

## СРАВНЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ СВОЙСТВ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ МОЛЕКУЛ ОВОКИНИНА (2-7) И НОВОКИНИНА

Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет

ул. З. Халилова, 23, г. Баку, AZ1148, Азербайджан; e-mail: gulshen@mail.ru

Поступила в редакцию: 09.07.2020

**Аннотация.** Молекула овокинина (2-7), аминокислотная последовательность которой является производной от участка 359-364 молекулы овальбумина, соответствует минимальной последовательности овокинина, существенно понижающей артериальное давление. В данной работе было проведено сравнительное исследование пространственного строения и конформационных свойств молекул овокинина (2-7) и его аналога новокинина методом молекулярной механики. Проведенные расчеты показали, что в слабополярной среде пептиды предпочтительно формируют похожие стабильные структуры, для которых характерна вытянутая с двумя загибами конформация пептидной цепи. Было показано, что энергетически предпочтительная конформация этих пептидов стабилизируется эффективным электростатическим взаимодействием с образованием водородных связей между атомами гуанидиновой группы боковой цепи аргинина и карбоксильными группами молекул. В результате сравнительного исследования двух структурно гомологичных пептидов, овокинина (2-7) и новокинина, были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях молекул. На основе полученных параметров были составлены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций овокинина (2-7) и новокинина.

**Ключевые слова:** овокинин (2-7) новокинин, аналог, конформация, метод молекулярной механики.

Овокинин (2-7) активный антигипертензивный пептид, состоящий из шести аминокислотных остатков: Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe. Эта последовательность, соответствующая участку 359-364 молекулы овальбумина, является минимальной последовательностью овокинина, существенно понижающей артериальное давление [1]. Было показано, что гипотензивные эффекты овокинина (2-7) были на пять порядков ниже, чем у брадикинина, нонапептида, расширяющего кровеносные сосуды и потому существенно снижающего кровяное давление [2]. Брадикинин, как известно, является природным субстратом ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), который участвует в регуляции кровяного давления. Кроме того, было показано, что овокинин (2-7) модулирует сердечно-сосудистую активность, взаимодействуя с рецепторами брадикинина B2. Как известно, осуществление и эффективность фармакологических воздействий пептидного биорегулятора, так или иначе, связаны со структурной комплементарностью, взаимодействующих пептида и рецептора. Для создания более эффективного гипотензивного пептида в работах [2-4] были проведены многоэтапные замещения аминокислотных остатков во втором, третьем, четвертом и шестом позициях молекулы овокинина (2-7). В итоге был синтезирован и протестирован гексапептид, названный новокинином [4]. Гексапептид новокинин оказался агонистом ангиотензинового рецептора AT<sub>2</sub>, который в свою очередь играет роль модулятора эффектов ренин-ангиотензивной системы при гипертензии. В результате тестирования выяснилось, что новокинин является сильным вазодилататором и гипотензивным пептидом [4-6]. По всей видимости знание конформационных возможностей функционально активных пептидов позволит выяснить механизм их действия и вести более целенаправленный поиск новых эффективных аналогов, поскольку именно стерическое соответствие в конечном счете обеспечивает специфичность связывания с рецептором.

В данной работе было проведено исследование пространственного строения и конформационных свойств молекулы овокинина (2-7) RADHPF и его аналога новокинина RPLKPW в свободной карбоксилатной форме методом молекулярной механики. При конформационном расчете пептидов учитывались невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионные потенциалы. В работе расчет стабильных конформаций гексапептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работе [7]. При обсуждении результатов расчета была использована принятая классификация пептидных структур [7]. Конформационное состояние каждого остатка определялось значениями двугранных углов  $\varphi$ ,  $\psi$  и  $\omega$  основной цепи и  $\chi^i$ , боковых цепей. Введено понятие формы остатка, которое характеризует область (R, B, L или P) значений углов  $\varphi$  и  $\psi$ . Углы  $\varphi$  и  $\psi$  основной цепи в конформациях находятся из низкоэнергетических областей стерической карты: R ( $\varphi, \psi = -180^\circ \div 0^\circ$ ), B ( $\varphi = -180^\circ \div 0^\circ, \psi = 0^\circ \div 180^\circ$ ), L ( $\varphi, \psi = 0^\circ \div 180^\circ$ ) и P ( $\varphi = 0^\circ \div 180^\circ, \psi = -180^\circ \div 0^\circ$ ). Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных пептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов ( $\varphi$  и  $\psi$ ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты R, B и L для каждого монопептида, а для монопептида пролина конформации выбирались из двух B и R областей [7]. Отсчет двугранных углов вращения  $\varphi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$  и  $\chi^i$  проведен согласно общепринятой номенклатуре IUPAC-IUB [8]. Расчет стабильных конформаций пептидов

