

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ ЦИТОХРОФИНА 4**Агаева Л.Н., Абдинова А.А., Ахмедова С.Р., Ахмедов Н.Ф., Ахмедов Н.А.**

Бакинский государственный университет

ул. З. Халилова, 23, г. Баку, AZ-1148, Азербайджан; e-mail: leylanamig@mail.ru

Азербайджанский государственный педагогический университет

г. Баку, Азербайджан

Азербайджанский технический университет

г. Баку, Азербайджан

Поступила в редакцию: 16.06.2021

Аннотация. Методом теоретического конформационного анализа исследованы конформационные возможности молекулы цитохрофина 4 (Tyr1-Pro2-Phe3-Thr4). Потенциальная функция системы выбрана в виде суммы невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найдены низкоэнергетические конформации молекулы, значения двугранных углов основных и боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в состав молекулы, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Показано, что пространственная структура молекулы цитохрофина 4, представляется конформациями четырех шейпов пептидного скелета. Полученные результаты могут быть использованы для выяснения структурной и структурно-функциональной организации молекул цитохрофинов.

Ключевые слова: экзорфин, цитохрофин, опиоид, структура, конформация.

Опиоидные пептиды в настоящее время считаются наиболее изученной группой сигнальных веществ пептидной природы. Опиум вызывает обезболивание, успокоение и засыпание, также эйфорическое состояние и ряд вегетативных реакций. Эти пептиды бывают животного и растительного происхождения. Ряд экзогенных пептидов, получаемых с пищей, обладают опиоподобными свойствами. Такие пептиды были названы экзорфинами. Открытие опиоидной активности пептидных компонентов пищи послужило основанием предположить, что некоторые виды пищи могут воздействовать на центральную нервную систему подобно опиатным препаратам. Обнаружен ряд молочных экзорфинов, имеющих свойства антагонистов опиоидных рецепторов. К ним относятся казоксины А, В, С, человеческий казоксин D, а также лактоферроксины А, В и С. Возможность образования этих пептидов при гидролизе соответствующих белков пептидазами желудочно-кишечного тракта доказана *in vitro*. Представителями экзорфинов являются также цитохрофины и геморфины. Предполагается, что эти пептиды могут образовываться *in vivo* при протеолитическом расщеплении цитохрома b и гемоглобина. Проведено исследование нейротропных эффектов опиоидных пептидов фрагментов глутена, рубиско и цитохрома b. Показано, что обладающие относительной δ -селективностью экзорфин С и рубисколин-5 характеризуются сходным по направленности действием на поведение детенышей белых крыс. Слабо влияя на состояние экспериментальных животных при острых инъекциях, после хронического введения в 1 и 14-й дни жизни они вызывали снижение тревожности и улучшение обучения в лабиринте с пищевым подкреплением. Последствия применения цитохрофина-4 были наиболее близки к действию β -казоморфина-5 короткого μ -селективного фрагмента β -казеина. Оба эти пептида оказывали анксиолитическое влияние при острых инъекциях; после хронического введения их эффекты быстро угасали по мере созревания мозга детенышей [1-3].

Нами были исследованы структурно-функциональные организации опиоидных пептидов энкефалинов, эндорфинов, эндоморфинов, динорфинов, неэндорфинов, адренорфина, а в настоящее время исследуется пространственная структура экзорфинов. Эта работа является продолжением наших предыдущих исследований [4-10].

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 монопольном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности молекулы рубисколина изучены в условиях водного окружения, в связи, с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе. В наших вышеупомянутых работах подробно описаны используемые потенциальные функции [4-6].

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

Таблица 1. Энергетическое распределение конформаций цитохрофина 4

Шейп	Интервал энергии, ккал/моль					
	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5>
e f e	3	2	3	1	3	30
e f f	3	6	1	3	3	28
e e f	-	-	3	6	9	24
e e e	-	-	5	7	5	26

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

Трехмерная структура молекулы цитохрофина 4 (Tyr1-Pro2-Phe3-Thr4) была исследована на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков.

