

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ АЛЬФА-ЛАКТОРФИНА**Ахмедов Н.А., Агаева Л.Н., Аббаслы Р.М., Исмаилова Л.И.**Бакинский государственный университет, Институт физических проблем
ул. 3. Халилова 23, Баку, AZ-1148, Азербайджан; e-mail: Namiq.49@bk.ru

Поступила в редакцию 22.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0487

Аннотация. Опиоидные пептиды в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиум вызывает обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Опиоидные пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоидоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами, имеются десятки представителей. Молекула альфа-лакторфина является представителем этого класса. Методом теоретического конформационного анализа исследованы конформационные возможности молекулы альфа-лакторфина Tyr-Gly-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 альфа-лакторфина может быть представлена одиннадцатью 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 в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиум вызывает 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 опиоидоподобными 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. Возможность образования этих пептидов при гидролизе соответствующих белков пептидазами желудочно-кишечного тракта доказана *in vitro*. Представителями экзорфинов являются также цитохрофины, геморфины, лактоферроксины, лакторфины. Предполагается, что эти пептиды могут образовываться *in vivo* при протеолитическом расщеплении цитохрома b и гемоглобина. Проведено исследование нейротропных эффектов опиоидных пептидов фрагментов глютеина, рубисколина и цитохрома b. Показано, что обладающие относительной δ -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 вызывали снижение тревожности и улучшение обучения в лабиринте с пищевым подкреплением. Последствия применения цитохрофина-4 были наиболее близки к действию β -казоморфина-5 короткого μ -селективного фрагмента β -казеина. Оба эти пептида оказывали анксиолитическое влияние при острых инъекциях; после хронического введения их эффекты быстро угасали по мере созревания мозга детенышей [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 монопольном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекулы альфа-лакторфина 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 $\phi-\psi: R(\phi, \psi = -180^\circ - 0^\circ)$, $B(\phi = -180^\circ - 0^\circ, \psi = 0^\circ - 180^\circ)$, $L(\phi, \psi = 0^\circ - 180^\circ)$ 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° , 2 – от 120° до -120° , и 3 – от -120° до 0° . Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют номенклатуре IUPAC-IUB [13]. Трехмерная структура молекулы альфа-лакторфина Tug1-Gly2-Leu3-Phe4 была исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. В тетрапептидную молекулу альфа-лакторфина Tug-Gly-Leu-Phe входит аминокислотный остаток глицин. Известно, что для глицина четыре формы осной цепи R, B, L, P являются низкоэнергетическими. Поэтому для данной молекулы в восьми шейпах пептидного скелета возможны шестнадцать форм основной цепи. Расчет пространственной структуры альфа-лакторфина показал, что возникает сильная энергетическая дифференциация, возникающая между шейпами, формами основной цепи и конформациями. В широкий энергетический интервал 0–6 ккал/моль попадают конформации восьми шейпов и они представлены одиннадцатью формами основной цепи. Таким образом, в энергетический интервал 0–6 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 альфа-лакторфина. Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий, геометрические параметры пяти конформаций, относительная энергия которых меньше 2,0 ккал/моль представлены в таблицах 2, 3. На рисунке 1 показано пространственное расположение аминокислотных остатков в этих низкоэнергетических конформациях молекулы альфа-лакторфина.

В представленных низкоэнергетических конформациях энергия невалентных взаимодействий изменяется в энергетическом интервале $(-15,1)$ – $(-10,4)$ ккал/моль, электростатических взаимодействий $(-0,2)$ – $(3,8)$ ккал/моль, торсионных взаимодействий $(1,8)$ – $(4,4)$ ккал/моль (табл. 1). Глобальной конформацией молекулы альфа-лакторфина является конформация $B_2 P R_{22} R_3$ свернутого шейпа fff (рис. 1). Конформация является выгодной по невалентным и электростатическим взаимодействиям (табл. 1, рис. 1). В этой конформации возникают эффективные ди-, три и тетрапептидные взаимодействия, Tug1 эффективно взаимодействует с трипептидным фрагментом Gly2-Leu3-Phe4, вклад которых составляют $(-11,8)$ ккал/моль, также Gly2 с Leu3 и Leu3 с Phe4. Общий вклад их межостаточных взаимодействий составляет $(-7,1)$ ккал/моль (табл. 2). В этой конформации N-конец и C-концы молекулы сближены друг с другом, между ними возникают эффективные электростатические взаимодействия, образуется водородная связь между атомами H – N основной цепи Tug1 и атомами основной цепи C = O остатка Phe4. Шейп fff представлен еще одной конформацией с относительной энергией 1,8 ккал/моль (табл. 1).

