

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА ГЕКСАПЕПТИДНЫХ ГЛИПРОЛИНОВ

Исмаилова Л.И., Аббаслы Р.М., Ахмедов Н.А.

Институт Физических Проблем, Бакинский Государственный Университет

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

e-mail: Abbasli\_Rena@mail.ru

**Аннотация.** С помощью метода теоретического конформационного анализа было исследовано пространственное строение и конформационные возможности двух гексапептидных молекул глипролинов: Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly и Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg. Эти молекулы участвуют в жизненно важных процессах организма и используются в качестве лекарственных препаратов. Расчет пространственной структуры пептидных молекул выполнялся в рамках механической модели молекул с учетом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найдены низкоэнергетические конформации гексапептидных молекул, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Расчет показал, что низкоэнергетическими для гексапептидных молекул являются свернутые формы основной цепи. Свернутая форма сближает участки основной цепи и боковые цепи аминокислот, входящих в эти молекулы, и приводит к их эффективным взаимодействиям.

**Ключевые слова:** гексапептид, конформация, молекула, пространственная структура.

## SPATIAL STRUCTURE OF THE HEXAPEPTIDE GLYPROLINES

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

Institute for Physical Problems, Baku State University

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

e-mail: Abbasli\_Rena@mail.ru

**Abstract.** The spatial structure of the hexapeptide molecules Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly, Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg and the conformational properties were investigated using theoretical conformational analysis method. These glyproline molecules regulate many of functions of a living organism. Using these regulatory peptides of the human body, you can create new and effective drugs. The potential energy of the each glyproline molecule was chosen as the sum of the non-valent, electrostatic and torsional interaction energies and the energy of hydrogen bonds. The low-energy conformations of earth molecule, the dihedral angles of the backbone and side chains of the amino acid residues of the hexapeptides, and the energies of intra- and inter-residual interactions were determined. It is revealed that low energy conformations of these molecules have the folded type of backbone. These folded forms bring parts of the backbone and the side chains of the amino acids together, and they result in convenient interactions.

**Key words:** hexapeptide, conformation, molecule, spatial structure.

Все биологические процессы, происходящие в живых организмах, связаны с функционированием пептидных молекул. Понять механизмы действия пептидов можно, если решить задачу их структурно-функциональной организации, поэтому изучение пространственной структуры пептидов, ее возможности изменять свою конформацию при взаимодействии с другими молекулами является важной проблемой молекулярной физики.

Глипролины – семейство коротких пептидов, аминокислотные последовательности которых состоят из остатков глицина и пролина. Глипролины влияют на систему свертывания крови, модулируют работу иммунной и нервной систем, обладают противовоспалительным действием [1]. Глипролины Pro-Gly, Pro-Gly-Pro-Gly обладают нейропротективными свойствами, обеспечивают сохранение нормальной функции инсулярной и противосвертывающей систем крови на фоне развития диабета. Ряд аминокислот (Leu, Arg), входящих в глипролины, участвуют в нормализации уровня триглицеридов и баланса липопротеидов, предотвращают риск диабета и атеросклероза [2, 3].

Целью данной работы является определение пространственного строения двух гексапептидных молекул с чередующимися остатками глицина (Gly) и пролина (Pro), а также молекулы глипролина, включающей остаток аргинина (Arg): Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly, Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg. Пространственная структура глипролинов определялась с помощью метода теоретического конформационного анализа, который дает возможность рассчитывать трехмерную структуру пептидных молекул исходя из известной аминокислотной последовательности [4]. Использовалась разработанная нами специальная классификация (конформация, форма основной цепи, шейп). Формы остатков определялись областями В, R, L и P двугранных углов основной цепи  $\phi$ - $\psi$ . При расчете рассматривались развернутые формы дипептидной молекулы (BB, BR, LB, LR, RL, PL, PP- шейп e) и свернутые формы основной цепи (RB, RR, BL, LL, PR, PB- шейп f). Для глицина начальные приближения формировались из низкоэнергетических конформаций (R форма –  $\phi = -90^\circ$ ;  $\psi = -90^\circ$ ; B форма –  $\phi = -90^\circ$ ;  $\psi = 100^\circ$ ; L форма –  $\phi = 90^\circ$  и P форма основной цепи –  $\phi = 90^\circ$ ;  $\psi = -90^\circ$ ). Для аминокислоты пролин учитывались два положения (B форма –  $\psi = 130^\circ$  и R форма –  $\psi = -50^\circ$ ). Для аминокислотного остатка Arg рассматривались R, B и L формы основной цепи. Положения боковой цепи аргинина, имеющего длинную, положительно заряженную боковую цепь, определялись четырьмя углами  $\chi^1$ ,  $\chi^2$ ,  $\chi^3$  и  $\chi^4$ .

