

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЛИПРОЛИНОВОЙ ПЕНТАПЕПТИДНОЙ МОЛЕКУЛЫ

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

Бакинский Государственный университет, Институт физических проблем  
ул. 3. Халилова 23, Баку, AZ-1148, Азербайджан; e-mail: lara.ismailova.52@mail.ru  
Поступила в редакцию: 11.07.2019

**Аннотация.** К регуляторным пептидам относится семейство глипролинов - коротких пептидов, аминокислотные последовательности которых содержат остатки глицина и пролина. В настоящее время механизмы действия глипролинов и их мишени мало изучены. Важной задачей также является создание синтетических аналогов глипролинов, молекулы которых отличаются высокой стабильностью и эффективностью. Актуальным представляется проведение структурно-функциональных исследований глипролинов и их синтетических аналогов на модельных системах с помощью теоретических методов исследования. С помощью метода молекулярной механики было определено пространственное строение и конформационные свойства глипролиновой пентапептидной молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro. Потенциальная энергия молекулы оценивалась как сумма невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найдены 7 низкоэнергетических конформаций для глипролинового пентапептида, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Расчет показал, что низкоэнергетическими для пентапептида являются полусвернутые формы основной цепи. Боковые цепи аминокислот Thr и Lys в низкоэнергетических конформациях осуществляют эффективные взаимодействия и являются конформационно лабильными аминокислотами, они сближают участки основной цепи и боковые цепи аминокислот, входящих в пентапептид.

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

В настоящее время активно исследуется роль регуляторных пептидов в жизни и деятельности живых организмов. Регуляторные пептиды контролируют все биохимические процессы в живом организме. Среди них класс глипролинов, коротких пептидных молекул, состоящих из аминокислотных остатков глицина и пролина, привлекает внимание ученых, так как они являются источниками фармацевтических препаратов, которые поставляют сам организм. Глипролины – это нейробиохимические молекулы психотропного действия, регулируют систему свертывания крови, влияют на работу иммунной и нервной систем [1, 2]. Создание новых лекарственных препаратов на основе глипролинов – современное направление фармакологии. Понять механизмы действия этих биомолекул можно, если решить задачу их структурно-функциональной организации. Целью данной работы является определение трехмерной структуры глипролиновой пентапептидной молекулы с аминокислотной последовательностью Thr-Lys-Pro-Gly-Pro.

Пентапептидная молекула состоит из двух трипептидных самостоятельно активных молекул трипептида макрофагально-микроглиального ингибирующего фактора (Thr-Lys-Pro) и глипролинового трипептида Pro-Gly-Pro. Известно, что трипептид Thr-Lys-Pro, представляющий часть второго домена IgG человека, тормозит функцию макрофагов, а трипептид Pro-Gly-Pro обладает нейропротективными свойствами, обеспечивает сохранение нормальной функции инсулярной и противосвертывающей систем крови на фоне развития диабета. Конформационные свойства пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro рассчитывались фрагментарно: сначала изучалась пространственная структура двух трипептидов Thr-Lys-Pro и Pro-Gly-Pro, а затем на основе полученных результатов исследовалась трехмерная структура всей пентапептидной молекулы.

Компьютерное моделирование, основанное на использовании метода теоретического конформационного анализа и программ, позволяющих получать графическое изображение пространственной структуры молекулы, было выполнено для молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro семейства глипролинов. Метод теоретического конформационного анализа дает возможность рассчитывать трехмерную структуру пептидных молекул исходя из известной аминокислотной последовательности [3]. В расчетах использовалась разработанная специальная классификация (конформация, форма основной цепи, шейп). Формы остатков определялись областями B,R,L и P двугранных углов основной цепи  $\varphi$ - $\psi$ . При расчете рассматривались развернутые формы дипептидной молекулы (BB, BR, LB, LR, RL, PL, PP - шейпе) и свернутые формы основной цепи (RB, RR, BL, LL, PR, PB - шейп f). Для глицина начальные приближения формировались из низкоэнергетических конформаций (R форма –  $\varphi = -90^\circ$ ;  $\psi = -90^\circ$ ; B форма –  $\varphi = -90^\circ$ ;  $\psi = 100^\circ$ ; L форма –  $\varphi = 90^\circ$  и P форма основной цепи –  $\varphi = 90^\circ$ ;  $\psi = -90^\circ$ ). Для аминокислоты пролин учитывались два положения (B форма –  $\psi = 130^\circ$  и R форма –  $\psi = -50^\circ$ ). Для аминокислотных остатков Thr рассматривались R, B и L формы основной цепи, а для Lys только B и L формы основной цепи, так как R форма является высокоэнергетичной для остатка, стоящего перед Pro. Положения боковой цепи треонина определялись тремя двугранными углами  $\chi^1, \chi^2, \chi^3$ , а для лизина - пятью углами  $\chi^1, \chi^2, \chi^3, \chi^4$  и  $\chi^5$ .

