипептида могут быть разделены на два класса – свернутые (f) и развернутые (e) формы, которые названы шейками. Все конформации группируются по формам основной цепи,

**Таблица 1.** Относительная энергия и энергетические вклады невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий предпочтительных конформаций молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина

№	Шейп	Конформация	Энергетический вклад			U <sub>отн</sub>
			U <sub>нев</sub>	U <sub>эл</sub>	U <sub>торс</sub>	
1	eefe	B <sub>2</sub> B <sub>2</sub> RB <sub>1</sub> B	-17,4	-2,0	2,3	0
2	eeee	B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> BB <sub>3</sub> B	-16,5	-2,1	1,9	1,1
3	fefe	R <sub>2</sub> B <sub>2</sub> RB <sub>3</sub> B	-14,5	-1,7	2,1	3,7
4	feee	R <sub>2</sub> B <sub>2</sub> BB <sub>3</sub> B	-14,5	-1,8	2,3	3,7

а формы – по шейпам. Для обозначения конформационных состояний остатков использованы идентификаторы типа X<sub>ij</sub>, где X определяет низкоэнергетические области конформационной карты  $\varphi - \psi$ : R( $\varphi, \psi = -180^\circ - 0^\circ$ ), B( $\varphi = -180^\circ - 0^\circ, \psi = 0^\circ - 180^\circ$ ), L( $\varphi, \psi = 0^\circ - 180^\circ$ ) и P( $\varphi = 0^\circ - 180^\circ, \psi = -180^\circ - 0^\circ$ ); ij...=11...,12...,13...,21... определяет положение боковой цепи ( $\chi_1, \chi_2...$ ), причем индекс 1 соответствует значению угла в пределах от 0 до 120°, 2 – от 120° до -120°, и 3 – от -120° до 0°. Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют номенклатуре IUPAC-IUB [14].

Трехмерная структура молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина (Tyr1-Val2-Pro3-Phe4-Pro5-NH<sub>2</sub>) была исследована на основе низкоэнергетических конформаций метиламида N-ацетил-L-тирозина, метиламида N-ацетил-L-валина и метиламида N-ацетил-L-пролина. На третьем и на пятом местах аминокислотной последовательности молекулы находятся пролины, поэтому для пентапептидной молекулы возможны восемь шейпов пептидного скелета. Результаты расчета показали, что возникает энергетическая дифференциация между конформациями, формами основных цепей и шейпами. В энергетический интервал 0-4,0 ккал/моль попадают конформации четырех шейпов. В этот интервал попадают конформации форм основной цепи BBRBB, BBBB, RBRBB, RBVV. Относительная энергия и энергетические вклады невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий этих конформаций молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина показаны в таблице 1. Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий, геометрические параметры четырех конформаций, относительная энергия которых меньше 4,0 ккал/моль представлены в таблицах 2, 3. Пространственное расположение аминокислот в низкоэнергетических конформациях B<sub>2</sub>B<sub>2</sub>RB<sub>1</sub>B, B<sub>1</sub>B<sub>2</sub>BB<sub>3</sub>B, R<sub>2</sub>B<sub>2</sub>RB<sub>3</sub>B, R<sub>2</sub>B<sub>2</sub>BB<sub>3</sub>B представлено на рисунке 1(a,b,c,d).



**Рисунок 1.** Пространственное расположение аминокислот в низкоэнергетических конформациях B<sub>2</sub>B<sub>2</sub>RB<sub>1</sub>B(a), B<sub>1</sub>B<sub>2</sub>BB<sub>3</sub>B(b), R<sub>2</sub>B<sub>2</sub>RB<sub>3</sub>B(c), R<sub>2</sub>B<sub>2</sub>BB<sub>3</sub>B(d)

**Таблица 2.** Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина  $V_2V_2RB_1V$  ( $U_{отн.} = 0$  ккал/моль, 1 строка),  $V_1V_2BV_3V$  ( $U_{отн.} = 1,1$  ккал/моль, 2 строка),  $R_2V_2RB_3V$  ( $U_{отн.} = 3,7$  ккал/моль, 3 строка),  $R_2V_2BV_3V$  ( $U_{отн.} = 3,7$  ккал/моль, 4 строка)