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учетом невалентных ( $E_{нв}$ ), электростатических ( $E_{эл}$ ), торсионных взаимодействий ( $E_{тор}$ ) и энергии водородных связей ( $E_{вс}$ ). Конформационное состояние каждого аминокислотного остатка обозначалось через  $X_{ij}$ , где X характеризует форму основной цепи остатка (R, B, L, P), а

символы  $ij = 11\dots, 12\dots, 13\dots, 21\dots$ , и т.д. отвечают положениям боковой цепи ( $\chi^1, \chi^2, \dots$ ); индекс 1 соответствует значениям углов в области  $0-120^\circ$ , индекс 2 – области  $120^\circ - (-120^\circ)$ , а индекс 3 – области  $(-120^\circ)-0^\circ$ . Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют принятой международной номенклатуре [5]. Для нахождения пространственного строения данных пептидных молекул использовалась специально разработанная программа [6].

С помощью метода теоретического конформационного анализа была рассчитана пространственная структура молекул дипептида Pro-Gly, тетрапептидов Pro-Gly-Pro-Gly и Pro-Gly-Pro-Arg, гексапептидов Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly и Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg. Такие расчеты трехмерной структуры пептидных молекул позволяют определить геометрические и энергетические параметры пептидов, значения двугранных углов основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в молекулу, а также энергетические вклады внутримолекулярных взаимодействий.

Расчет дипептидной молекулы Pro-Gly выполнялся на основе стабильных конформаций монопептидов L-глицина и N-ацетил-L-пролина. Для дипептида Pro-Gly, содержащего 27 атомов и 6 переменных двугранных углов, возможны 2 шейпа и 8 форм основной цепи. Конформационные свойства дипептидной молекулы определяются углами только основной цепи остатков пролина и глицина:  $\phi, \psi, \omega$ . Всего для дипептида Pro-Gly было составлено 20 начальных приближений. Для каждой конформации рассчитывались вклады невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий, а так же вклады внутримолекулярных монопептидных и дипептидных взаимодействий. Расчет обнаружил все возможные для дипептидной молекулы конформационные состояния, выявил низкоэнергетические конформации. Самой низкой энергией обладают конформации со свернутой формой основной цепи RB и RR. Представители всех возможных конформаций дипептидной молекулы Pro-Gly учитывались при исследовании конформационных возможностей тетрапептида.

Начальные приближения тетрапептидной молекулы Pro-Gly-Pro-Gly были составлены на основе проведенного расчета конформационных возможностей дипептида Pro-Gly. Молекула тетрапептида насчитывает 48 атомов и 11 переменных двугранных углов основной цепи. В общем случае для тетрапептидной молекулы возможны 8 шейпов и 32 формы основной цепи. В нашем случае общее число форм основной цепи, включая граничные конформации для остатков Gly, составило свыше 200 начальных приближений. Проведенный теоретический конформационный анализ тетрапептидной молекулы обнаружил 20 низкоэнергетических конформаций, попадающих в энергетический интервал 0–4 ккал/моль. Самыми низкоэнергетическими оказались конформации со свернутой основной цепью RRRR, RRRB, BPRR, RRBP и с полусвернутой основной цепью BRRB, BRBP и BRBB (таблица 1). Все они учитывались при определении пространственной структуры гексапептидной молекулы Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly.

Таблица 1 – Энергетические параметры низкоэнергетических конформаций тетрапептидных молекул

№	Конформация (шейп)	$E_{нв}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{общ}$	$E_{отн}$
Молекула Pro-Gly-Pro-Gly						
1	RRRR (fff)	-7,9	-2,9	1,5	-9,3	0,0
2	RRRB (fff)	-7,3	-2,6	1,3	-8,7	0,6
3	RRRP (ffe)	-6,0	-3,3	1,4	-7,9	1,4
4	BPBR (ffe)	-5,3	-2,9	1,0	-7,2	2,1
5	RPRB (eff)	-5,7	-3,1	1,1	-7,7	1,6
Молекула Pro-Gly-Pro-Arg						
1	RRBR (ffe)	-10,0	-3,8	1,3	-12,6	0,0
2	RRRL (ffe)	-11,3	-2,7	2,3	-11,7	0,9
3	BPRR (fff)	-8,8	-3,1	0,7	-11,2	1,4
4	BPRB (fff)	-8,3	-3,3	1,3	-10,2	2,4
5	RPRR (eff)	-10,9	-1,5	2,0	-10,1	2,5

Молекула тетрапептида Pro-Gly-Pro-Arg насчитывала 86 атомов и 20 переменных двугранных углов. Остаток аргинина имеет длинную, лабильную и положительно заряженную боковую цепь. Было составлено свыше 300 начальных приближений для этой молекулы, которые были проминимизированы по энергии. Расчет обнаружил 35 конформаций, попадающих в энергетический интервал 0–4 ккал/моль. Самыми низкоэнергетическими оказались конформации с полусвернутой основной цепью, принадлежащие шейпу ffe (RRBR, RRRL). Немного уступают им по энергии конформации с полностью свернутой основной цепью (таблица 1).