Самая низкоэнергетическая конформация $B_1 P B_{31} B_2$ шейпа ffe имеет относительную энергию 1,1 ккал/моль. Она от глобальной отличается формой основной цепи Leu3-Phe4. В этой конформации возникают эффективные взаимодействия между Tug1 с последующим трипептидным фрагментом Gly2-Leu3-Phe4, вклад которых составляет $(-8,4)$ ккал/моль. Gly2 эффективно взаимодействует с остатками Leu3 и Phe4, вклад которых составляет $(-4,4)$ ккал/моль (табл. 2). В этой конформации образуется водородная связь между атомами C=O основной цепи Tug1 и N-H атомом основной цепи Leu3 (рис. 1b).

Полностью развернутый шейп eee представлен только одной конформацией $B_3 B B_{33} B_1$ с относительной энергией 1,4 ккал/моль. В этой конформации возникают эффективные ди-, три- и тетрапептидные взаимодействия. Энергетический вклад взаимодействия Tug1 с участком Gly2-Leu3-Phe4 составляют $(-8,1)$ ккал/моль, энергетический вклад Gly2 с участком Leu3-Phe4 $(-4,1)$ ккал/моль, Leu3 с остатком Phe4 составляет $(-2,6)$ ккал/моль. Здесь так же образуется водородная связь между атомами H – N основной цепи Tug1 и атомами основной цепи C = O остатка Phe4.

В низкоэнергетических конформациях молекулы альфа-лакторфина шейп fef представлен двумя низкоэнергетическими формами основной цепи. Конформация $B_2 L R_{32} R_1$ имеет относительную энергию 1,5 ккал/моль, а конформация $R_2 B R_{32} R_1$ относительную энергию 3,1 ккал/моль. Как видно, эти конформации отличаются формами основной цепи Tug1 и Gly2.

Шейп пептидного скелета fee тоже представлен двумя низкоэнергетическими формами основной цепи. Относительная энергия конформации $B_2 L B_{32} B_1$ равна 0,9 ккал/моль. В этой конформации вклад невалентных взаимодействий наибольший $(-15,1)$ ккал/мол. Tug1 одновременно эффективно взаимодействует с аминокислотными остатками Gly2, Leu3 и Phe4. Конформация $R_2 B B_{32} B_1$ имеет относительную энергию 2,4 ккал/моль. В этих конформациях формы основной цепи Leu3 и Phe4 одинаковые.

Относительная энергия низкоэнергетических конформаций шейпов eef, efe и eff больше 3 ккал/мол, и все они представлены одной формой основной цепи (табл. 1).

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

№	Шейп	Конформация	Энергетический вклад			$U_{общ.}$	$U_{отн.}$
			$U_{нев.}$	$U_{эл.}$	$U_{торс.}$		
1.	fff	$B_2PR_{22}R_3$	-12,5	-0,2	2,7	-10,0	0
	fff	$R_1RR_{22}R_3$	-12,4	1,0	3,3	-8,2	1,8
2.	ffe	$B_1PB_{31}B_3$	-13,7	2,2	2,6	-8,9	1,1
3.	eee	$B_3BB_{33}B_1$	-14,4	3,3	2,5	-8,6	1,4
4.	fef	$B_2LR_{32}R_1$	-13,9	3,1	2,2	-8,5	1,5
	fef	$R_2BR_{32}R_1$	-12,5	3,7	1,9	-6,9	3,1
5.	fee	$B_2LB_{32}B_1$	-15,1	3,5	2,6	-9,1	0,9
	fee	$R_2BB_{32}B_1$	-13,7	3,8	2,4	-7,6	2,4
6.	ee f	$B_2BR_{32}R_3$	-12,0	3,3	1,8	-6,9	3,1
7.	efe	$R_3PB_{31}B_1$	-10,8	3,5	2,3	-4,9	5,1
8.	eff	$B_1RR_{22}R_2$	-10,4	1,6	4,4	-4,5	5,5

