

Список литературы / References:

1. Веселков А.Н., Дэвис Д., Дымант Л.Н., Паркес Х. 1М- и 2М- ¹Н-ЯМР исследование самоассоциации дезокситетрануклеозидтрифосфатов различной последовательности оснований в водном растворе. *Биополимеры и клетка*, 1991, т. 7, № 5, с. 15-22. [Veselkov A.N., Davies D., Djimant L. N., Parkes H. 1D- and 2D- ¹H NMR investigation of self-association of deoxytetranucleotides of different base sequence in aqueous solution. *Biopolymers and Cell*, 1991, vol. 7, no. 5, pp. 15-22. (In Russ.)]
2. Веселков А.Н., Пахомов В.И., Итон Р., Дэвис Д. ЯМР-исследование самоассоциации молекул дезоксигексануклеотидов 5'-d(CpGpTpApCpG) и 5'-d(CpGpCpGpCpG) в водном растворе. *Биофизика*, 2000, т. 45, с. 20-26. [Veselkov A.N., Pahomov V.I., Eaton R., Davies D. NMR investigation of self-association of hexadeoxynucleotides 5'-d(CpGpTpApCpG) and 5'-d(CpGpCpGpCpG) in aqueous solution. *Biophysics*, 2000, vol. 45, pp. 20-26. (In Russ.)]
3. Davies B.D., Pahomov V.I., Veselkov A.N. NMR determination of the conformation and drug binding properties of the DNA heptamer d(GpCpGpApApGpC) in aqueous solution. *Nucleic Acids Res.*, 1997, vol. 25, pp. 4523-4531.
4. Altona C, Faber D.H., Westra Hoekzema A.J.A. Double-helical DNA 1H chemical shifts: an accurate and balanced predictive empirical scheme. *Magn. Reson. Chem.*, 2000, vol.38, pp.95-107.
5. Эсбенсен К. *Анализ многомерных данных*, сокр. пер. с англ. под ред. О. Родионовой, Изд-во ИПХФ РАН, 2005, 204с. [Esbensen K.H.. *Multivariate Data Analysis*, abbr. per. from English. ed. O. Rodionova, ICP RAS, 2005, 204 p. (In Russ.)]

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ НЕЙРОПЕПТИДА [HYP2]МЕТ-ГАЛЛАТОСТАТИНА

Велиева Л.И.

Бакинский государственный университет
ул. З. Халилова, 23, Баку, AZ1148, Азербайджан
e-mail: Lala_Veliyeva@rambler.ru

Аннотация. В работе методом молекулярной механики в приближении атом-атомных потенциальных функций исследовано пространственное строение и конформационные свойства нейропептида из семейства аллатостатинов, получившего название [Hyp2]Met-галлатостатина. Исследования основывались на минимизации энергии внутримолекулярных взаимодействий (невалентных, электростатических, торсионных) в окрестностях углов внутреннего вращения, соответствующих всем комбинациям стабильных конформаций монопептидных остатков, образующих молекулу. Установлены десять энергетически стабильных конформаций нейропептида, реализуемых в условиях неявно заданного водного окружения, относительная конформационная энергия которых варьирует в интервале значений 0-10 ккал/моль. Показано, система водородных связей, несмотря на небольшой вклад в общую энергию молекулы, весьма важна для сохранения устойчивой структуры и ограничения подвижности [Hyp2]Met-галлатостатина.

Согласно результатам исследования, основной вклад в стабилизацию низкоэнергетических конформаций молекулы вносят невалентные взаимодействия.

Ключевые слова: нейропептиды; структура; конформационный анализ

CONFORMATIONAL ANALYSIS NEUROPEPTIDE [HYP2]MET-CALLATOSTATIN

Veliyeva L.I.

Baku State University
Z. Khalilov str.23, Baku, AZ 1148, Azerbaijan
e-mail: Lala_Veliyeva@rambler.ru

Abstract. In work by the method of molecular mechanics in approximation of atom-atom potential functions is studied the spatial structure and conformational properties of the neuropeptide from allatostatin family, got the name of [Hyp2]Met-callatostatin. The researches were based on minimizing of the energy of intramolecular interactions (non-bonded, electrostatic, torsion) in the vicinity of the internal rotation angles corresponding to all combinations of stable conformations of mono-peptide residues forming a molecule. There determined ten energetically stable conformations of neuropeptide, implemented under the conditions of implicitly given aqueous environment , the relative conformational energy of which varies in the range of 0-10 kcal / mol. It was shown that the system of hydrogen bonds, despite a small contribution to the total energy of the molecule is essential for the preservation of a stable structure and restriction of [Hyp2]Met-callatostatin .

