

2. Бычков В.А., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Анализ совместного влияния полиморфизмов генов системы интерферона *OAS1*, *OAS2*, *IFNA17* и *IFNG* на предрасположенность к хроническому вирусному гепатиту С. *Бюллетень сибирской медицины*, 2011, № 3, с. 19-23. [Bychkov V.A., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V. Analysis of the combined effect of polymorphisms interferon genes *OAS1*, *OAS3*, *PKR*, *IFNA17* and *IFNG* in susceptibility to chronic viral hepatitis C. *Bulletin of Siberian medicine*, 2011, no. 3, pp. 19-23. (In Russ.)]

3. Krasnobaeva L.A., Yakushevich L.V. Rotational dynamics of bases in the gene coding interferon alpha 17 (*IFNA17*). *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 2015, vol. 13, pp. 1540002 (13 pages).

4. Якушевич Л.В., Краснобаева Л.В. Вынужденные колебания оснований ДНК. *Биофизика*, 2016, т. 61, № 2, с. 286-296. [Yakushevich L.V., Krasnobaeva L.A. Forced Oscillations of DNA bases. *Biophysics*, 2016, vol. 61, no. 2, pp. 286-296. (In Russ.)]

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА АНАЛОГА [VAL5] МОЛЕКУЛЫ ОКТАРФИНА

Ахмедов Н.А., Аббаслы Р.М., Исмаилова Л.И., Ахмедова С.Р.
Бакинский государственный университет, Институт физических проблем
ул. Акад. Захида Халилова, 23, г. Баку, AZ-1148, Азербайджан
e-mail: Namig.49@bk.ru

Аннотация. Методом теоретического конформационного анализа исследована пространственная структура аналога [Val5] молекулы октарфина. Аминокислотная последовательность октарфина Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ соответствует фрагменту 12-19 β-эндорфина. Установлено, что октарфин связывается с макрофагами с высокой аффильностью и специфичностью. 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. Пространственная структура молекулы Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Val5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ рассчитана на основе низкоэнергетических конформаций молекулы октарфина. Показано, что пространственная структура аналога [Val5] молекулы октарфина может быть представлена 13-ю низкоэнергетическими формами основной цепи. Найдены низкоэнергетические конформации молекулы, значения двугранных углов основных и боковых цепей аминокислотных остатков, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий.

Ключевые слова: октарфин, аналог, теоретический конформационный анализ, пространственная структура, конформация.

SPATIAL STRUCTURE OF ANALOGUE [VAL5] OF OCTARPHIN MOLECULE

Akhmedov N.A., Abbasli R.M., Ismailova L.I., Akhmedova S.R.
Baku State University, Institute for Physical Problems,
Z. Khalilov Str., 23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan
e-mail: Namig.49@bk.ru

Abstract. The spatial structure of analogue [Val5] of octarphin molecule has been investigated using theoretical conformational analysis method. Amino acid sequence Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ of octarphin conforms to the fragment 12-19 of β-endorphin. It is established that octarphin is related to macrophages of high affinity and specificity. Spatial structure of octarphin molecule Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ has been investigated by method of theoretical conformational analysis. Calculations of conformational states of octarphin molecule are carried out regarding nonvalent, electrostatic and torsional interactions, hydrogen bonds as well. The spatial structure of the molecule Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Val5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ was estimated on the low-energy conformations of this molecule.

It is shown that the spatial structure of the octarphin molecule can be presented by 13 low-energy forms of the main chain. The low-energy conformations of this molecule, the values of dihedral angles of the backbone and side chains of the amino acid residues were founded and the energies of intra- and inter-residual interactions were determined.

Keywords: octarphin, analogue, theoretical conformational analysis, spatial structure, conformation

Аминокислотная последовательность октарфина Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ соответствует фрагменту 12-19 β-эндорфина. Установлено, что октарфин связывается с макрофагами с высокой аффильностью и специфичностью. Молекула октарфина представляет большой биологический интерес, поэтому для этой молекулы были синтезированы следующие аналоги октарфина:

Leu1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂
Thr1-Leu2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂
Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Val5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂
Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Leu7-Lys8-NH₂
Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂

Ингибирующая активность аналогов оказалась в 100 и более раз ниже, чем у октарфина. Показано, что октарфин стимулирует активность иммунокомпетентных клеток мышцы *in vitro* и *in vivo*: при концентрации

1-10 нМ он увеличивал адгезию и распластывание перитональных макрофагов молекулы октарфина, способствовал перевариванию бактерий вирулентного штамма *Salmonella typhimurium* 415 *in vitro*. Внутривнутрибрюшинное введение пептида приводило к возрастанию активности перитональных макрофагов, а также Т- и В-лимфоцитов селезенки [1, 2].