Таблица 2. Энергия внутри-и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях молекулы альфа-лактофрина: $B_2PR_{22}R_3$ ($U_{отн}=0$ ккал/моль, 1-я строка), $B_1PB_{31}B_3$ ($U_{отн}=1,1$ ккал/моль, 2-я строка), $B_3BB_{33}B_1$ ($U_{отн}=1,4$ ккал/моль, 3-я строка), $B_2LR_{32}R_1$ ($U_{отн}=1,5$ ккал/моль, 4-я строка), $B_2LB_{32}B_1$ ($U_{отн}=0,9$ ккал/моль, 5-я строка)

Tyr1	Gly2	Leu3	Phe4	
4,2	-1,5	-1,3	-9,0	Tyr1
2,0	-1,3	-2,3	-4,8	
2,1	-0,8	-4,2	-2,1	
1,9	-1,7	-3,4	-2,5	
1,9	-1,7	-3,4	-2,2	
	1,3	-1,0	-0,6	Gly 2
	1,3	-1,7	-2,7	
	1,3	-1,7	-2,4	
	1,3	-1,8	-0,7	
	1,3	-1,8	-2,4	
		0,1	-5,5	Leu3
		-0,6	-1,9	
		-0,7	-2,6	
		-0,8	-3,1	
		-0,7	-2,6	
			0,7	Phe4
			0,4	
			0,1	
			0	
			0,1	

Таблица 3. Геометрические параметры (град.) оптимальных конформаций молекулы альфа-лактофрина

Остаток	Конформации				
	$B_2PR_{22}R_3$	$B_1PB_{31}B_3$	$B_3BB_{33}B_1$	$B_2LR_{32}R_1$	$B_2LB_{32}B_1$
Tyr1	-103 146 179 179 87 0	-72 154 -177 66 80 0	-61 156 179 -68 106 0	-67 146 -178 177 86 0	-65 147 -179 178 85 0
Gly2	-87 -59 170 -96 -70 -175	76 -73 175 -94 111 -179	-78 77 -178 -101 96 -179	62 53 -184 -104 -63 180	63 53 -175 -103 96 -179
Leu3	-164 174 -169 180	-72 64 179 170	-50 177 -175 180	-49 177 -176 180	-50 177 -175 180
Phe4	-83 -49 - -58 101	-105 142 - -60 95	-154 91 - 52 91	-139 -36 - 53 91	-155 151 - 53 90
ΔU	0 ккал/моль	1,1 ккал/моль	1,4 ккал/моль	1,5 ккал/моль	0,9