Начальные приближения двугранных углов для определения пространственной структуры гексапептидной молекулы формировались на основе полученных расчетных данных пространственной структуры тетрапептида и дипептида Pro-Gly. Сама молекула насчитывала 69 атомов и 16 переменных углов. Было составлено свыше 300 конформаций, которые были проминимизированы по энергии. Самые низкоэнергетические конформации, относительная энергия которых попадает в широкий интервал 0-6 ккал/моль, представлены в таблице 2. Здесь же даны энергетические вклады невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий, общая и относительная энергии конформаций.

Таблица 2 – Энергетическое распределение (ккал/моль) низкоэнергетических конформаций гексапептидных молекул глипролинов

№	Конформация (шейп)	$E_{нв}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{общ}$	$E_{отн}$
Молекула Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly						
1	RBRRRR (fefff)	-15,1	-4,1	2,1	-17,6	0
2	RBRRRB (fefff)	-14,5	-3,9	1,5	-16,9	0,7
3	RRBPRR (fffff)	-13,2	-4,3	1,9	-15,6	2,0
4	RRRRRR (fffff)	-14,6	-4,3	3,5	-15,4	2,2
5	RPRRRR (effff)	-13,7	-4,2	1,7	-16,3	1,3
Молекула Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg						
1	RRBPRR (fffff)	-19,0	-3,8	2,0	-20,7	0
2	RRRRRB (fffff)	-17,8	-4,1	3,5	-18,5	2,2
3	RBRRRR (fefff0)	-17,4	-3,1	2,3	-18,2	2,5
4	RRRBRB (fffef)	-15,1	-4,1	1,4	-15,2	5,5
5	RPRRRR (effff)	-16,7	-3,7	1,8	-18,7	2,0

Глобальной конформацией молекулы Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly является RPRRRR. Вклад невалентных взаимодействий в этой структуре составляет (-13,7) ккал/моль, электростатических взаимодействий (-4,2) ккал/моль, торсионных взаимодействий (1,9) ккал/моль, общая энергия конформации составляет (-16,0 ккал/моль) (см. табл.1). Данная конформация является компактной, так как имеет свёрнутую форму основной цепи, поэтому между участками основной цепи молекулы и боковыми цепями аминокислотных остатков возникают сильные взаимодействия. В стабилизации этой конформации играют важную роль следующие энергетические вклады: монопептидные взаимодействия составляют 3,4 ккал/моль, дипептидные (-5,8 ккал/моль), трипептидные (-5,3 ккал/моль), тетрапептидные (-4,8 ккал/моль), пентапептидные (-4,0 ккал/моль) и гексапептидные (-0,1 ккал/моль). Всего 2,8 ккал/моль уступает по энергии конформация RRRRRR с полностью свернутой формой основной цепи, а пространственные структуры с полусвернутыми формами BRRBRR и BLRRRR, которые проигрывают глобальной конформации 4,7 и 4,6 ккал/моль соответственно. Подробный анализ внутримолекулярных взаимодействий был проведен для каждой из низкоэнергетических структур гексапептидной молекулы. Проведенное исследование позволило количественно оценить энергетические и геометрические параметры низкоэнергетических конформаций гексапептидной молекулы и показало, что молекула Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly обладает ограниченным набором стабильных структур.

Включение в структуру глипролинов аминокислотного остатка Arg расширяет спектр биологической активности этих молекул. У некоторых аргининсодержащих глипролинов отмечается снижение физиологических эффектов, в частности, анальгетического. Начальные варианты двугранных углов для определения пространственной структуры гексапептида Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg формировались на основе полученных расчетных данных пространственной структуры дипептида Pro-Gly и тетрапептида Pro-Gly-Pro-Arg. Молекула насчитывала 86 атомов и 20 переменных двугранных углов. Было составлено свыше 400 вариантов, которые были проминимизированы по энергии. Самые низкоэнергетические конформации в интервале 0-6 ккал/моль, представлены в таблице 2. Для каждой конформации приведены энергетические вклады невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий, общая и относительная энергии.

Самую низкую энергию молекулы Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg имеет конформация RRBPRR, принадлежащая шейпу fffff. Она имеет полностью свернутую форму основной цепи. Такой ход основной цепи обеспечивает эффективные взаимодействия между участками основной цепи и боковыми цепями. В этой конформации вклад невалентных взаимодействий составляет (-19,0) ккал/моль, электростатических взаимодействий (-3,8) ккал/моль, торсионных взаимодействий (2,0) ккал/моль, общая энергия конформации составляет (-20,7 ккал/моль) (см. табл. 2). Данная конформация является компактной, так как имеет свёрнутую форму основной цепи, поэтому между участками основной цепи молекулы и боковыми цепями аминокислотных остатков возникают сильные взаимодействия.