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учётом 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 ( $\chi^1, \chi^2, \dots$ ). Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют принятой международной номенклатуре [4]. Для нахождения пространственного строения данных пептидных молекул использовалась специально разработанная программа [5]. Расчеты трехмерной структуры пептидных молекул позволяют определять геометрические и энергетические параметры пептидов, значения двугранных углов основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в молекулу, а также энергетические вклады внутримолекулярных взаимодействий.

Трипептидная молекула Thr-Lys-Pro представляет собой N-концевой участок пентапептидной молекулы. Ее расчет выполнялся на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L-треонина, лизина и пролина. Для аминокислоты треонин учитывались B, R и L формы основной цепи. Остаток лизина в расчетах имел две формы основной цепи B и L, так как R форма основной цепи аминокислоты, стоящей перед пролином, является высокоэнергетической. Для аминокислоты пролин учитывались две формы основной цепи B и R. Трипептид включал в себя 56 атомов и 17 переменных двугранных углов основной и боковых цепей. Расчет выявил, что для трипептидной молекулы Thr-Lys-Pro низкоэнергетическими являются конформации RBR и RBV с полусвернутой формой основной цепи. В глобальной конформации  $R_{122} B_{21222} R$  ход основной цепи приводит к сближенности участков основной цепи и боковых цепей аминокислотных остатков. Вклад невалентных взаимодействий составляет -8,8 ккал/моль, электростатических взаимодействий 2,6 ккал/моль и торсионных 1,0 ккал/моль. Эффективными в этих конформациях являются ди- и трипептидные взаимодействия. Определены геометрические параметры – значения двугранных углов основной и боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в трипептидную молекулу. Расчет показал энергетическую дифференциацию конформаций молекулы Thr-Lys-Pro. Все низкоэнергетические конформации в энергетическом интервале 0 – 4 ккал/моль были включены в расчет пентапептидной молекулы.

Конформационные возможности трипептида Pro-Gly-Pro были изучены на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L-пролина и N-ацетил-L-глицина. Для данного трипептида, содержащего 39 атомов и 7 переменных двугранных углов, возможны 4 шейпа, представленных 16-ю формами основной цепи. Для аминокислоты Gly рассматривались и граничные значения углов  $\phi$  и  $\psi$ . Из 16 рассчитанных форм основной цепи самой низкоэнергетической является RRR, которая имеет свернутый ход основной цепи. В глобальной конформации RRR ( $E_{отн} = 0$  ккал/моль) энергия невалентных взаимодействий составляет -4,3 ккал/моль, электростатических -3,7 ккал/моль и торсионных 0,7 ккал/моль. При этом основной стабилизирующий вклад вносят ди- и трипептидные взаимодействия. Всего 1,1 ккал/моль проигрывает конформация с полусвернутой формой основной цепи RPR. Таким образом, проведенный расчет не обнаружил резкой энергетической дифференциации по шейпам и формам основной цепи. В энергетический интервал 0-3 ккал/моль попадают 12 конформаций, принадлежащих всем возможным шейпам. Лучшей конформацией с полностью развернутой основной цепью является RLR, а у другой полусвернутой формы основной цепи fe самой низкоэнергетической является конформация BLR. Расчет выявил 20 низкоэнергетических конформаций для трипептида Pro-Gly-Pro.

