

## ТРЕХМЕРНАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ БЕТА-ЛАКТОРФИНА

Агаева Л.Н.<sup>1</sup>, Абдинова А.А.<sup>2</sup>, Ахмедова С.Р.<sup>3</sup>, Ахмедов Н.Ф.<sup>1</sup>, Ахмедов Н.А.<sup>1</sup><sup>1</sup> Бакинский государственный университет

ул. 3. Халилова, 23, г. Баку, AZ-1148, Азербайджан; e-mail: leylanamig@mail.ru

<sup>2</sup> Азербайджанский государственный педагогический университет

ул. Рашида Бейбутова, 6, г. Баку, Азербайджан

<sup>3</sup> Азербайджанский технический университет

просп. Гусейна Джавида, 25, г. Баку, Азербайджан

Поступила в редакцию 22.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0486

**Аннотация.** Опиоидные пептиды вызывают обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Эти пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Обнаружен ряд молочных экзорфинов, имеющих свойства антагонистов опиоидных рецепторов. К ним относятся казоксины А, В, С, человеческий казоксин D, а также лактоферроксины А, В и С, а также альфа и бета лакторфины. Возможность образования этих пептидов при гидролизе соответствующих белков пептидазами желудочно-кишечного тракта доказана *in vitro*. Представителями экзорфинов являются также цитохрофины и геморфины. Предполагается, что эти пептиды могут образовываться *in vivo* при протеолитическом расщеплении цитохрома b и гемоглобина. Молекула бета-лакторфина является представителем этого класса. Методом теоретического конформационного анализа исследованы конформационные возможности молекулы бета-лакторфина Tug-Leu-Leu-Phe. Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найдены низкоэнергетические конформации молекулы альфа-лакторфина, значения двугранных углов основных и боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в состав молекул, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Показано, что пространственная структура молекулы бета-лакторфина может быть представлена восемью формами основной цепи. Полученные результаты могут быть использованы для выяснения структурной и структурно-функциональной организации молекул экзорфинов.

**Ключевые слова:** экзорфин, лакторфин, опиоид, структура, конформация.

Опиоидные пептиды вызывают обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Эти пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Обнаружен ряд молочных экзорфинов, имеющих свойства антагонистов опиоидных рецепторов. К ним относятся казоксины А, В, С, человеческий казоксин D, а также лактоферроксины А, В и С, а также альфа и бета лакторфины. Возможность образования этих пептидов при гидролизе соответствующих белков пептидазами желудочно-кишечного тракта доказана *in vitro*. Представителями экзорфинов являются также цитохрофины и геморфины. Предполагается, что эти пептиды могут образовываться *in vivo* при протеолитическом расщеплении цитохрома b и гемоглобина. Молекула бета-лакторфина является представителем этого класса. Проведено исследование нейротропных эффектов опиоидных пептидов фрагментов глутена, рубисколина и цитохрома b. Показано, что обладающие относительной  $\delta$ -селективностью экзорфин С и рубисколин-5 характеризуются сходным по направленности действием на поведение детенышей белых крыс. Слабо влияя на состояние экспериментальных животных при острых инъекциях, после хронического введения в 1 и 14-й дни жизни они вызвали снижение тревожности и улучшение обучения в лабиринте с пищевым подкреплением. Последствия применения цитохрофина-4 были наиболее близки к действию  $\beta$ -казоморфина-5 короткого  $\mu$ -селективного фрагмента  $\beta$ -казеина. Оба эти пептида оказывали анксиолитическое влияние при острых инъекциях; после хронического введения их эффекты быстро угасали, по мере созревания мозгов детенышей. Молекула бета-лакторфина является представителем этого класса [1-3].

Нами были исследованы структурно-функциональные организации опиоидных пептидов энкефалинов, эндорфинов, эндоморфинов, динорфинов, неэндорфинов, адренорфина, а в настоящее время исследуется пространственная структура экзорфинов. Эта работа является продолжением наших предыдущих исследований [4-12].

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 монополярном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекулы альфа-лактофрина 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 [4,5].

При изложении результатов расчета использована классификация пептидных структур по конформациям, формам основной цепи и шейпам 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 шейпами. Все конформации группируются по формам основной цепи, а формы – по шейпам. Для обозначения конформационных состояний остатков использованы идентификаторы типа  $X_{ij}$ , где X определяет низкоэнергетические области конформационной карты  $f-\psi : R(f, \psi = -180^\circ - 0^\circ)$ ,  $B(\phi = -180^\circ - 0^\circ, \psi = 0^\circ - 180^\circ)$ ,  $L(\phi, \psi = 0^\circ - 180^\circ)$  и  $P(\phi = 0^\circ - 180^\circ, \psi = -180^\circ - 0^\circ)$ ;  $ij \dots = 11 \dots, 12 \dots, 13 \dots, 21 \dots$  определяет положение боковой цепи ( $\chi_1, \chi_2 \dots$ ), причем индекс 1 соответствует значению угла в пределах от 0 до  $120^\circ$ , 2 – от  $120^\circ$  до  $-120^\circ$ , и 3 - от  $-120^\circ$  до  $0^\circ$ . Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют номенклатуре IUPAC-IUB [13].