В тетрапептидной молекулы цитохрофина 4 (Tyr1-Pro2-Phe3-Thr4) входит аминокислотный остаток пролин. Известно, что перед пролином R форма основной цепи является высокоэнергетической. Поэтому для данной молекулы цитохрофина 4 (Tyr1-Pro2-Phe3-Thr4) рассчитаны конформации четырех шейпов. Энергетическое распределение рассчитанных конформаций молекулы цитохрофина 4 показано в таблице 1. Результаты расчета показывают, что в энергетический интервал 0–2 ккал/моль попадают конформации двух шейпов e f e и e f f и они представлены соответственно пятью и девятью конформациями. Относительные энергии конформаций шейпов e e f и e e e больше, чем 2 ккал/моль. Таким образом, в энергетический интервал 0–3 ккал/моль попадают конформации всех четырех шейпов. Из каждой формы выбраны самые стабильные конформации, которые представлены в таблице 2. Здесь указаны энергетические вклады невалентных ($U_{нев.}$), электростатических ($U_{эл.}$), торсионных ($U_{торс.}$) взаимодействий и относительная ($U_{отн.}$) энергия оптимальных конформаций молекулы цитохрофина 4. Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий, геометрические параметры четырех

Таблица 2. Относительная энергия и энергетические вклады (ккал/моль) невалентных ($U_{нев.}$), электростатических ($U_{эл.}$), торсионных ($U_{торс.}$) взаимодействий предпочтительных конформаций молекулы цитохрофина 4

Шейп	Конформация	Энергетический вклад			$U_{отн.}$
		$U_{нев.}$	$U_{эл.}$	$U_{торс.}$	
e f e	$B_3 R B_1 B_3$	-12,8	-1,2	2,0	0
e f f	$B_1 R R_1 R_1$	-13,2	-2,0	3,6	0,4
e e e	$B_1 B B_2 B_1$	-11,6	0,1	1,7	2,1
e e f	$B_2 B R_2 R_1$	-12,9	0,5	2,4	2,1

Таблица 3. Энергия внутри-и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях молекулы цитохрофина 4: $B_3 R B_1 B_3$ ($U_{отн.}=0$ ккал/моль, 1-ая строка), $B_1 R R_1 R_1$ ($U_{отн.}=0,4$ ккал/моль, 2-я строка), $B_1 B B_2 B_1$ ($U_{отн.}=2,1$ ккал/моль, 3-я строка), $B_2 B R_2 R_1$ ($U_{отн.}=2,1$ ккал/моль, 4-я строка),

Tyr1	Pro2	Phe3	Thr4	
3,6	-4,3	-6,7	-3,3	Tyr1
2,6	-4,2	-2,8	-6,4	
2,1	4,7	-3,4	-2,0	
2,1	-5,6	-8,3	-2,2	
	0,2	-2,0	-0,3	Pro2
	0,3	-2,5	-1,6	
	0,3	-0,2	-0,5	
	0,5	-0,2	-1,0	
		0,9	-2,8	Phe3
		0	-2,0	
		0	-3,9	
		0,3	-3,0	
			0,7	Thr4
			1,2	
			0,9	
			1,1	