Найденные низкоэнергетические конформации двух трипептидных молекул послужили основой для определения начальных приближений всей пентапептидной молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro. Молекула содержала 77 атомов и 22 переменных двугранных угла основной и боковых цепей аминокислот, входящих в эту молекулу. Боковые цепи треонина и лизина лабильны, причем боковая цепь лизина объемна и несет положительный заряд. Пролин имеет жесткую боковую цепь, а глицин в качестве боковой цепи имеет только один атом водорода. Специфика боковых цепей всех аминокислот пентапептидной молекулы определила количество начальных приближений. Всего было рассчитано 144 формы основной цепи, принадлежащих 128 возможным шейпам. Было составлено свыше 250 начальных приближений. Все они были проминимизированы по энергии, оценены их геометрические и энергетические параметры. Низкоэнергетические конформации молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro представлены в таблице 1.

Расчет выявил, что для молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro в энергетический интервал 0-5 ккал/моль попадают конформации полусвернутых шейпов. Для пентапептида самыми низкоэнергетическими оказались конформации с формой основной цепи BBBLB, BBBLR, RBRR, RBBLR, RBRPR и RBRRR. Для низкоэнергетических конформаций пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro в таблице 1 приведены энергетические вклады невалентных ( $E_{нв}$ ), электростатических ( $E_{эл}$ ), торсионных ( $E_{торс}$ ) взаимодействий, а также общая и относительная энергия молекулы.

Самой низкоэнергетической конформацией оказалась форма основной цепи  $R_{122} B_{21222} RPR$  (шейп feef), которая имеет полусвернутый ход основной цепи. В глобальной конформации RBRPR ( $E_{отн} = 0$  ккал/моль) энергия невалентных взаимодействий составляет -16,6 ккал/моль, электростатических 0,3 ккал/моль и торсионных 2,3 ккал/моль. При этом основной стабилизирующий вклад вносят ди-, три-, тетра- и пентапептидные взаимодействия аминокислотных остатков.

**Таблица 1.** Энергетические параметры низкоэнергетических конформаций пентапептидной глипролиновой молекулы

№	Конформация (шейп)	$E_{нв}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{общ}$	$E_{отн}$
Молекула Thr-Lys-Pro-Gly-Pro						
1	B <sub>222</sub> B <sub>23222</sub> BLB (eefe)	-13,4	-1,0	2,7	-11,6	2,4
2	B <sub>222</sub> B <sub>23222</sub> BLR (eefe)	-13,8	-1,4	2,5	-12,5	1,5
3	R <sub>122</sub> B <sub>21222</sub> BRR (feef)	-13,6	-0,5	2,6	-11,5	2,5
4	R <sub>122</sub> B <sub>32222</sub> BLR (fefe)	-15,0	-1,3	2,8	-13,5	0,5
5	R <sub>122</sub> B <sub>21222</sub> RPR (feef)	-16,6	0,3	2,3	-14,0	0,0
6	R <sub>122</sub> B <sub>32222</sub> RRR (feff)	-16,2	1,9	1,7	-12,5	1,5
7	R <sub>122</sub> B <sub>32222</sub> BLB (fefe)	-11,4	-0,2	2,4	-9,2	4,8

Всего 0,5 ккал/моль проигрывает другая конформация с полусвернутой формой основной цепи R<sub>122</sub> B<sub>32222</sub> BLR (шейпа fefe). Формы с полностью развернутой основной цепью уступают по энергии от 5 до 9 ккал/моль. Таким образом, расчет обнаружил резкую энергетическую дифференциацию конформаций по шейпам и формам основной цепи. В энергетический интервал 0-5 ккал/моль попадают 26 конформаций, принадлежащих 8 возможным шейпам. Геометрические параметры (в градусах) четырех низкоэнергетических конформаций пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro представлены в таблице 2.

Полученные результаты могут быть использованы для изучения пространственного строения гексапептидных молекул глипролинов, а также исследования конформационных возможностей боковых цепей при взаимодействии с молекулами рецепторов. Можно сравнить результаты расчета глипролиновой пентапептидной молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro с данными пространственной структуры молекулы селанк, аминокислотная последовательность которой представляет собой гептапептидную молекулу Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro [6].

Селанк является синтезированным гептапептидом на основе модификации структуры молекулы тафцина. Эта молекула имеет структуру, в которой к тетрапептиду Thr-Lys-Pro-Arg дополнен трипептидный участок Pro-Gly-Pro. Считается, что именно этот трипептид защищает гептапептидную молекулу от быстрого распада под действием протеолитических ферментов. Известно, что именно пространственная структура определяет функциональные свойства пептидных молекул.