Трехмерная структура молекулы бета-лактофрина Tyr1- Leu2- Leu3- Phe4 была исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. Расчет пространственной структуры альфа-лактофрина показал, что возникает сильная энергетическая дифференциация, между шейпами, формами основной цепи и конформациями. В широкий энергетический интервал 0–7,0 ккал/моль попадают конформации восьми шейпов и они представлены восьми формами основной цепи. Таким образом, в энергетический интервал 0-7,0 ккал/моль попадают конформации всех возможных шейпов. Из каждой формы выбраны самые стабильные конформации, которые представлены в таблице 1. Здесь указаны энергетические вклады невалентных ( $U_{нев.}$ ), электростатических ( $U_{эл.}$ ), торсионных ( $U_{торс.}$ ) взаимодействий и относительная ( $U_{отн.}$ ) энергия оптимальных конформаций молекулы бета-лактофрина. Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий, геометрические параметры четырех конформаций, относительная энергия которых меньше 3,0 ккал/моль представлены в таблицах 2, 3. На рисунке 1 показано пространственное расположение аминокислотных остатков в этих низкоэнергетических конформациях молекулы бета-лактофрина.

В представленных низкоэнергетических конформациях энергия невалентных взаимодействий изменяется в энергетическом интервале (-21,2)–(-13,8) ккал/моль, электростатических взаимодействий 1,3–3,6 ккал/моль, торсионных взаимодействий (2,1)–(4,1) ккал/моль (табл. 1). Глобальной конформацией молекулы бета-лактофрина является конформация  $B_2B_{21}R_{22}R_3$  полусвернутого шейпа eef (рис. 1). Конформация является выгодной по невалентным взаимодействиям (табл. 1, рис. 1). В этой конформации возникают эффективные ди-, три и тетрапептидные взаимодействия, Tyr1 эффективно взаимодействует с трипептидным фрагментом Leu2-Leu3-Phe4, вклад которых составляют (-9,3L) ккал/моль, также Leu2 с Leu3 и Leu3 с Phe4. Общий вклад их межостаточных взаимодействий составляет (-11,5) ккал/моль (табл. 2).

Конформация  $R_2R_{21}R_{31}R_3$  полностью свернутого шейпа fff имеет относительную энергию 1,4 ккал/моль. Эта конформация выгодна по электростатическим взаимодействиям, вклад электростатического отталкивания составляет всего 1,3 ккал/моль (табл. 1). В этой конформации N- и C-концы молекулы бета лактофрина сближены в пространстве, Tyr1 эффективно взаимодействует с Phe4, энергетический вклад которых составляет (-8,2) ккал/моль. Также образуется водородная связь между атомами N-H Tyr1 и атомами C=O Phe4. Возникают эффективные дипептидные взаимодействия между аминокислотными остатками Leu2-Leu3 и Leu3-Phe4 (табл. 2).

**Таблица 1.** Относительная энергия и энергетические вклады (ккал/моль) невалентных ( $U_{нев.}$ ), электростатических ( $U_{эл.}$ ), торсионных ( $U_{торс.}$ ) взаимодействий предпочтительных конформаций молекулы бета-лактофрина

| №  | Шейп  | Конформация          | Энергетический вклад |           |             | $U_{общ.}$ | $U_{отн.}$ |
|----|-------|----------------------|----------------------|-----------|-------------|------------|------------|
|    |       |                      | $U_{нев.}$           | $U_{эл.}$ | $U_{торс.}$ |            |            |
| 1. | e e f | $B_2B_{21}R_{22}R_3$ | -21,2                | 3,3       | 2,9         | -15,0      | 0          |
| 2. | f f f | $R_2R_{21}R_{31}R_3$ | -17,7                | 1,3       | 2,8         | -13,6      | 1,4        |
| 3. | e f f | $B_1R_{21}R_{31}R_3$ | -19,2                | 2,3       | 4,1         | -12,9      | 2,1        |
| 4. | f e f | $R_2B_{21}R_{31}R_3$ | -18,2                | 3,6       | 2,1         | -12,5      | 2,5        |
| 5. | f e e | $R_2B_{21}B_{12}B_3$ | -17,0                | 3,6       | 3,0         | -10,4      | 4,6        |
| 6. | e e e | $B_3B_{21}B_{21}B_3$ | -16,3                | 3,1       | 3,1         | -10,1      | 4,9        |
| 7. | f f e | $R_2R_{21}B_{31}B_1$ | -15,4                | 3,0       | 2,7         | -9,7       | 5,3        |
| 8. | e f e | $B_3R_{21}B_{21}B_1$ | -13,8                | 2,9       | 2,2         | -8,7       | 6,3        |