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

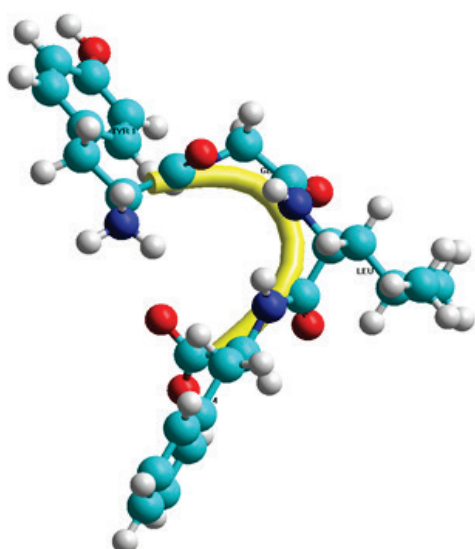
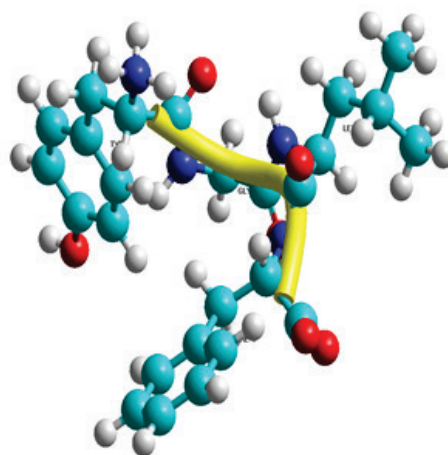
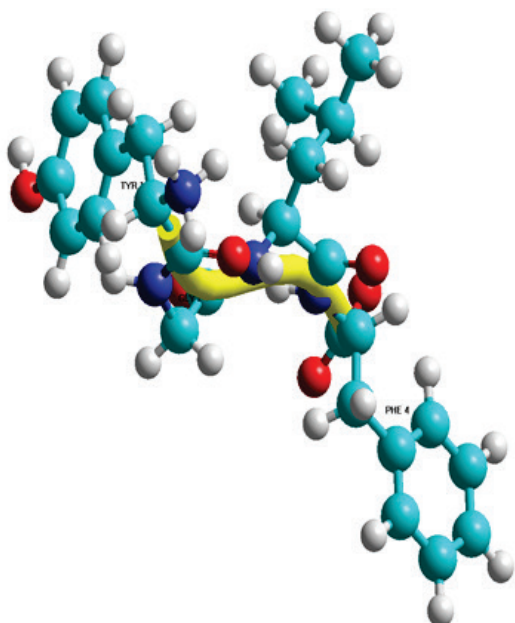
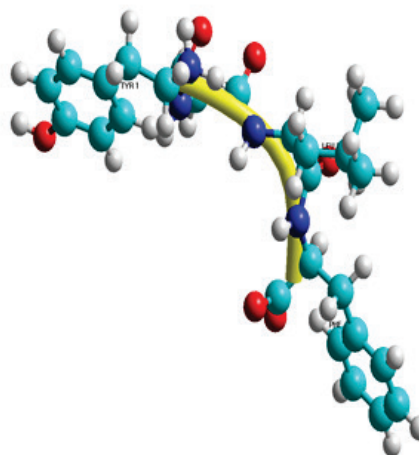
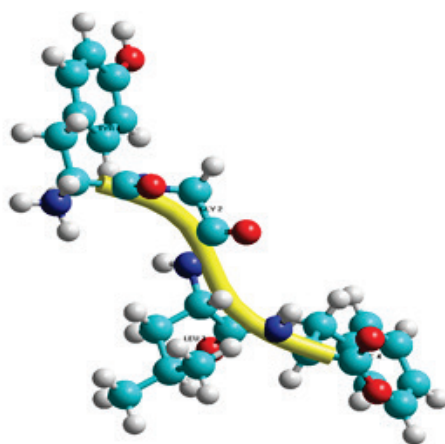
а) Конформация $V_2PR_{22}R_3$ свернутого шейпа fffб) Конформация $V_1PV_{31}V_2$ шейпа ffeв) Конформация $V_3VV_{33}V_1$ шейпа eeeг) Конформация $V_2LR_{32}R_1$ шейпа fefе) Конформация $V_2LV_{32}V_1$ шейпа fee

Рисунок 1. Пространственное расположение аминокислотных остатков в низкоэнергетических конформациях молекулы альфа-лактоферрина

Таким образом, пространственную структуру молекулы альфа-лакторфина можно представить одиннадцатью 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 альфа-лакторфина привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию этой молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

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 β -казоморфина, валмуцептина и морфицептина. *Молекулярная Биология*, 1989, т. 23, с. 240-248. [Akhmedov N.A. Theoretical conformation analysis of β -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-NH₂. *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-NH₂. *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 β -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.

SPATIAL STRUCTURE OF ALFA-LAKTORFINE MOLECULE

Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Abbasli R.M., Ismailova L.I.

Baku State University, Institute for Physical Problems

Khalilova str. 3, 23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan; e-mail: Namiq.49@bk.ru

Received 22.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0487

Abstract. Opioid peptides are currently considered the most studied group of peptide signaling substances. Opium causes pain relief, sedation and falling asleep, as well as a euphoric state and a number of vegetative reactions. Opioid peptides are of animal and plant origin. A number of exogenous peptides obtained from food have opioid-like properties. Such peptides were called exorphins, there are dozens of representatives. The alpha-laktorphine molecule is a representative of this class. The conformational possibilities of the Tyr-Gly-Leu-Phe alpha-laktorphine 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-laktorphine molecule, the values of the dihedral angles of the main and side chains of the amino acid residues that make up the molecule were found, and the energy of intra- and interresidual interactions was estimated. It was shown that the spatial structure of the alpha-laktorphine molecule can be represented by eleven 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, laktorphine, opioid, structure, conformation.*