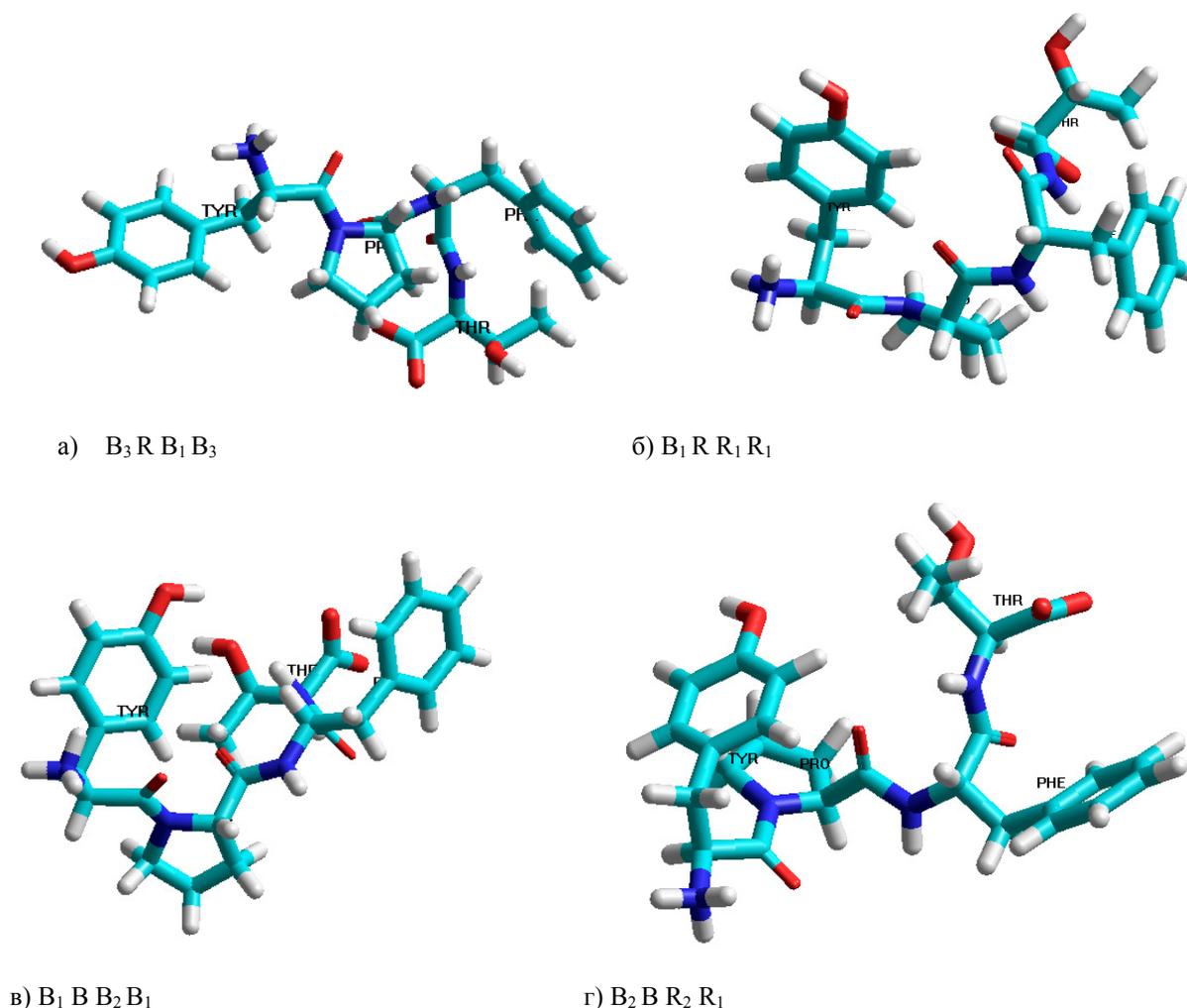


Рисунок 1. Пространственное расположение аминокислотных остатков в низкоэнергетических конформациях молекулы

конформаций, относительная энергия которых меньше 3.0 ккал/моль представлены в таблицах 3, 4. На рисунке 1 показано пространственное расположение аминокислотных остатков в этих низкоэнергетических конформациях молекулы.

Энергия невалентных взаимодействий в низкоэнергетических конформациях изменяется в энергетическом интервале (-13,2)–(-11,6) ккал/моль, электростатических взаимодействий (-2,0)–(0,5) ккал/моль, торсионных взаимодействий (1,7)–(3,6) ккал/моль (табл. 2). Шейп *efe* молекулы цитохрофина 4 представлен девятью низкоэнергетическими конформациями. Их относительная энергия изменяется в энергетическом интервале 0–4.0 ккал/моль (табл. 1). Глобальной конформацией молекулы цитохрофина 4 является конформация $B_3 R B_1 B_3$ шейпа *efe* (рис. 1). Конформация является выгодной по невалентным и электростатическим взаимодействиям (табл. 2, рис. 1). В этой конформации возникают эффективные ди-, три и тетрапептидные взаимодействия, Tyr1 эффективно взаимодействует с трипептидным фрагментом Pro2-Phe3-Thr4, вклад которых составляют (-14,3) ккал/моль, также Pro2 с Phe3 и Phe3 с Thr4. Общий вклад межостаточных взаимодействий составляет (-19,4) ккал/моль (табл. 3).