**Таблица 2.** Энергия внутри-и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях молекулы бета-лакторфина: B<sub>2</sub>B<sub>21</sub>R<sub>22</sub>R<sub>3</sub> (U<sub>отн</sub>=0 ккал/моль, 1-я строка), R<sub>2</sub>R<sub>21</sub>R<sub>31</sub>R<sub>3</sub> (U<sub>отн</sub>=1,4 ккал/моль, 2-я строка), B<sub>1</sub>R<sub>21</sub>R<sub>31</sub>R<sub>3</sub> (U<sub>отн</sub>=2,1 ккал/моль, 3-я строка), R<sub>2</sub>B<sub>21</sub>R<sub>31</sub>R<sub>3</sub> (U<sub>отн</sub>=2,5 ккал/моль, 4-я строка)

| Tyr1 | Leu2 | Leu3 | Phe4 |      |
|------|------|------|------|------|
| 2,6  | -3,8 | -3,3 | -2,2 | Tyr1 |
| 2,9  | -2,1 | -0,7 | -8,2 |      |
| 2,6  | -2,4 | -1,4 | -6,2 |      |
| 2,7  | -3,3 | -1,7 | -2,3 |      |
|      | -1,1 | -2,0 | -2,9 | Leu2 |
|      | -0,9 | -3,4 | -0,8 |      |
|      | -0,9 | -3,7 | -0,6 |      |
|      | -1,2 | -2,5 | -2,6 |      |
|      |      | -0,3 | -5,5 | Leu3 |
|      |      | -0,6 | -3,3 |      |
|      |      | -0,6 | -4,4 |      |
|      |      | -0,6 | -3,4 |      |
|      |      |      | 0,6  | Phe4 |
|      |      |      | 0,7  |      |
|      |      |      | 0,5  |      |
|      |      |      | 0,4  |      |

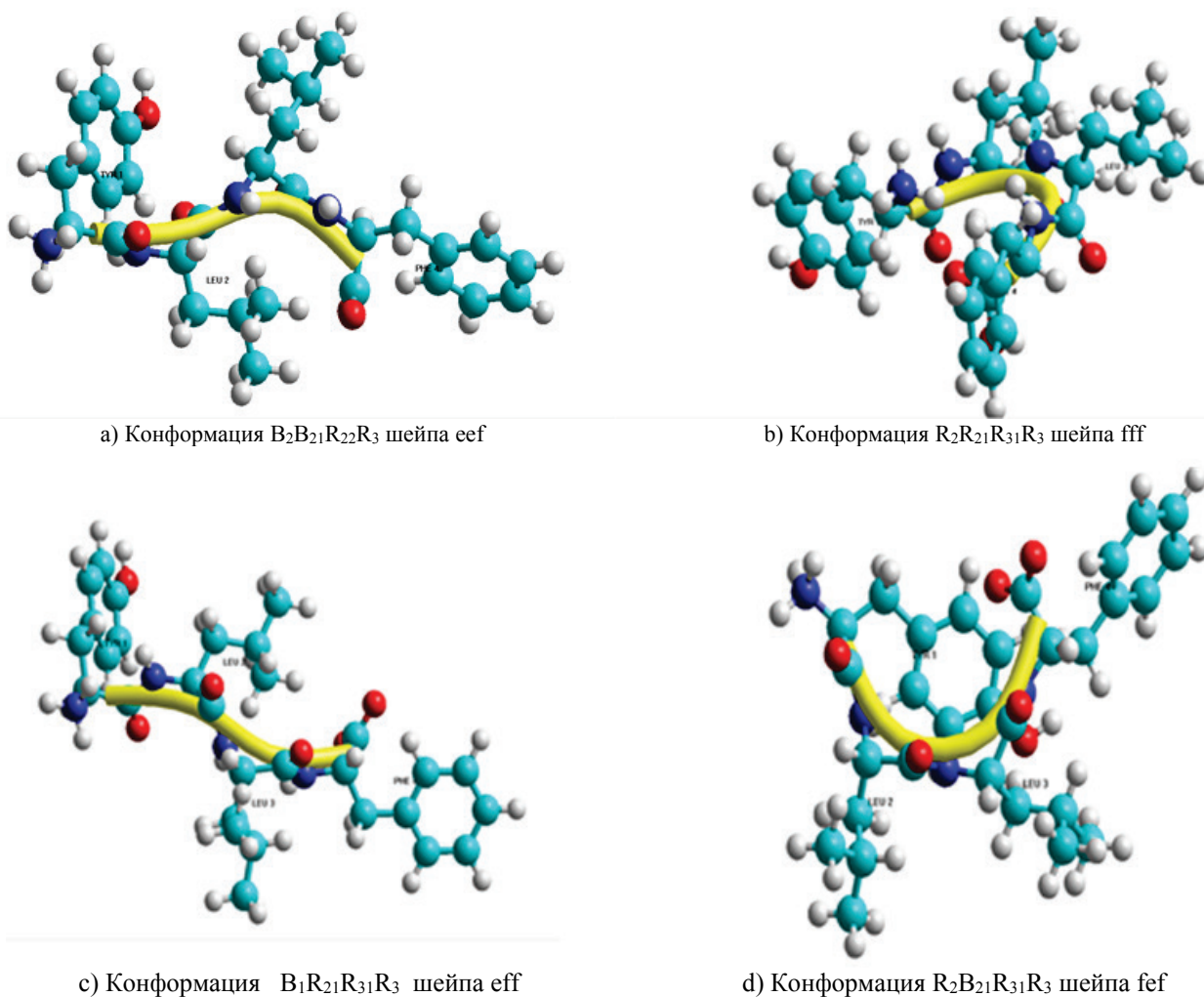
**Таблица 3.** Геометрические параметры (град.) оптимальных конформаций молекулы бета-лакторфина