Таблица 1. Аминокислотная последовательность антигипертензивных пептидов

№	Пептид	Аминокислотная последовательность	Обозначение
1	Овокинин (2-7)	Arg – Ala – Asp – His – Pro - Phe	RADHPF
2	Новокинин	Arg – Pro – Leu – Lys – Pro - Trp	RPLKPW

проводился с помощью программы [9]. Поиск минимумов потенциальной энергии осуществлялся методом сопряженных градиентов [9]. Оптимизация расчетных данных и построение молекулярных моделей на основе рассчитанных и оптимизированных величин двугранных углов конформаций молекул проводились с использованием комплекса сервисных программ HyperChem v. 8.0[10].

Как видно из таблицы 1 в аминокислотной последовательности гексапептидов имеются остатки пролина, которые, как известно [11], обладают конформационным своеобразием, благодаря циклическому строению в основной цепи. Остатки пролина ограничивают конформационные возможности предыдущего остатка, для которого реализуется только В форма основной цепи. Пептид овокинин (2-7) содержит один остаток пролина и поэтому для них стерически допустимо 16 структурных типа для пептидного остова. Новокинин же содержит два остатка пролина и поэтому для рассматриваемых конформеров стерически допустимы только 8 структурных типов.

Конформационное исследование гексапептида овокинина (2-7) проводилось в три этапа, в каждом из которых использовались результаты предшествующего этапа. В свою очередь, этапы делятся на ряд последовательно решаемых структурных задач. Сначала были определены оптимальные конформации три- и тетрапептидных фрагментов. Затем на основе низкоэнергетических конформаций фрагментов были рассчитаны стабильные конформации гексапептида в свободной карбоксилатной форме. В результате расчетов было показано, что в слабополярной среде пептид RADHPF предпочитительно формирует стабильную структуру, для которой характерна вытянутая с двумя загибами конформация пептидной цепи. В таблице 2 показаны энергетические вклады внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических структурах молекулы овокинина (2-7). Самая предпочтительная конформация этого пептида стабилизируется дисперсионными и эффективным электростатическим взаимодействием с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы боковой цепи аспарагиновой кислоты и гуанидиновой группы боковой цепи аргинина. Данное исследование позволило определить все стабильные конформационные состояния природного гексапептида и его аналогов, сопоставление которых дает возможность выделить структурные критерии, необходимые для создания новых антигипертензивных аналогов.

Конформационный анализ структурного аналога новокинина проводился по той же схеме расчета овокинина (2-7). В результате расчетов было показано, что в слабополярной среде пептид новокинин RPLKPW предпочитительно формирует стабильную структуру, для которой характерна вытянутая с двумя загибами конформация пептидной цепи. В таблице 3 приведены энергетические параметры внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических структурах молекулы овокинина. Предпочтительная конформация этого пептида стабилизируется эффективным электростатическим взаимодействием с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы С-терминальной части и гуанидиновой группы боковой цепи аргинина. Данное исследование позволило сопоставить все стабильные конформационные состояния

Таблица 2. Энергетические параметры внутримолекулярных взаимодействий в энергетически предпочтительных конформациях молекулы овокинина (2-7)

№	Конформация	$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{тор}$	$E_{общ}$	$E_{отн}$
1	BRBBRR	-31,8	-3,2	2,6	-32,4	0
2	BRBBBB	-30,0	-1,7	2,8	-28,9	3,5
3	BRRBBB	-28,7	-1,4	3,3	-26,7	5,7
4	RRRBRR	-25,5	-0,5	2,9	-23,1	9,3
5	BRRBRR	-24,6	-1,7	4,3	-22,0	10,4
6	RRBBRR	-24,4	-1,3	4,5	-21,1	11,3
7	RBRBBB	-23,2	-1,6	4,1	-20,6	11,8
8	BBBBRR	-25,7	-0,9	6,0	-20,6	11,8
9	RRBBBB	-23,3	-0,2	3,3	-20,2	12,2
10	RBRBRR	-22,6	-1,8	4,4	-20,1	12,3
11	RRRBBB	-22,6	-1,9	4,7	-19,7	12,7
12	BBBBBB	-24,6	-0,8	5,9	-19,5	12,9
13	BBRBRR	-18,4	-3,7	3,0	-19,1	13,3
14	RBBBRR	-21,4	0,5	2,4	-18,6	13,8
15	BBRBBB	-21,1	1,2	2,6	-17,3	15,1
16	RBBBBB	-20,2	1,4	2,8	-16,0	16,4