Первый аналог с конформационной точки зрения особый интерес не представляет, поскольку Leu1 находится перед пролином, у него будет такая же конформация, как и у треонина. Поэтому, нами изучена пространственная структура аналога Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Val5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ молекулы октарфина и [Leu2]-аналога молекулы октарфина. Цель настоящей работы состоит в исследовании структурной организации [Val5]- аналога молекулы октарфина.

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 октарфина изучены в условиях водного окружения, в связи, с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей, оценивалась с помощью потенциала Морзе.

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 $\varphi - \psi$: $R(\varphi, \psi = -180^\circ - 0^\circ)$, $B(\varphi = -180^\circ - 0^\circ, \psi = 0^\circ - 180^\circ)$, $L(\varphi, \psi = 0^\circ - 180^\circ)$ и $P(\varphi = 0^\circ - 180^\circ, \psi = -180^\circ - 0^\circ)$; ij...=11...,12...,13...,21... определяет положение боковой цепи ($\chi_1, \chi_2 \dots$), 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 [3].

На первом этапе нами была исследована пространственная структура молекулы октарфина. Пространственная структура октарфина изучена фрагментарно, как и в предыдущих работах [4-6]. В начале, на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков были изучены конформационные возможности N-концевого пентапептидного фрагмента Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Thr5 и C-концевого тетрапептидного фрагмента Thr5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂. На основе результатов этих пента- и тетрапептидных участков исследована трехмерная структура всей молекулы октарфина. Оптимальные конформации молекулы, энергия которых не превышает 8.0 ккал/моль имеют 15 различных форм основной цепи. В отношении геометрии N-концевого тетрапептидного фрагмента Thr1-Val4 низкоэнергетические конформации октарфина распадаются на четыре группы (А-Д). Наименьшую свободную энергию имеют структуры группы А, предпочтительные и по внутренней энергии, и по энтропии. Впрочем, в отношении обоих факторов им сравнительно немного уступают наборы конформаций В и С.

Таблица 1 – Относительная энергия (U_{отн.}) и энергетические вклады невалентных (U_{нев.}), электростатических (U_{эл.}), торсионных (U_{торс.}) взаимодействий оптимальных конформаций аналога [Val5] молекулы октарфина

Группа	№	Шейп	Конформация	U _{нев.}	U _{эл.}	U _{торс.}	U _{отн.}
А	1	efeffe	B ₁₂ R _{B21} R ₁ R ₁ B ₃₁ B ₁ B ₃₂₂₂	-33.7	10.9	5.6	6.4
	2	efeeffe	B ₁₂ R _{B23} B ₁ R ₁ R ₂₂ B ₁ B ₃₁₂₂	-36.0	8.0	7.0	2.6
	3	efeeffe	B ₁₂ R _{B23} B ₁ R ₁ B ₃₁ B ₁ B ₃₁₂₂	-33.0	10.0	7.1	7.7
	4	efeefff	B ₁₂ R _{B23} B ₁ R ₁ R ₂₁ R ₂ R ₂₁₂₂	-35,8	9.7	5.9	3.3
	5	efeefef	B ₁₂ R _{B23} B ₁ R ₁ B ₂₁ R ₁ R ₂₁₂₂	-33.1	10.0	5.4	5.9
	6	efeeeff	B ₁₂ R _{B23} B ₁ B ₁ R ₃₂ R ₁ R ₃₂₂₂	-36.6	9.5	8.4	4.9
В	7	eeffff	B ₁₂ B _{R22} R ₁ R ₁ R ₂₁ R ₂ R ₂₁₂₂	-40.1	9.0	7.5	0
	8	eefffee	B ₁₂ B _{R22} R ₁ R ₁ B ₂₁ B ₁ B ₂₁₂₂	-36.3	9.6	9.7	6.5
	9	eefffef	B ₁₂ B _{R22} R ₁ R ₁ B ₂₁ R ₁ R ₂₁₂₂	-33.0	11.3	9.1	11.0
С	10	effefee	B ₁₂ R _{R21} B ₁ R ₁ B ₃₁ B ₁ B ₃₁₂₂	-36.3	8.6	8.6	4.5
	11	effeffe	B ₁₂ R _{R21} B ₁ R ₁ R ₂₂ B ₁ B ₃₁₂₂	-31.8	9.8	5.6	7.2
	12	effefef	B ₁₂ R _{R21} B ₁ R ₁ B ₂₁ R ₁ R ₂₁₂₂	-35.6	10.9	5.8	4.8
	13	effefff	B ₁₂ R _{R21} B ₁ R ₁ R ₂₁ R ₂ R ₂₁₂₂	-33.6	10.3	5.7	5.0
	14	effeeee	B ₁₂ R _{R21} B ₁ B ₁ B ₂₁ B ₃ B ₁₂₂₂	-39.1	10.6	9.5	4.7
Д	15	eeeffee	B ₁₂ B _{B21} R ₁ R ₁ B ₃₁ B ₁ B ₃₁₂₂	-31.2	9.9	9.2	11.6