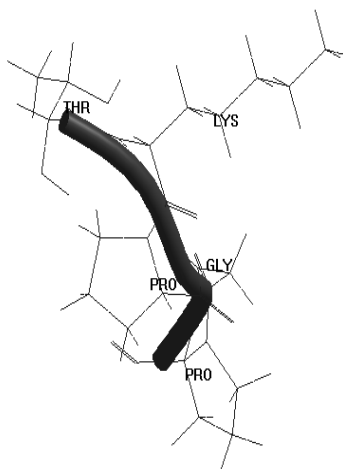
Молекула гептапептида включала в себя 115 атомов и 31 переменный двугранный угол основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в нее. Расчет пространственной структуры гептапептидной молекулы Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro выполнялся в два этапа. Сначала определялись конформационные возможности тетрапептида Thr-Lys-Pro-Arg и трипептида Pro-Gly-Pro. Низкоэнергетические конформации рассчитанных участков были использованы для нахождения пространственной структуры всей молекулы селанк. Было составлено свыше 400 вариантов, которые были проминимизированы по энергии. Расчет обнаружил наличие резкой энергетической дифференциации пространственных структур гептапептидной молекулы Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro.

Проведенный расчет обнаружил, что для молекулы селанк самыми низкоэнергетическими оказались конформации с формами основной цепи RBRRBLR, RBRBBLR, RBRBBPR и BBRRBLR. Глобальной конформацией гептапептидной молекулы является RBRRBLR. Данная конформация является компактной структурой, поэтому между аминокислотными остатками молекулы возникают сильные взаимодействия. Низкая энергия этой конформации обусловлена наличием всех возможных для гептапептидной молекулы взаимодействий. В энергетический интервал 0-7 ккал/моль попадают конформации четырех форм основной цепи. Проведенный расчет пространственной структуры пептидной молекулы селанк позволил определить геометрические и энергетические параметры пептида, значения двугранных углов основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в молекулу, а также энергетические вклады внутримолекулярных взаимодействий.

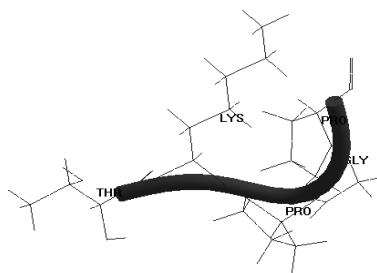
**Таблица 2.** Геометрические параметры (град.) низкоэнергетических конформаций пентапептидной молекулы Thr-Lys-Pro-Gly-Pro

	Углы	RBRPR	RBBLR	RBRRR	BBBLB
Thr1	$\varphi_1$	-84	-83	-81	-138
	$\chi^1_1$	57	57	57	-178
	$\chi^1_2$	-179	-179	180	177
	$\chi^1_3$	175	176	176	175
	$\psi_1$	-64	-61	-60	161
	$\omega_1$	175	176	176	178
Lys2	$\varphi_2$	-123	-121	-130	-124
	$\chi^2_1$	177	-158	-61	-157
	$\chi^2_2$	58	-58	-178	-57
	$\chi^2_3$	172	179	180	178
	$\chi^1_4$	170	-178	180	-169
	$\chi^1_5$	179	176	180	-179
	$\psi_2$	92	100	74	95
$\omega_2$	177	176	177	178	
Pro3	$\varphi_3$	-60	-60	-60	-60
	$\psi_3$	-46	107	-51	126
	$\omega_3$	-176	183	181	-176
Gly4	$\varphi_4$	141	74	-74	61
	$\psi_4$	-70	73	-73	67
	$\omega_4$	168	-178	-172	-178
Pro5	$\varphi_5$	-60	-60	-60	-60
	$\psi_5$	-51	-54	-44	131
	$\omega_5$	179	179	-177	180
Энергия $E_{отн}$ (ккал/моль)		0,0	0,5	1,5	2,4