Tyr1	Val2	Pro3	Phe4	Pro5	
2,7	-4,1	-2,4	-0,4	0	Tyr1
2,0	-2,8	-4,4	-0,4	-0,1	
2,6	-3,8	-1,2	-0,4	0	
2,5	-3,8	-1,1	-0,8	-0,2	
	0,6	-3,2	-4,5	-0,5	Val2
	0,3	-3,8	-2,9	0	
	1,1	-3,2	-2,4	-0,3	
	1,2	-3,9	-4,2	0	
		0,3	-2,7	-0,6	Pro3
		0,3	-1,1	-0,5	
		0,3	-3,3	-0,6	
		0,3	-1,0	-0,5	
			0,9	-4,4	Phe4
			0,1	-4,0	
			0,4	-4,0	
			0,4	-4,0	
				-0,9	Pro5
				-1,2	
				-1,3	
				-1,3	

В низкоэнергетических конформациях энергия невалентных взаимодействий изменяются в энергетическом интервале (-17,4 – -14,5) ккал/моль, электростатических взаимодействий (-2,1 - -1,7) ккал/моль торсионных взаимодействий (1,9-2,3) ккал/моль (табл. 1). Самой стабильной конформацией молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина является  $V_2V_2RB_1V$  шейпа eefe. Она выгодна по невалентным и электростатическим взаимодействиям, боковые цепи Tyr1 и Phe4 направлены к C-концу молекулы и эффективно взаимодействуют с атомами основной цепи. Вклад которых составляют соответственно (-6,9) ккал/моль и (-4,4) ккал/моль. Val2 эффективно взаимодействует с остатками Pro3 и Phe4, вклад которых составляет (-7,7) ккал/моль (табл. 2, рис. 1, а). Энергетические вклады невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и вклады межостаточных взаимодействий в четырех низкоэнергетических конформациях резко не отличаются (табл. 1 и 2, рис. 1, b,c,d).

Таким образом, пространственную структуру молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина можно представить четырьмя структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. На основе полученных трехмерных структур, можно предложить для данной молекулы ее синтетические аналоги. Теоретический конформационный анализ гептапептидной молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфин привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

**Таблица 3.** Геометрические параметры (град.) оптимальных конформаций молекулы  $\alpha$ -S1-казоморфина

Остаток	Конформации			
	$V_2V_2RB_1V$	$V_1V_2BV_3V$	$R_2V_2RB_3V$	$R_2V_2BV_3V$
Tyr1	-83 143 180 174 80 0	-67 169 176 71 93 0	-44 -55 179 -174 93 0	-46 -57 179 -177 90 0
Val2	-104 126-178 -174-177 -176	-113 106 176 179-179 178	-80 125 -178 180-178 -177	-74 129 173 175 -177 180
Pro3	-60 -50 179	-60 128 177	-60 -50 -176	-60 113-179
Phe4	-88 145 179 59 84	-105 148 176 -57 106	-83 150 176 -61 94	-104 149 175 -57 122
Pro5	-60 128 180	-60 145 -179	-60 150-179	-60 153 180
$U_{отн.}$	0	1,1	3,7	3,7

Примечание: значения двугранных углов даны в последовательности  $\phi, \psi, \omega, \chi_1, \chi_2, \dots$