**Таблица 3.** Энергетические параметры внутримолекулярных взаимодействий в энергетически предпочтительных конформациях молекулы новокинина

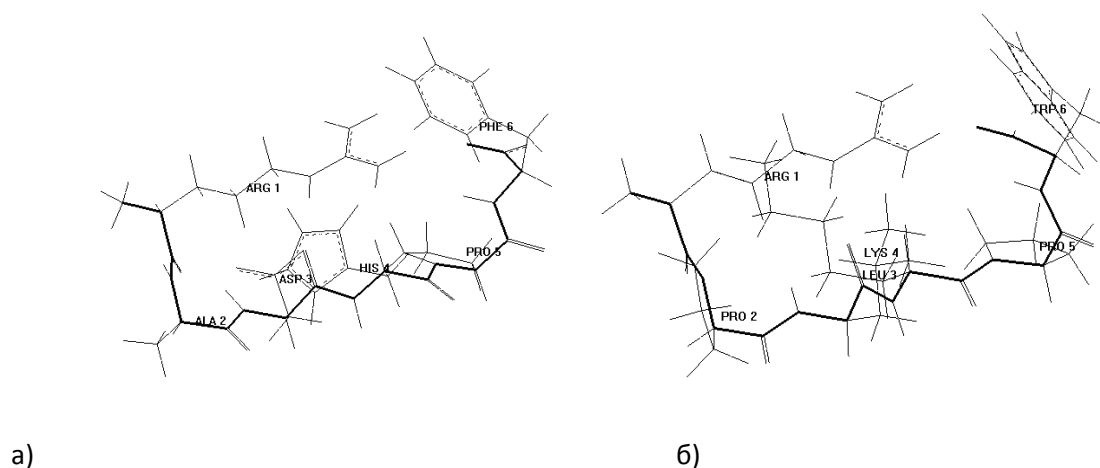
№	Конформация	$E_{нев}$	$E_{эл.}$	$E_{тор.}$	$E_{общ.}$	$E_{отн.}$
1	B RB B RR	-31,8	-3,0	2,6	-32,2	0
2	B RB B BB	-30,0	-1,5	2,8	-28,7	3,5
3	B RR B BB	-28,7	-1,2	3,3	-26,5	5,8
4	B RR B RR	-24,6	-1,7	4,3	-22,0	10,4
5	B BB B RR	-25,7	-0,9	6,0	-20,6	11,8
6	B BB B BB	-24,6	-0,8	5,9	-19,5	12,9
7	B BR B RR	-18,4	-3,7	3,0	-19,1	13,3
8	B BR B BB	-21,1	1,2	2,6	-17,3	15,1

природного гексапептида овокинина (2-7) и его аналога новокина. Из сопоставления таблиц 2 и 3 можно отметить, что обе молекулы в одной и той же среде практически реализуют одинаковый набор стабильных конформационных состояний.

В результате исследования были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях новокинина. На основе полученных параметров была составлена молекулярная модель энергетически предпочтительной конформации новокинина. На рисунке 1 приведены проекции молекулярных моделей энергетически предпочтительных конформаций овокинина (2-7) и новокинина.

Таким образом, результаты конформационного анализа антигипертензивных гексапептидов овокинина (2-7) и новокинина выявили для них одинаковую развернутую форму пептидного остова низкоэнергетических структур. Так, в слабополярной среде пептиды предпочтительно формируют похожие стабильные структуры, для которых характерна вытянутая с двумя загибами конформация пептидной цепи. Было показано, что предпочтительная конформация этих гексапептидов стабилизируется эффективным электростатическим взаимодействием с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы и гуанидиновой группы боковой цепи аргинина.

Итак, расчет показал, что данные гомологичные гексапептиды формируют практически идентичные пространственные конформации, различающиеся лишь ориентацией боковых цепей отдельных остатков. Полученные величины энергетических и геометрических параметров наиболее стабильных конформаций пептидов дают представление о предпочтительной пространственной структуре молекул. В результате расчетов были определены и сопоставлены величины энергетических вкладов внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях молекул. Предполагается, что среди рассчитанных низкоэнергетических структур находится биологически активная конформация антигипертензивных гексапептидов. В результате сравнительного исследования двух структурно гомологичных пептидов, овокинина (2-7) и новокинина, были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях молекул. На основе полученных параметров были составлены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций овокинина (2-7) и новокинина. Данное исследование позволило определить все стабильные конформационные состояния двух гексапептидных пептидов, сопоставление которых дает возможность выделить структурные критерии, возможно необходимые для создания лекарственных препаратов пригодных для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.