According to the research results, the main contribution to the stabilization of low-energy conformations of the molecule are made by non - valent interactions.

Keywords: neuropeptides, structures, conformational analysis

Введение.

Одной из актуальных проблем в современной науке является поиск и целенаправленный синтез соединений, используемых для регуляции численности вредителей сельскохозяйственных культур. К числу таких соединений относятся нейропептиды, синтезируемые нейросекреторными клетками мозга различных видов насекомых, в частности, *Calliphora vomitoria* [1-3]. Нейропептиды ингибируют синтез и выделение ювенильных гормонов в

процессе онтогенеза насекомых, участвуют в нейротрансмиссии и регуляции функций нервной системы. Важнейшим аспектом в исследованиях функциональной активности нейропептида является изучение молекулярных основ механизма его действия и создание эффективных аналогов с пролонгированным эффектом действия. Целью настоящего исследования явилось изучение пространственной структуры и конформационных свойств $[Hyp^2]Met$ -галлатостатина. Химическое строение нейропептида и схема расчета низкоэнергетических конформационных состояний поэтапно наращиваемых ди-, три-, и пентапептидных фрагментов молекул приведена на рисунке 1.

Метод исследования и результаты расчета.

Низкоэнергетические конформационные состояния молекулы были установлены путем минимизации полной конформационной энергии в силовом поле атом-атомных потенциальных функций. При расчете энергии учитывались невалентные ($E_{нев}$) и электростатические ($E_{эл}$) взаимодействия атомов, водородные связи ($E_{вод}$) и торсионные вклады ($E_{торс}$), для описания которых были использованы полуэмпирические потенциальные функции, предложенные в работах [4, 5]. Расчеты проводились в рамках жесткой валентной схемы, т.е. при фиксированных значениях длин валентных связей и валентных углов аминокислотных остатков, входящих в химическую структуру молекулы. Примененная система потенциальных функций и вычислительные программы были апробированы на большом числе пептидов и белков.

Для моделирования водного окружения использовалась параметризация, предложенная в работах [4-6]. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе при значении энергии диссоциации водородной связи, равной 1,5 ккал/моль, соответствующей расстоянию связи $NH...OC$ $r=1.8\text{\AA}$ для водных растворов. Величина диэлектрической постоянной принята равной 10 [4, 5]. При обсуждении результатов расчета была использована общепринятая классификация пептидных структур [6]. Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных пептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов (ϕ и ψ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты R,B,L и P для каждого монопептида. Отсчет двугранных углов проводился согласно международной номенклатуре [6].

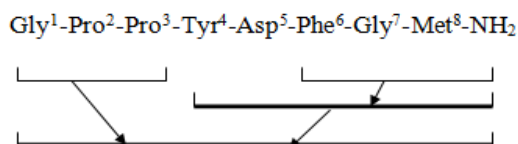


Рисунок.1- Первичная структура и схема расчета молекулы $[Hyp^2]Met$ -галлатостатина

ТРИПЕПТИД $PHE-GLY-MET-NH_2$. Начальные приближения для данного фрагмента, представлены 324 конформационными состояниями, принадлежащими 4 возможным шейпам и 36 формам их пептидного остова. В таблице 1 приведены энергетические характеристики более 25 конформаций, полученных после минимизации энергии при варьировании двугранных углов ω , ϕ , ψ и χ . В интервал конформаций с относительной энергией $0 \div 3$ ккал/моль попадают $\sim 49\%$ рассчитанных структурных вариантов (см. табл. 2). Полученные результаты свидетельствуют о высокой конформационной подвижности основной цепи фрагмента при различных положениях их боковых цепей. Низкоэнергетические конформации фрагмента принадлежат в основном шейпам ef и ff , в которых R и B формы основной цепи остатков *Phe* и *Met* распределены приблизительно одинаковым образом. Они стабилизированы энергетически выгодными