Таблица 2 – Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях аналога [Val5] октарфина $V_{12}BR_{22}R_1R_1R_{21}R_2R_{2122}$ ($U_{отн.}=0$ ккал/моль, верхняя строка), $V_{12}RB_{23}B_1R_1R_{22}B_1B_{3122}$ ($U_{отн.}=2.6$ ккал/моль, средняя строка) и $V_{12}RR_{21}B_1R_1B_{31}B_1B_{3122}$ ($U_{отн.}=4.5$ ккал/моль, нижняя строка)

Thr1	Pro2	Leu3	Val4	Val5	Leu6	Phe7	Lys8	
2.7	-4.6	-0.9	0	0.1	0	0	1.2	Thr1
2.3	-3.9	-1.9	-2.4	0	0	0	1.7	
4.8	-3.9	-1.1	-2.2	-1.9	-0.1	0	2.4	
	0.3	-0.2	-0.3	-1.7	-2.7	-0.1	0.1	Pro2
	0.3	-1.5	-1.4	0	0	0	-0.2	
	0.3	-1.9	-0.5	0	0	0	0	
		-0.3	-2.8	-1.4	-2.4	-2.3	-0.1	Leu3
		0.3	-2.1	-0.4	0	0	0	
		-1.1	-3.6	-0.3	0	-0.2	0.1	
			1.1	-1.1	-1.2	-2.2	-2.4	Val4
			0.6	-1.3	-1.2	-3.5	-1.3	
			0.8	-1.9	-1.5	-3.8	-1.2	
				1.3	-0.4	-1.1	-3.9	Val5
				1.3	-1.6	-0.9	-3.0	
				1.7	0.4	-0.8	-3.0	
					-0.9	-1.3	-2.1	Leu6
					-0.1	-3.3	-3.6	
					0	-3.3	-3.6	
						0	-2.1	Phe7
						0.2	-3.5	
						0.3	-3.6	
							0.7	Lys8
							1.4	
							1.4	

Пространственная структура молекулы Thr1-Pro2-Leu3-Val4-Val5-Leu6-Phe7-Lys8-NH₂ рассчитана на основе низкоэнергетических конформаций молекулы октарфина. В таблице 1 приведены конформации аналога [Val5]–молекулы октарфина, энергия которых не превышает 11.6 ккал/моль, они имеют 13 различных форм основной цепи. Там же для каждой конформации даны энергетические вклады от невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий; в значение $U_{нев}$ входит энергия водородных связей. В таблице 2 показана энергия внутри- и межостаточных взаимодействий в лучших конформациях каждой группы, а численные значения геометрических параметров лучших конформаций аналога октарфина приведены в таблице 3.

В оптимальных конформациях аналога [Val5]–молекулы октарфина вклад невалентных взаимодействий изменяется в интервале энергии (-40.1)–(-31.2) ккал/моль, электростатических взаимодействий (8.0-11.3) ккал/моль, торсионных взаимодействий (5.4-9.7) ккал/моль (см. табл. 1). У аналога [Val5] – молекулы октарфина группа А представлена шестью конформациями, группа В - тремя конформациями (относительная энергия одной конформации 11.0 ккал/моль), группа С - пятью конформациями, а конформация группы D оказалась высокоэнергетической.

Самой стабильной конформацией молекулы является $V_{12}B_{31}R_{22}R_1R_1R_{21}R_2R_{33}$ шейпа eefffff. Вклад невалентных взаимодействий в ней самый высокий (-40.1 ккал/моль), благодаря невалентным взаимодействиям она стала глобальной. В этой конформации основная цепь Thr1-Pro2 находится в В форме, а основная цепь остальных остатков находится в R форме и образует спиральную структуру (табл.1). В таком расположении аминокислотных остатков в пространстве эффективно взаимодействуют остатки Thr1 с Pro2; Pro2 с Val5 и Leu6; Leu3 с Val4 и Leu6; Val4 с Phe7 и Lys8; Val5 с Lys8; Phe7 с Lys8 (см. табл. 2).

Конформация $V_{12}R_{21}B_{21}R_1R_{12}B_{31}B_1B_{32}$ шейпа efeeef с относительной энергией 2.6 ккал/моль является самой низкоэнергетической конформацией группы А (см. табл. 1). В этой конформации остатки Val4 и Val5 изгибают пептидную цепь молекулы, создают условия для взаимодействия этих остатков с N- и С-концевыми участками молекулы и между N- и С-концами молекулы (см. табл. 2, средняя строка). Как видно из таблицы 2, в ней возникают эффективные взаимодействия между остатками Pro2 с Leu3, Val5 и Leu6; Phe7 с Lys8.