| Остаток | Конформации   |   |   |   |
|---------|---|---|---|---|
|         | B <sub>2</sub> B <sub>21</sub> R <sub>22</sub> R <sub>3</sub> | R <sub>2</sub> R <sub>21</sub> R <sub>31</sub> R <sub>3</sub> | B <sub>1</sub> R <sub>21</sub> R <sub>31</sub> R <sub>3</sub> | R <sub>2</sub> B <sub>21</sub> R <sub>31</sub> R <sub>3</sub> |
| Tyr1    | -81 146 175<br>171 80 0                                       | -38 -48 178<br>-171 91 0                                      | -45 148 -176<br>66 83 0                                       | -66 -70 180<br>170 72 0                                       |
| Leu2    | -122 134 179<br>179 66 179<br>174                             | -82 -56 178<br>-177 64 180<br>178                             | -97 -58 -175<br>-170 68 179<br>175                            | -110 113 180<br>173 59 179<br>175                             |
| Leu3    | -89 -66 -177<br>-159 178 -169<br>-179                         | -82 -56 -175<br>-78 63 180<br>171                             | -83 -73 -166<br>-79 64 180<br>173                             | -94 -54 180<br>-72 64 179<br>168                              |
| Phe4    | -94 -61 -<br>-57 102  | -96 -42 -<br>-56 95   | -103 -48 -<br>-55 94  | -122 -59 -<br>-56 86  |
| ΔU      | 0,0 ккал/моль   | 1,4 ккал/моль   | 2,1 ккал/моль   | 2,5 ккал/моль   |

Примечание: значения двугранных углов даны в последовательности φ, ψ, ω, χ<sub>1</sub>, χ<sub>2</sub>

Конформация B<sub>1</sub>R<sub>21</sub>R<sub>31</sub>R<sub>3</sub> шейпа eff с относительной энергией 2,1 ккал/моль, от полностью свернутой конформацией, отличается формой основной цепи Tyr1, поэтому характер межостаточных взаимодействий почти такой же, как в полностью свернутой конформации (табл. 2, рис. 1с). Конформация R<sub>2</sub>B<sub>21</sub>R<sub>31</sub>R<sub>3</sub> шейпа fef от полностью свернутой формы отличается формой основной цепи Leu2. В форма Leu2 отделяет друг от друга N- и C-концы молекулы, поэтому уменьшаются взаимодействия между остатками Tyr1 и Phe4 (табл. 2, рис. 1d). Относительные энергии конформаций шейпов fee, eee, ffe, и efe выше 4,6 ккал/моль (табл. 1).