Таблица 1 – Низкоэнергетические конформации фрагмента $Phe-Gly-Met-NH_2$

Фрагмент	Конформация	Шейп	Энергетические вклады, ккал/моль				
			$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{полн}$	$E_{отн}$
<i>Phe-Gly-Met-NH₂</i>	B_2RB_3	<i>ef</i>	-9.08	1.67	1.13	-6.27	0
	R_2PR_3		-9.22	1.69	1.50	-6.02	0.25
	R_3PB_3		-7.74	1.61	0.97	-5.16	1.11
	B_3PR_3	<i>ff</i>	-8.33	1.50	1.22	-5.62	0.65
	B_3PB_3		-8.48	1.41	1.55	-5.53	0.74
	R_2RB_3		-8.16	1.81	1.09	-5.26	1.01
	R_3RR_2		-8.36	1.95	1.30	-5.11	1.16
	R_3LB_1	<i>ee</i>	-9.01	1.97	1.26	-5.78	0.49
	B_3BB_3		-8.02	1.58	1.40	-5.04	1.23
	L_3BB_1		-8.49	1.67	1.80	-5.02	1.25
	B_2LB_2	<i>fe</i>	-8.74	1.57	1.81	-5.36	0.91
	R_2BB_2		-8.01	1.64	1.06	-5.31	0.96
	R_2BR_2		-7.66	1.63	0.89	-5.14	1.13
	B_2LR_2		-8.35	1.66	1.56	-5.13	1.14

контактами атомов боковых цепей *Phe* и *Met* при значениях углов вращения $\chi_1=60,180$ и -117° и $\chi_2 \approx 90^\circ$ (*Phe*) и $\chi_1 \sim -60^\circ$, $\chi_2, \chi_3, \chi_4 \approx 180^\circ$ (*Met*). Энергетическая дифференциация среди конформеров со свернутыми формами основной цепи (*R-R-R*, *R-R-B*), принадлежащими шейпу *ff*, меньше, что обусловлено отсутствием существенных взаимодействий между боковыми цепями *Phe* и *Met*. Это приводит к увеличению дисперсионной и электростатической энергии на $\sim 1,2$ ккал/моль.

Таблица 2 – Энергетическое распределение конформаций фрагмента *Phe-Gly-Met-NH₂*

	Шейп	Интервал энергии E _{отн.} (ккал/моль)					
		0 - 1	1 - 2	2 - 3	3 - 4	4 - 5	> 5
1.	<i>ff</i>	5	20	11	8	5	5
2.	<i>ef</i>	4	9	11	6	12	6
3.	<i>ee</i>	1	8	10	6	3	15
4.	<i>fe</i>	2	6	10	9	6	18

Низкоэнергетические представители всех форм и шейпов исследуемого фрагмента с относительной энергией 0-3 ккал/моль включены в последующую схему расчета.

ПЕНТАПЕПТИД *TYR-ASP-PHE-GLY-MET-NH₂*. Начальные приближения для данного фрагмента составлены из стабильных конформаций трипептида *Phe-Gly-Met-NH₂* и монопептидов *Tyr* и *Asp*. Для минимизации полной конформационной энергии фрагмента составлен 441 структурный вариант, принадлежащий 16 шейпам и 72 формам основной цепи. Конформационные особенности фрагмента обусловлены объемными боковыми цепями остатков *Tyr⁴*, *Phe⁶*, *Met⁸* и заряженной боковой цепью аспарагиновой кислоты *Asp⁵*. Поэтому наибольшее количество низкоэнергетических конформаций (~ 20) с относительной энергией 0-5 ккал/моль характеризуется структурой свернутого типа (табл.3), обозначенного шейпами *ffff* и *efff* их пептидного остова. Наибольший вклад в общую потенциальную энергию вносят невалентные взаимодействия атомов основной цепи *Asp⁵* и боковой цепи *Tyr⁴* (-3,4 ккал/моль), а также дисперсионные взаимодействия ароматических колец *Tyr⁴* и *Phe⁶* (-2,8 ккал/моль). Полузвернутые формы основной цепи, представленные шейпом *eef*, характеризуются 8 конформационными состояниями с относительной энергией 0-5 ккал/моль. Отличительная особенность структур этого типа – выгодные дисперсионные взаимодействия аминокислотных остатков *Tyr⁴* и *Phe⁶*, обусловленные параллельным расположением их ароматических колец, расстояние между С атомами которых составляет $\sim 2,6\text{Å}$. Этот фактор обеспечивает максимальный вклад от энергии их дисперсионных взаимодействий, равный -4,7ккал/моль. Полностью вытянутые структуры фрагмента, принадлежащие шейпу *eeee*, также как и структуры других шейпов энергетически менее предпочтительны. Однако выводы о их роли в формировании пространственной организации молекул *Met* галлатостатинов можно сделать на основе конформационного анализа всей молекулы. Поэтому низкоэнергетические представители всех рассмотренных форм и шейпов основной цепи были включены в дальнейшие расчеты.