Конформация $B_1 R R_1 R_1$ шейпа *eff* с относительной энергией 0,4 ккал/моль сразу выгодна по невалентным взаимодействиям и электростатическим взаимодействиям и их вклад наибольшей, чем в других конформациях (табл. 2). В этой конформации также возникают эффективные ди-, три и тетрапептидные взаимодействия, Tyr1 эффективно взаимодействует с трипептидным фрагментом Pro2-Phe3-Thr4, вклад которых составляют (-13,4) ккал/моль, также Pro2 с Phe3 и Thr4 и Phe3 с Thr4. Общий вклад межостаточных взаимодействий составляет (-19,5) ккал/моль (табл. 3).

Конформация $B_1 B B_2 B_1$ шейпа *eee* имеет относительную энергию 2.1 ккал/моль. В этой конформации вклад Tyr1 с трипептидным фрагментом Pro2-Phe3-Thr4 составляет (-10.1) ккал/моль. Как видно этот вклад меньше, чем в предыдущих конформациях. Взаимодействия между остатком Pro2 с другими аминокислотными остатками не возникают. Только Phe3 эффективно взаимодействует с остатком Thr4. Общий вклад межостаточных взаимодействий составляет (-14,0) ккал/моль (таблица3). Конформация $B_2 B R_2 R_1$ шейпа *eee* имеет также относительную энергию 2,1 ккал/моль. Межостаточных взаимодействий в этой конформации приблизительно такие же как в предыдущей конформации.

Таблица 4. Геометрические параметры (град.) оптимальных конформаций молекулы цитохрофина 4

Остаток	Конформации											
	B ₃ R B ₁ B ₃			B ₁ R R ₁ R ₁			B ₁ B B ₂ B ₁			B ₂ B R ₂ R ₁		
Tyr1	-91	155	170	-88	-148	178	-79	150	178	-70	121	171
	-72	107	0	58	82	0	67	90	0	169	78	0
Pro2	-60	-38	178	-60	-63	172	-60	110	-173	-60	103	-178
Phe3	-94	165	179	-150	-45	165	-106	142	176	-98	-52	179
	60	82		53	90		174	87		-174	93	
Thr4	-102	135	-	-89	-59	-	-119	143	-	-82	-48	-
	-57	178	174	44	179	178	59	-179	176	58	-176	175
ΔU	0 ккал/моль			0,4 ккал/моль			2,1 ккал/моль			2,1 ккал/моль		

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

Таким образом, пространственную структуру молекулы цитохрофина 4 можно представить четырьмя структурными типами и можно предположить, что молекула свои физиологические функции осуществляет именно в этих структурах. На основе полученных трехмерных структур, можно предположить для данной молекулы ее синтетические аналоги. Теоретический конформационный анализ тетрапептидной молекулы цитохрофина 4 привел к такой структурной организации молекулы, которая не исключает реализацию молекулой целого ряда функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

Список литературы / References:

1. Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Каменский А.А. Опиоидные пептиды, получаемые с пищей и их влияние на нервную систему. *Успехи физиологических наук*, 2015, т. 46, № 1, с. 22-46. [Chesnokova E.A., Sarycheva N.Y., Dubynin V.A., Kamensky A.A. Food-Derived Opioid Peptides and Their Neurological Impact. *Advances in Physiological Sciences*, 2015, vol. 46, no. 1, pp. 22-46. (In Russ.)]
2. Соколов О.Ю., Кост Н. В., Андреева О.О., Корнеева Е.В., Мешавкин В.К., Тараканова Ю.Н., Золотарев Ю.А., Грачев С.А., Михеева И.Г., Зозуля А.А. Возможная роль казоморфинов в патогенезе аутизма. *Психиатрия*, 2010, т. 45, № 3, с. 29-35. [Sokolov O.Yu., Kost N.V., Andreeva O.O., Korneeva E.V., Meshavkin V.K., Tarakanova Yu.N., Zolotarev Yu.A., Grachev S.A., Mikheeva I.G., Zozulya A.A. The possible role of casomorphin in pathogenesis of autism. *Psixiatriya*, 2010, vol. 46, no. 3, pp. 29-35. (In Russ.)]
3. Lew R.A., Mustafa T., Ye S. et al. *Angiotensin AT4 ligands are potent, competitive inhibitors of insulin regulated aminopeptidase (IRAP)*. *J. of Neurochemistry*, 2003, vol. 86, no. 2, pp. 344-350.
4. Ахмедов Н.А. Теоретический конформационный анализ молекул β -казоморфина, валмуцептина и морфицептина. *Молекулярная Биология*, 1989, т. 23, с. 240-248. [Akhmedov N.A. Theoretical conformation analysis of β -casomorphin, valmuceptin and morphiceptin molecules. *Molecular Biol.*, 1989, vol. 23, pp. 240-240. (In Russ.)]
5. Ахмедов Н.А., Годжаев Н.М., Сулейманова Е.В., Попов Е.М. Структурная организация молекул [Met] энкефалина и эндорфинов. *Биоорганическая химия*, 1990, т. 16, с. 649-667. [Akhmedov N.A., Godjaev N.M., Suleymanova E.V., Popov E.M. Structural organization of the [Met] enkephalin and endorphins molecules. *Bioorganic chemistry*, 1990, vol. 16, pp. 649-667. (In Russ.)]
6. Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Ismailova L.I., Godjaev N.M. The spatial structure of the cardio active peptides. *Current Topics in Peptide and Protein Research*, 2010, vol. 11, pp. 87-93.
7. 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.)]
8. Akhmedov N.A., Ismailova L.I., Abbasli R.M. et al. Spatial Structure of Octarphin molecule. *IOSR J. Applied Physics (IOSR-JAP)*, 2016, vol. 8, pp. 66-70.
9. Hasanov E.M., Akhmedov N.A. Spatial Structure of Peptide BAM-20P. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 2018, iss. no. 4-2456-2165, vol. 3, pp. 72-76.
10. Akhmedov N.A., Abbasli R.M., Agayeva L.N., Ismailova L.I. Three-dimensional structure of exorpin B5 molecule. *Conference proceedings Modern Trends In Physics*, 2019, pp. 201-104.
11. IUPAC-IUB. Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry, Blackwell Scientific, Oxford 1993.

SPATIAL STRUCTURE OF CYTOCHROPHIN-4 MOLECULE

Agayeva L.N., Abdinova A.A., Akhmedova S.R., Akhmedov N.F., Akhmedov N.A.

Baku State University

Z. Khalilov st.23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan; e-mail: leylanamig@mail.ru

Azerbaijan State Pedagogical University

Baku, Azerbaijan

Azerbaijan Technical University

Baku, Azerbaijan

Abstract. By the method of the theoretic conformational analysis the conformational capabilities of the cytochromphin-4 molecule (Tyr1-Pro2-Phe3-Thr4) were studied. The potential function of the system is chosen as the sum of non-valent, electrostatic and torsion interactions and the energy of hydrogen bonds. Low-energy conformations of the cytochromphin-4 molecule, the values of the dihedral angles of the main and side chains of amino acid residues that make up the molecules are founded; the energy of intra- and inter-residual interactions is estimated. It is shown that the spatial structure of the cytochromphin-4 molecule can be represented by the conformations of four shapes of the peptide backbone. The results obtained can be used to elucidate the structural and structural-functional organization of cytochromphin-4 molecules.

Key words: *exorphin, cytochromphin-4, opioid, structure, conformation.*