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



**Рисунок 1.** Пространственное расположение аминокислотных остатков в низкоэнергетических конформациях молекулы бета-лакторфина

#### 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. Соколов О.Ю., Кост Н.В., Андреева О.О., Корнеева Е.В., Мешавкин В.К., Тараканова Ю.Н., Дадаян А.К., Золотарев Ю.А., Грачев С.А., Михеева И.Г., Зозуля А.А. Возможная роль казоморфинов в патогенезе аутизма. *Психиатрия*, 2010, т. 45, № 3, с. 29-35. [Sokolov O.Yu., Kost N.V., Andreeva O.O., Korneeva E.V., Meshavkin V.K., Tarakanova Yu.N., Dadayan A.K., Zolotarev Yu.A., Grachev S.A., Mikheeva I.G., Zozulya A.A. Possible role of casomorphins in the pathogenesis of autism. *Psychiatry*, 2010, vol. 45, no. 3, pp. 29-35. (In Russ.)]
3. Sienkiewicz-Szlapka E., Jarmolowska B., Krawczuk S., Kostyara E. Contents of agonistic and antagonistic opioid peptides in different cheese varieties. *Int. Dairy J.*, 2009, vol. 19, no. 4, pp. 258-263.
4. 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. 240-248. (In Russ.)]
5. 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. *Bioorganic chemistry*, 1990, vol. 16, pp. 649-667. (In Russ.)]
6. 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, № 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, no. 4, pp. 587-590. (In Russ.)]

7. 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.
8. Ismailova L.I., Abbasli R.M., Akhmedov N. Computer Modeling of the Spatial Structure of Nonapeptide Molecule. *COIA*, 2020, vol. 1, pp. 218-221.
9. Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Akverdieva G.A., Abbasli R.M., Ismailova L.I. Spatial structure of the ACTH-(6-9)-PGP molecule. *J.Chem.Soc.Pak.*, 2021, vol. 43, no. 5, pp.500-504.
10. Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Akhmedova S.R., Abbasli R.M., Ismailova L.I. Spatial structure of the  $\beta$ -Casomorphin-7 Molecule. *IOSR Journal of Applied. Physics (IOSR-JAP)*, 2021, vol. 13, pp. 62-67. doi: 10.9790/4861-1305026267.
11. Agayeva L.N., Abdinova A.A., Akhmedova S.R., Akhmedov N.A. Spatial Structure of the ACTH-(7-10) Molecule. *Biophysics*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 531-534.
12. 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.
13. *IUPAC-IUB. Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry*. Oxford: Blackwell Scientific, 1993.

### THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF THE BETA-LACTORFIN MOLECULE

Agayeva L.N.<sup>1</sup>, Abdinova A.A.<sup>2</sup>, Akhmedova S.R.<sup>3</sup>, Akhmedov N.F.<sup>1</sup>, Akhmedov N.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Baku State University

Z. Khalilov str., 23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan; e-mail: leylanamig@mail.ru

<sup>2</sup>Azerbaijan State Pedagogical University,

Rashid Beybutov str., 6, Baku, Azerbaijan

<sup>3</sup>Azerbaijan Technical University

Huseyn Javid Avenue, 25, Baku, Azerbaijan

Received 22.06.2022. DOI: 10.29039/rusjpc.2022.0486

**Abstract.** Opioid peptides cause pain relief, sedation and sleep, as well as a euphoric state and a number of autonomic reactions. These peptides are of animal and plant origin. A number of exogenous peptides obtained from food have opiate-like properties. These peptides were named exorphins. The discovery of the opioid activity of the peptide components of food has led to the assumption that certain types of food can act on the central nervous system like opiate drugs. A number of milk exorphins have been found that have opioid receptor antagonist properties. These include casoxins A, B, C, human casoxin D, as well as lactoferroxins A, B and C, as well as alpha and beta lactorphins. The possibility of the formation of these peptides during the hydrolysis of the corresponding proteins by peptidases of the gastrointestinal tract has been proven in vitro. Representatives of exorphins are also cytochromins and hemorphins. It is assumed that these peptides can be formed in vivo during the proteolytic cleavage of cytochrome b and hemoglobin. The beta-lactorphine molecule is a representative of this class. The conformational possibilities of the beta-lactorphine Tyr-Leu-Leu-Phe molecule were studied by the method of theoretical conformational analysis. The potential function of the system is chosen as the sum of non-valence, electrostatic and torsion interactions and the energy of hydrogen bonds. The low-energy conformations of the alpha-lactorphine molecule, the values of the dihedral angles of the main and side chains of the amino acid residues that make up the molecules were found, and the energy of intra- and interresidual interactions was estimated. It has been shown that the spatial structure of the beta-lactorphine molecule can be represented by eight forms of the main chain. The results obtained can be used to elucidate the structural and structural-functional organization of exorphin molecules.

**Key words:** exorphin, lactorphine, opioid, structure, conformation.