Таблица 3 – Энергетическое распределение конформаций пента- и трипептидных фрагментов

№	Шейп	Интервал энергии E _{отн.} (ккал/моль)					
		0 - 1	1 - 2	2 - 3	3 - 4	4 - 5	5 - 10
<i>Tyr⁴-Asp⁵-Phe⁶-Gly⁷-Met⁸-NH₂</i>							
1.	<i>efff</i>	-	-	-	1	4	28
2.	<i>ffff</i>	-	-	2	6	8	14
3.	<i>eef</i>	-	1	-	2	5	37
4.	<i>feff</i>	-	-	-	-	-	34
5.	<i>efee</i>	-	-	1	-	1	11
6.	<i>ffee</i>	1	-	1	1	2	6
7.	<i>eeee</i>	-	-	-	2	2	12
8.	<i>feee</i>	-	-	-	1	1	9
9.	<i>efef</i>	-	-	-	-	-	4
10.	<i>ffef</i>	-	-	-	1	1	1
11.	<i>eefe</i>	-	-	-	-	3	20
12.	<i>fefe</i>	-	-	-	-	1	17
13.	<i>eeef</i>	-	-	-	-	1	7
14.	<i>feef</i>	-	-	-	-	-	8
15.	<i>effe</i>	-	-	-	-	-	4
16.	<i>fffe</i>	-	-	-	-	2	4
<i>Gly¹-Hyp²-Pro³</i>							
1.	<i>fe</i>	2	1	9	4	2	2
2.	<i>ee</i>	-	-	3	6	1	7

ТРИПЕПТИД *GLY-HYP-PRO*. Оксипролин представлена двумя формами основной цепи *R* и *B*, а у конечного остатка *Gly* *R* и *L* формы эквивалентны *B* и *P* формам соответственно, поэтому исходный набор структурных вариантов, принадлежащих 4 шейпам и 16 формам основной цепи трипептида, включал 12 конформаций для фрагмента $Gly^1-Hyp^2-Pro^3$ (с варьируемым углом χ боковой цепи гидроксипролина).

Количественная оценка вкладов межостаточных взаимодействий показала, что у фрагмента $Gly^1-Hyp^2-Pro^3$ с разветвленной формой основной цепи (шейп *ee*) отсутствуют какие-либо взаимодействия между первым и третьим остатками. В предпочтительных конформациях исследуемого трипептида с свернутыми формами основной цепи (шейп *fe*) реализация дополнительных стабилизирующих взаимодействий осуществляется без значительного ослабления контактов в пределах дипептидных взаимодействий и заметного изменения их геометрических параметров. Вклады от межостаточных взаимодействий Hyp^2 с Pro^3 в таких структурах составляют – 4.5 ккал/моль.

[Hyp^2] MET-ГАЛЛАТОСТАТИН. Результаты фрагментарного анализа были положены в основу расчета структуры всей молекулы [Hyp^2]Met-галлатостатина. На рис.2 и в табл.4-6 приведено энергетическое распределение конформации молекулы [Hyp^2]Met-галлатостатина, их геометрические параметры и величины энергетических вкладов в конформационную энергию от невалентных (включая водородные связи), электростатических и торсионных взаимодействий.

Энергия рассчитанных структур близка к сумме величин соответствующих состояний свободных фрагментов, так как они представляют собой сочетания выгодных конформационных состояний этих фрагментов. Сопоставление полученных данных свидетельствует, что решающее значение в стабилизации пространственной структуры молекулы принадлежит дисперсионным взаимодействиям, характеризующим плотность упаковки аминокислотной последовательности.