**Список литературы / References:**

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему. *Успехи физиологических наук*. 2015, т. 46, № 1, с. 22-46. [Chesnokova E.A., Sarycheva N.Y., Dubynin V.A., Kamensky A.A. Food-Derived Opioid Peptides and Their Neurological Impact. *Advances in Physiological Sciences*, 2015, vol. 46, no. 1, pp. 22-46. (In Russ.)]
2. De Azevedo E. Risks and controversies in the social construction of the concept of healthy food: the case of soy. *Rev Saude Publica*. 2011, vol. 45, no. 4, pp. 1-7.
2. Kampa M., Loukas S., Hatzoglou A. et al. Identification of a novel opioid peptide (Tyr-Val-Pro-Phe-Pro) derived from human  $\alpha_{S1}$  casein ( $\alpha_{S1}$ -casomorphin and  $\alpha_{S1}$ -casomorphin amide). *Biochem. J.*, 1996, vol. 319, pp. 903-908.
3. Ziodrou C., Sreaty R.A., Klee W.A. Opioid peptides derived from food proteins. The exorphins. *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, no. 7, pp. 2446-2449.
4. Meisel H., FitzGerald R.J. Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences. *British J. Nutrition*, 2000, vol. 84, no. 1, pp. S27-S31.
5. Sienkiewicz-Szlapka E., Jarmolowska B., Krawczuk S., Kostyra E. Contents of agonistic and antagonistic opioid peptides in different cheese varieties. *Int. Dairy J.*, 2009, vol. 19, no. 4, pp. 258-263.
6. De Azevedo E. Risks and controversies in the social construction of the concept of healthy food: the case of soy. *Rev Saude Publica*, 2011, vol. 45, no. 4, pp. 1-7.
7. Ахмедов Н.А. Теоретический конформационный анализ молекул  $\beta$ -казоморфина, валмуцептина и морфицептина. *Молекулярная Биология*, 1989, т. 23, с. 240-248. [Akhmedov N.A. Theoretical conformation analysis of  $\beta$ -casomorphin, valmuceptin and morphiceptin molecules. *Molecular Biol.*, 1989, vol. 23, pp. 240-240. (In Russ.)]
8. Ахмедов Н.А., Годжаев Н.М., Сулейманова Е.В., Попов Е.М. Структурная организация молекул [Met] энкефалина и эндорфинов. *Биоорганическая химия*, 1990, т. 16, с. 649-667. [Akhmedov N.A., Godjaev N.M., Suleymanova E.V., Popov E.M. Structural organization of the [Met] enkephalin and endorphins molecules, *Bioorganicheskaya Khimiya*, 1990, vol. 16, pp. 649-667. (In Russ.)]
9. Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Ismailova L.I., Godjaev N.M. The spatial structure of the cardio active peptides. *Current Topics in Peptide and Protein Research*, 2010, vol. 11, pp. 87-93.
10. Гаджиева Ш.Н., Ахмедов Н.А., Масимов Э.А., Годжаев Н.М. Пространственная структура молекулы Thr-Pro-Ala-Glu-Asp-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>. *Биофизика*, 2013, т. 58, вып. 4, с. 587-590. [Gadjieva Sh.N., Akhmedov N.A., Masimov E.A., Godjaev N.M. Spatial Structure of Thr-Pro-Ala-Glu-Asp-Phe-Met-Arg-Phe-NH<sub>2</sub>. *Biophysics*, 2013, vol. 58, pp. 587-590. (In Russ.)]
11. Akhmedov N.A., Ismailova L.I., Abbasli R.M. et al. Spatial Structure of Octarphin molecule. *IOSR J. Applied Physics (IOSR-JAP)*, 2016, vol. 8, pp. 66-70.
12. Hasanov E.M., Akhmedov N.A. Spatial Structure of Peptide BAM-20P. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 2018, vol. 3, pp. 72-76.
13. Akhmedov N.A., Abbasli R.M., Agayeva L.N., Ismailova L.I. Three-dimensional structure of exorpin B5 molecule. *Conference proceedings Modern Trends In Physics*, 2019, pp. 201-104.
14. IUPAC-IUB, Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988, vol. 39.

**SPATIAL STRUCTURE OF THE  $\alpha$ -S1-CASOMORPHIN MOLECULE****Agayeva L.N., Abdinova A.A., Akhmedova S.R., Akhmedov N.F., Akhmedov N.A.**Baku State University, Azerbaijan State Pedagogical University,  
Azerbaijan Technical UniversityZ. Khalilov st. 23, Baku, AZ1148, Azerbaijan, e-mail: [Namiq.49@bk.ru](mailto:Namiq.49@bk.ru)

**Abstract.** A number of exogenous peptides obtained with food have opioid-like properties. Such peptides were called exorphins. The first known exorphins were obtained by pepsin hydrolysis of  $\alpha$ -casein and wheat gluten *in vitro*. The method of conformational analysis of the conformational capabilities of the  $\alpha$ -S1-casomorphine molecule (Tyr1-Val2-Pro3-Phe4-Pro5-NH<sub>2</sub>) were studied. The potential function of the system is selected as the sum of non-valent, electrostatic and torsion interactions and the energy of hydrogen bonds. Low-energy conformations of the  $\alpha$ -S1-casomorphine molecule are found, the dihedral angles of the main and side chains of the amino acid residues that make up the molecule, the energy of intra- and inter-residual interactions is estimated. It was shown that the spatial structure of the  $\alpha$ -S1-casomorphine molecule is represented by four structural types, and it can be assumed that the molecule performs its physiological functions in these structures. Based on the obtained three-dimensional structures, it is possible to propose its synthetic analogues for this molecule. The results can be used to elucidate the structural and structural-functional organization of casomorphine molecules.

**Key words:** exorphin,  $\alpha$ -S1-casomorphine, opioid, structure, conformation.