**Рисунок 1.** Молекулярные модели энергетически наиболее предпочтительных пространственных структур а) овокинина (2-7) и б) новокинина, соответственно. Жирной линией указан пептидный остов молекул

**Список литературы / References:**

1. Matoba N., Usui H., Fujita H., Yoshikawa M. A novel antihypertensive peptide derived from ovalbumin induces nitric oxidemediated vasorelaxation in an isolated SHR mesenteric artery. *FEBS Lett*, 1999, vol. 452, no. 3, pp. 181-184.
2. Matoba N., Kamada Y., Usui H., Nakagiri R., Yoshikawa M. Designing Potent derivatives of Ovokinin (2-7), an Antihypertensive Peptide Derived from Ovalbumin. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 2001, vol. 65, no. 3, pp. 736-739.
3. Yamada Y., Matoba N., Usui H., Onishi K., Yoshikawa M. Design of a Highly Potent Anti-hypertensive Peptide Based on Ovokinin (2-7). *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 2002, vol. 66, no. 6, pp. 1213-1217.
4. Yamada Y., Yamauchi D., Usui H., Zhao H., Yokoo M., Ohinata K., Iwai M., Horiuchi M., Yoshikawa M. Hypotensive activity of novokinin, a potent analogue of ovokinin (2-7), is mediated by angiotensin AT(2) receptor and prostaglandin IP receptor. *Peptides*, 2008, vol. 29, no. 3, pp. 412-418.
5. Yoshikawa M., Ohinata K., Yamada Y. The pharmacological effects of novokinin; a designed peptide agonist of the angiotensin AT2 receptor. *Curr Pharm Des.*, 2013, vol. 19, no. 17, pp. 3009-3012.
6. Yamada Y., Yamauchi D., Yokoo M., Ohinata K., Usui H., Yoshikawa M. A potent hypotensive peptide, novokinin, induces relaxation by AT2- and IP-receptor-dependent mechanism in the mesenteric artery from SHR. *Biosci. Biotechnol Biochem.*, 2008, vol. 72, no. 1, pp. 257-259.
7. Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М., Особенности пространственной организации молекул гемокинина-1 человека и гемокинина-1 мыши/крысы. *Биофизика*, 2015, т. 60, вып. 3, с. 457-470. [Agaeva G.A., Agaeva U.T., Godzhaev N.M., Features of spatial organization of human hemokinin-1 and mouse/rat hemokinin-1 molecules. *Biofizika*, 2015, vol. 60, iss. 3, pp. 457-470. (In Russ.)]
8. 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., Godzhaev N.M. Program for semi-empirical calculation of conformations of molecular complexes on a computer. *Journal of Structural Chemistry*, 1983, vol. 24, no. 4, pp. 147-148. (In Russ.)]
9. 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.
10. Chem 3D Pro, "Molecular Modeling and Analysis". *Cambridge Soft Corporation*, 2005, vol. 875, p. 02139.
11. Schimmel P.R., Flory P.J., Conformational energies and conformational statistics of copolypeptides containing L-proline. *J. Mol. Biol.*, 1968, vol. 34, pp. 105-111.

**COMPARISON OF CONFORMATIONAL PROPERTIES OF ANTIHYPERTENSIVE MOLECULES  
OVOKININ (2-7) AND NOVOKININ****Agaeva G.A., Agaeva U.T., Godjaev N.M.***Baku State University, Z.Khalilov str., 23, Baku, Azerbaijan, Az1148; e-mail: gulshen@mail.ru*

**Abstract.** The molecule ovokinin (2-7), aminoacid sequence which is derived by area 359-364 molecules ovalbumin, corresponds to the minimum sequence ovokinin, greatly lowering arterial pressure. In given work was organized comparative study of the spatial construction and conformational characteristic of the molecules ovokinin (2-7) and novokinin by method molecular mechanics method. The results of calculation have shown that in weak-polar environment these peptides preferably form the similar stable structures, for which typical extending structure with two turns of peptide chain. There was is shown that energy preferred conformation of these peptide is stabilized by efficient electrostatic interactions with forming the hydrogen bonds between atoms of guanidine groups of side chain of arginine and carboxilate groups of molecules. As a result of comparative study of two structured similar peptides, ovokinin (2-7) and novokinin, were determined the energy preferred areas of the values of dihedral angles and orientations of residues in low-energy conformations of molecules. On base of obtained geometric parameters were formed molecular models of energy preferred conformations of ovokinin (2-7) and novokinin.

**Key words:** antihypertensive peptide, ovokinin (2-7), novokinin, conformation, molecular mechanics method.