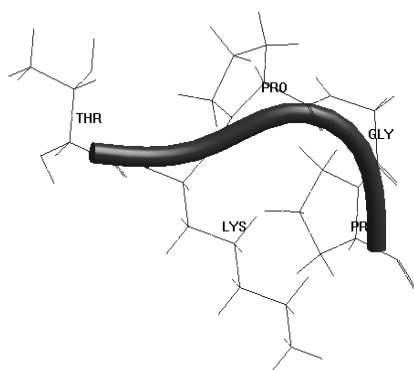
Расположение аминокислот в трех низкоэнергетических конформациях пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro представлено на рисунках 1-3. Из приведенных рисунков можно увидеть сближенность участков основной цепи и боковых цепей аминокислот, входящих в данную молекулу. Полученные результаты могут быть использованы для изучения пространственного строения аналогов пента- и гексапептидных молекул глипролинов, а также исследования конформационных возможностей боковых цепей Thr и Lys при взаимодействии с молекулами рецепторов.



**Рисунок 1.** Низкоэнергетическая пространственная структура R<sub>122</sub> B<sub>21222</sub>RPR пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro



**Рисунок 2.** Низкоэнергетическая пространственная структура R<sub>122</sub> B<sub>3222</sub> BLR пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro



**Рисунок 3.** Низкоэнергетическая пространственная структура B<sub>222</sub> B<sub>3222</sub> BLB пентапептида Thr-Lys-Pro-Gly-Pro

#### 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. хим.*, 2009, т. 35, № 2, с. 165-171. [Martynova K.V., Andreeva L.A., Klimova P.A. et al. Structure-functional investigation of the glycin and prolin containing peptides, which are neyroprotectors, *Bioorg. chim.*, 2009, vol. 35, no. 2, pp. 165-171. (In Russ.)]
2. Falalyeyeva T.M., Samonina G.E., Beregovaya T.V. [et. al] Effects of glyprolines PGP, PG and GP on homeostasis of gastric mucosa in rats with experimental ethanol-induced gastric ulcers. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2010, vol. 149, no. 6, pp. 699-701.
3. Попов Е.М. *Белки и пептиды*. М.: Наука, 1995, 442 с. [Popov E.M. *Proteins and peptides*. Moscow: Science, 1995, 442 p.]
4. IUPAC-IUB *Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988. vol. 39.
5. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Программа полуэмпирического расчета конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ. *Журнал структурной химии*, 1983, т. 24, № 4, с. 147-148. [Maksumov I.S., Ismailova L.I., Godjajev N.M. Program of the semi-empirical calculation of the conformations of the molecular complexes on the IBM. *Journal of structural chemistry*, 1983, vol. 24, no. 4, pp. 147-148]
6. Ismailova L.I., Abbasli R.M., Akhmedov N.A. Use of Informational Technologies in Study of the spatial structure of glyprolines. *AICT 2012, VI International Conference Application of Information and Communication Technologies*, Tbilisi, Georgia, 2012, pp. 389-392.

## STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE GLYPROLINE PENTAPEPTIDE MOLECULE

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

Baku State University, Institute for Physical Problems

Z. Khalilov Str., 23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan; e-mail: lara.ismailova.52@mail.ru

**Abstract.** Regulatory peptides include a family of glyprolines, short peptides whose amino acid sequences contain glycine and proline residues. At present, the mechanisms of action of glyprolines and their targets are poorly understood. An important task is also the creation of synthetic analogues of glyprolines, the molecules of which are distinguished by high stability and efficiency. It seems relevant to carry out structural and functional studies of glyprolines and their synthetic analogues on model systems using theoretical research methods. Using the method of molecular mechanics, the spatial structure and conformational properties of the glyproline pentapeptide molecule Thr-Lys-Pro-Gly-Pro were determined. The potential energy of the molecule was estimated as the sum of non-valent, electrostatic, torsion interactions and the energy of hydrogen bonds. 7 low-energy conformations were found for glyproline pentapeptide, the values of structure the dihedral angles of the main and side chains, and the energy of intra- and inter-residue interactions was estimated. It is revealed that low energy conformations of this molecule have the half-folded type of backbone. The side chains of the Thr and Lys amino acids in low-energy conformations carry out effective interactions and are conformationally labile amino acids, they bring together the regions of the main chain and the side chains of the amino acids included in the pentapeptide.

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