Для каждой конформации был проведен анализ внутримолекулярных взаимодействий, вкладов моно-, ди-, три-, тетра-, пента- и гексапептидных взаимодействий. Проведенный расчет позволил определить количественные энергетические и геометрические характеристики молекул. Атомные модели низкоэнергетических конформаций гексапептидных молекул представлены на рисунке 1. Исследование пространственного строения гексапептидных глипролинов показало, что свернутые структуры являются для молекул низкоэнергетическими. Такая форма основной цепи приводит к сближенности участков основной цепи и боковых цепей аминокислот, тем самым, обеспечивая их эффективные взаимодействия.

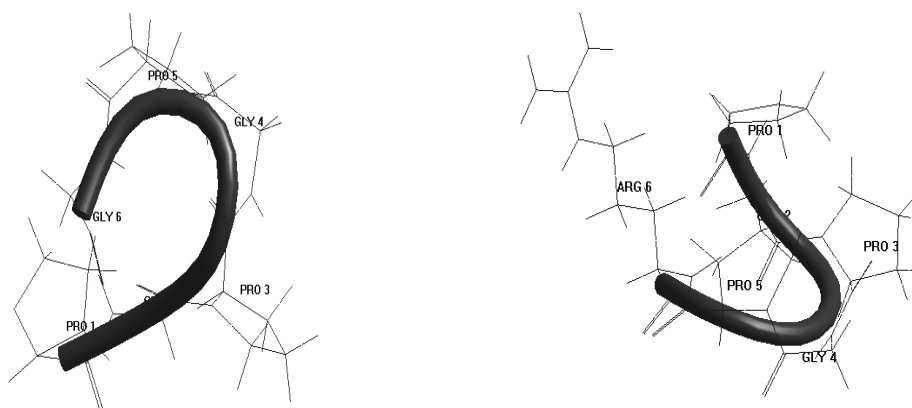


Рисунок 1 - Атомные модели низкоэнергетических конформаций RBRRRR молекулы Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Gly и RRBPRR молекулы Pro-Gly-Pro-Gly-Pro-Arg

Полученные результаты могут быть использованы для изучения пространственного строения тетрапептидных и гексапептидных молекул глипролинов, а также для исследования конформационных возможностей боковых цепей при взаимодействии с молекулами рецепторов.

#### Список литературы / References:

1. Мартынова К.В., Андреева Л.А., Климова П.А. и др. Структурно-функциональные исследования глицин и пролин содержащих пептидов, являющихся нейропротекторами. *Биоорг.химия*, 2009, т. 35. № 2, с. 165-171. [Martynova K.V., Andreyeva L.A., Klimova P.A. et al Structure-functional studies glycine and proline containing peptides, which are neuroprotectors. *Bioorg.chem.*, 2009, vol. 35, no. 2, pp. 165-171 (In Russ.)]
2. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Андреева Л.А. и др. Защитные противоэффекты пролинсодержащих пептидов при стрессогенных воздействиях на организм животных. *Известия РАН, серия биологическая*, 2010, № 4, с. 462-467. [Lyapina L., Grigorieva M.E., Andreyeva L.A. et al Protective counter-effects of proline-containing peptides under stressogenic effects on the animal organism. *Izvestiya RAN, biological ser.*, 2010, no. 4, pp. 462-467 (In Russ.)]
3. Бакаева З.В., Самонина Г.Е., Умарова Б.А., Копылова Г.Н., Гончарова Е.Л., Багликова К.Е. Исследование противовоспалительных свойств глипролинов на экспериментальной модели острого перитонита у крыс. *Цитокины и воспаление*, 2008, т. 7, № 2, с. 28-32 [Bakaeva Z.V., Samonina G.E., Umarova B.A., Kopylova G.N., Goncharova E.L., Baglikova K.E. Investigation of the anti-inflammatory properties on the experimental model of acute peritonitis in rats. *Cytokines and inflammatory*, 2008, vol. 7, no. 2, pp. 28-32 (In Russ.)]
4. Popov E.M. An Approach to calculations of the problem of structure- functional organization of natural peptides. *Mol. Biol.*, 1985, vol. 19, pp. 1107-1138.
5. Maksumov I.S., Ismailova L.I., Godjaev N.M. A computer program for calculation of conformations of molecular systems, *J. Struc. Chem.*, 1983, vol. 24, pp. 147-148.
6. IUPAC-IUB Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry. *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, 1988, vol.39.