Таблица 4 – Низкоэнергетические конформации молекул [Hyp^2]Met-галлатостатина.

Шейп	Конформация	Энергетические вклады (ккал/моль)				
		Е невал.*	Е эл.	Е торс	Е полн	Е отн.
<i>feffff</i>	RBRB ₁ R ₁ B ₃ PR ₃₂₂₂	-36.6	3.6	4.3	-28.7	0.0
<i>feeffff</i>	PBRB ₁ R ₁ B ₃ PR ₃₂₂₂	-35.5	3.4	3.7	-28.4	0.4
<i>feffff</i>	PBRB ₃ R ₁ R ₃ RR ₂₂₂₂	-31.8	4.5	2.2	-25.0	3.7

* Энергия водородных связей включена в Е невал.

** Индексы 1,2,3 соответствуют значениям углов χ в области $0 \div 120^\circ$, $120 \div -120^\circ$ и $-120 \div 0^\circ$, соответственно.

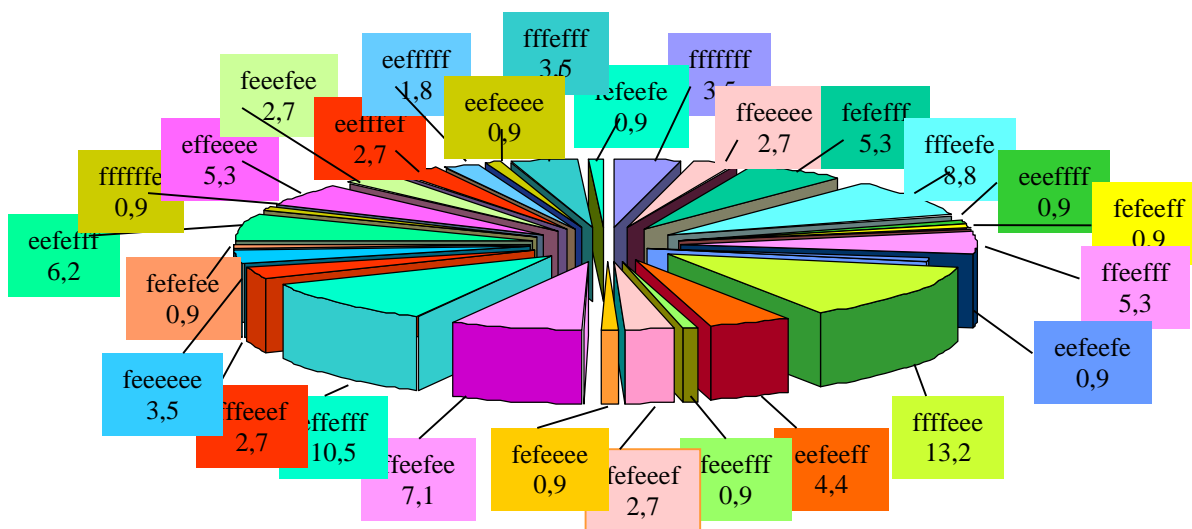


Рисунок 2 – Процентное содержание конформаций шейпов молекулы [Hyp^2]Met-галлатостатина (Е отн. = 0-10 ккал/моль)

Наиболее компактные структуры в меньшей мере удовлетворительны в отношении электростатических контактов, менее чувствительных к межатомным расстояниям.

Список литературы / References:

1. Duve H., Johnsen A.H., Scott A.G., Yu C.G., Yagi K.J., Tobe S.S., Thorpe A. Callatostatins: Neuropeptides from the blowfly *Calliphora vomitoria* with sequence homology to cockroach allatostatins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, pp. 2456-2460.
2. Duve H., Johnsen A.H., Maestro J.L., Scott A.G. East P.D., Thorpe A. Identification of the dipteran Leu-callatostatin peptide family: the pattern of precursor processing revealed by isolation studies in *Calliphora vomitoria*. *Regul. Pept.*, 1996, vol. 67, pp. 11-19
3. Duve H., Thorpe A. Distribution and functional significance of Leu-callatostatins in the blowfly *Calliphora vomitoria*. *Cell Tissue Res.*, 1994, vol. 276, pp. 367-379
4. Momany F.A., McGuire R.F., Burgess A.W., Scheraga H.A. Energy parameters in polypeptides: VII. Geometric parameters partial atomic charges, nonbonded interaction for naturally occurring amino acid. *J. Phys. Chem.*, 1975, vol. 79, pp. 2361-2381.
5. Попов Е.М. *The Structural Organization of Proteins*. Moscow: Nauka, 1989, 352 pp. (in Russ.)
6. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature Abbreviations and symbols for description of conformation of polypeptide chains. *Pure Appl. Chem.*, 1974, vol. 40, pp. 291-308.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОГО И ЭЛЕКТРОННОГО СТРОЕНИЯ ГОМОКАРНОЗИНА

Демухамедова С.Д.

Институт проблем физики, Бакинский государственный университет

ул. З. Халилова, 23, г. Баку, AZ-1148, Азербайджан

e-mail: svetlanabest@mail.ru

Аннотация. В работе полуэмпирическим квантовохимическим методом PM3 исследовано пространственное и электронное строение природного дипептида гомокарнозина для двух таутомерных форм N^1H и N^3H его имидазольного кольца. Получены геометрические и энергетические параметры, рассчитаны величины парциальных зарядов на атомах и сделан подробный анализ заселенностей атомных орбиталей гомокарнозина. В работе проведен сравнительный анализ энергетических параметров, НОМО и LUMO орбиталей, дипольных моментов и парциальных значений зарядов на атомах, характеризующих электронное строение гомокарнозина с ранее изученными дипептидами - карнозином и анзеринем. Гомокарнозин и анзерин оказываются энергетически более стабильными, чем карнозин. Дипольные моменты молекул свидетельствуют о большей компактности пространственной конфигурации молекул с формой имидазольного кольца N^1H .

Ключевые слова: гомокарнозин, структура, квантово-химические расчеты, заселенности атомных орбиталей.

THEORETICAL STUDY OF THE SPATIAL AND ELECTRONIC STRUCTURE OF HOMOCARNOSINE

Demukhamedova S.D.

Institute for Physical Problems, Baku State University

Z. Khalilov str., 23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan

e-mail: svetlanabest@mail.ru

Annotation. In this work the spatial and electronic structure of the natural homocarnosine's dipeptide and two tautomeric forms N^1H and N^3H of its imidazole ring were researched with semiempirical quantum chemical method. The geometrical and energy parameters of these molecules have been obtained, the values of the partial atomic charges were calculated and the detailed analysis of the populations of the atomic orbitals of homocarnosine was done. The comparative analysis of HOMO and LUMO orbitals, dipole moments and the partial values of charges on atoms which characterize the electronic structure of homocarnosine with previously studied dipeptides - carnosine and anserine was conducted. It was revealed that homocarnosin and anserin both are energetically more stable than carnosine. The dipole moments of the molecules show a more compact spatial configuration of the molecules with imidazole ring N^1H form.

Key words: homocarnosine, structure, quantum-chemical calculations, the populations of the atomic orbitals.

Карнозин – известный природный дипептид, уникальное соединение, известный антиоксидант, который состоит из двух аминокислот - бета-аланина и гистидина и обладает широким спектром функциональной активности [1]. Он широко используется в клинической практике в качестве эффективного иммуномодулятора, противовоспалительного агента при лечении катаракты, поверхностных ожогов эпидермы и заживлении ран [2-8]. Он способен нейтрализовать любые активные формы кислорода. Однако он менее эффективен *in vivo* из-за присутствия в организме таких ферментов, как карнозиназа, расщепляющих пептидную связь между остатками β -аланина и гистидина. Поэтому продолжают работы по созданию ферментостойчивых аналогов карнозина. Исследование новых стабилизированных форм карнозина и его производных, устойчивых к действию карнозиназы, является одним из приоритетных направлений последнего десятилетия, так как открываются перспективы создания новых лекарственных или профилактических препаратов с прогнозируемым эффектом действия. Многообразие биологических функций карнозина и его производных определяется его пространственным и электронным строением. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение электронно-конформационных и динамических свойств природного аналога карнозина – гомокарнозина. Гомокарнозин (γ -