Самой низкоэнергетической конформацией группы С является $R_{12}R_{12}R_{21}B_1R_{12}B_{21}R_1R_{21}$ шейпа fffefef, относительная энергия которой равна 4.5 ккал/моль. В этой конформации N-концевой трипептидный и С-концевой дипептидный участки находятся в свернутой форме, их друг от друга отделяет изгиб основной цепи BRB (см. табл. 1). В этой структуре возникают эффективные взаимодействия между соседними аминокислотными остатками (см. табл. 2, нижняя строка).

Таблица 3 – Геметрические параметры (град) оптимальных конформаций аналога [Val5] – молекулы октарфина

Остаток	Шейп		
	e e f f f f f	e f e e f f e	e f f e f e e
Thr1	-66 151 175 45 -175 179	-46 151 175 53 -175 -176	-112 153 177 50 -179 177
Pro2	-60 130 -174	-60 -68 178	-60 -61 -165
Leu3	-115 -68 -172 -172 160 -169 180	-80 104 -178 -166 -61 170 -167	-92 -71 -163 176 63 179 176
Val4	-72 -38 -179 72 179 175	-144 149 -178 63 179 180	-139 149 -179 56 177 180
Val5	-73 -36 173 70 -178 178	-116 -47 -173 63 -179 -179	-107 -46 -169 -55 -177 176
Leu6	-60 -55 -177 175 62 180 176	-66 -70 -174 -172 156 -171 180	-69 -70 -176 -172 158 -171 180
Phe7	-58 -42 179 177 88	-102 143 -179 67 86	-101 144 -178 65 84
Lys8	-61 -52 179 176 63 174 179 180	-102 103 179 -75 69 166 179 179	-101 101 179 -75 68 166 179 179
U _{отн.}	0	2.6	4.5

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

Расчет показал, что у самых низкоэнергетических пространственных структур аналога [Val5]-молекулы октарфина боковые цепи аминокислотных остатков принимают положения, наиболее выгодные с точки зрения межмолекулярных взаимодействий с окружающей средой. Теоретический конформационный анализ аналога [Val5]-молекулы октарфина привел к таким структурным организациям молекулы, которые не исключают реализацию гормоном целого ряда самых разнообразных функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

Известно, что при создании синтетических аналогов природной молекулы возникают три основные проблемы: 1) пептид должен быть стабильным в биологических средах, 2) он должен взаимодействовать со специфическими рецепторами, 3) препарат должен проникать к своим клеткам-мишеням. Аналог [Val5]-молекулы октарфина отвечает вышеуказанным требованиям. Проведенные нами исследования показывают, что пространственная структура аналога [Val5]-молекулы октарфина представлена 13-ю низкоэнергетическими конформациями, а самого октарфина - 15-ю низкоэнергетическими конформациями. Если бы число низкоэнергетических конформаций аналога [Val5]-молекулы октарфина резко сократилось бы по сравнению с самой молекулой октарфина, было бы лучше. В этом случае биологические функции молекулы октарфина уменьшились, аналог мог бы выполнять только некоторые функции октарфина. По этой причине выбранный аналог является не очень удачным. Вообще, с точки зрения пространственной структуры молекулы октарфина, замена треонина на валин не целесообразна и синтезировать такой аналог не стоит.

Список литературы / References:

1. Некрасова Ю.Н., Садовников В.Б., Золотарев Ю.А., Наволоцкая Е.В. Свойства и механизм действия синтетического пептида октарфина. *Биоорганическая химия*, 2010, т. 36, № 5, с. 638-645. [Nekhasova Yu.N., Sadovnikov V.B., Zolotarev Yu.A., Navolotskaya E.V. The properties and mechanism of action of the octarphin peptide. *Journal of Bioorganic Chemistry*, 2010, vol. 36, no. 5, pp. 638-645. (In Russ.)]
2. Наволоцкая Е.В. *Международная конференция по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии*. М., 2014, 38 с. [Navolotskaya E.V. *Octarphin – nonopioid peptid of the opioid orgin. International conference on bioorganic chemistry, biotechnology and bionanotechnology*, 2014, 35 p. (In Russ.)]
3. IUPAC-IUB, Quantiby, Units and Symbols in Physical Chemistry. *Blackwell Scientific Publications*, 1988, vol. 39, no. 5.
4. Akhmedov N.A., Tagiyev Z.H., Hasanov E.M., Akverdиеva G.A. Theoretical conformational analysis of the bovine adrenal medulla 12 residue peptide molecule. *J. Molecular Structure*, 2003, vol. 646, pp. 75-80.
5. Akhmedov N.A., Ismailova L.I., Agayeva L.N., Gocayev N.M. The spatial structure of the cardio active peptides. *Peptid and Protein Research*, 2010, vol. 11, pp. 87-93.
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, 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-NH₂. *Biophysics*, 2013, vol. 58, pp. 587-590. (In Russ.)]