

ТРЕХМЕРНАЯ СТРУКТУРА ПЕНТАПЕПТИДНОЙ МОЛЕКУЛЫ ARG-GLU-ARG-GLY-PRO

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

Бакинский государственный университет, Институт физических проблем
ул. З. Халилова, 23, г. Баку, AZ-1148, Азербайджан; e-mail: lara.ismailova.52@mail.ru
Поступила в редакцию 22.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0485

Аннотация. Актуальным представляется проведение структурно-функциональных исследований глипролинов и их синтетических аналогов на модельных системах с помощью теоретических методов исследования. Глипролины – семейство коротких пептидов, аминокислотные последовательности которых содержат остатки глицина и пролина. Механизмы их действия мало изучены. Большой интерес к их структуре вызван необходимостью создания новых лекарственных препаратов, которые являются собственным резервом человеческого организма. Такие пептидные молекулы отличаются высокой стабильностью и эффективностью. С помощью метода молекулярной механики было определено пространственное строение и конформационные свойства глипролиновой пентапептидной молекулы Arg- Glu-Arg-Gly-Pro. Потенциальная энергия молекулы оценивалась как сумма невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найдены 9 низкоэнергетических конформаций для этого 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 Arg и Glu 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: молекула, пространственная структура, пентапептид, конформация

Основным звеном механизма осуществления всех функций живого организма являются регуляторные пептиды. Они не имеют негативных последствий, высоко эффективны и быстро действуют. Регуляторные пептиды относятся к группе нейромодуляторов. Выяснение структурно-функциональных свойств этих пептидов имеет большое прикладное значение в фармакологии и медицине. Чтобы определить природу регуляторных пептидов и выполняемые ими функции, необходимо изучить пространственное строение и структурно-функциональную организацию этих молекул. Используя регуляторные пептиды, которые являются собственным резервом человеческого организма, можно создавать новые и эффективные лекарственные препараты.

Глипролины относятся к регуляторным пептидам. Аминокислотные последовательности этих молекул содержат остатки глицина (Gly) и пролина (Pro). Глипролины модулируют работу иммунной и нервной систем, влияют на систему свертывания крови и обладают противовоспалительным действием [1-3]. В настоящее время механизмы действия глипролинов и их мишени мало изучены. Актуальным представляется проведение структурно-функциональных исследований глипролинов и их синтетических аналогов на модельных системах с помощью теоретических методов исследования.

Недавно была установлено противосвертывающее действие 12 коротких пептидов глипролинового ряда [4-6]. Целью данной работы является определение пространственного строения пентапептидной глипролиновой молекулы Arg-Glu-Arg-Gly-Pro. Для нахождения трехмерной структуры пептидов использовался теоретический подход, позволяющий проводить ее расчет исходя из известной аминокислотной последовательности. Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учетом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. 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.

Пентапептидная молекула Arg-Glu-Arg-Gly-Pro принадлежит к классу глипролиновых молекул, обладающих противосвертывающим действием [4]. Расчет пространственной структуры этой молекулы проводился фрагментарно: сначала на основе стабильных конформаций монопептидов была найдена структурная организация трипептидной молекулы Arg-Glu-Arg и дипептида Gly-Pro. Найденные низкоэнергетические конформации трипептида и дипептида позволили оценить пространственную структуру всей пентапептидной молекулы Arg-Glu-Arg-Gly-Pro.

В расчетах использовалась разработанная специальная классификация (конформация, форма основной цепи, шейп). Формы остатков определялись областями В, R, L и P двугранных углов основной цепи ϕ - ψ . При расчете рассматривались развернутые формы дипептидной молекулы (BB, BR, LB, LR, RL шейп e) и свернутые формы основной цепи (RB, RR, BL, PR, PB- шейп f). Для глицина начальные приближения формировались из низкоэнергетических конформаций: (R форма – ϕ ; $\psi = -90^\circ$; B форма – $\phi = -90^\circ$; $\psi = 100^\circ$; L форма – ϕ , $\psi = 90^\circ$ и P форма основной цепи – $\phi = 90^\circ$; $\psi = -90^\circ$). Для аминокислоты пролин учитывались два положения (B форма – $\phi = -60^\circ$, $\psi = 130^\circ$ и R форма – $\phi = -60^\circ$, $\psi = -50^\circ$), а для Arg и Glu так же B и R формы основной цепи. Положения

боковой цепи аминокислоты Arg определялись четырьмя двугранными углами χ^1 , χ^2 , χ^3 и χ^4 , а положения боковой цепи Glu определялись тремя двугранными углами χ^1 , χ^2 и χ^3 , так как эти аминокислоты имеют длинные, лабильные и заряженные боковые радикалы.

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учётом невалентных ($E_{\text{нв}}$), электростатических ($E_{\text{эл}}$), торсионных взаимодействий ($E_{\text{тор}}$) и энергии водородных связей ($E_{\text{вс}}$). Невалентные взаимодействия были оценены по потенциалу Леннарда-Джонса. Электростатические взаимодействия рассчитывались в монополярном приближении по закону Кулона с использованием парциальных зарядов на атомах. Конформационные возможности каждой молекулы изучены в условиях водного окружения, в связи с чем величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе.

Конформационное состояние каждого аминокислотного остатка обозначалось через X_{ij} , где X характеризует форму основной цепи остатка (R, B, L или P), а символы $ij = 11, \dots, 12, \dots, 13, \dots, 21, \dots$, и т.д. отвечают положениям боковой цепи (χ^1, χ^2, \dots); индекс 1 соответствует значениям углов 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 [7]. Для нахождения пространственного строения данных пептидных молекул использовалась специально разработанная программа [8]. 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. Данная работа является продолжением исследований пространственного строения пептидных молекул [9-14].

Определение пространственной структуры пентапептида мы начали с выяснения конформационных возможностей трипептида Arg-Glu-Arg. Боковые цепи этих аминокислот являются объемными, лабильными и заряженными (Arg имеет положительно заряженную боковую цепь, а Glu- отрицательную). Трипептидная молекула Arg-Glu-Arg представляет собой N-концевой участок пентапептидной молекулы. Ее расчет выполнялся на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L-аргинина и N-ацетил-L-глутаминовой кислоты. Трипептид включал в себя 69 томов и 21 переменный двугранный угол основной и боковых цепей. Было составлено свыше 1500 начальных приближений, которые принадлежали 4 шейпам ee, ef, fe и ff. Расчет обнаружил наличие резкой энергетической дифференциации конформаций, форм основной цепи и шейпов. В энергетический интервал $0 - 4$ ккал/моль попадают 26 конформаций, а в интервал $0 - 3$ ккал/моль попадают 16 конформаций шейпов ef, fe и ff. Низкоэнергетическими из них являются конформации BRB, BRR, RBB, RRB и RRR. В низкую энергию конформаций вносят основной вклад ди- и трипептидные взаимодействия. Расчет выявил, что для трипептидной молекулы самыми низкоэнергетическими являются конформации BRB и RRB с полусвернутой формой основной цепи. В глобальной конформации трипептидной молекулы $B_{21222}R_{221}B_{33222}$ ход основной цепи приводит к сближенности участков основной цепи и боковых цепей аминокислотных остатков.

Расчет дипептидной молекулы выполнялся на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L-глицина и L-пролина. Для аминокислоты пролин учитывались R и B формы основной цепи. Остаток глицина в расчетах имел четыре формы основной цепи R, B, L и P. Так же для глицина в расчет были включены граничные начальные приближения углов ϕ , ψ . Для дипептида Gly-Pro, содержащего 27 атомов и 6 переменных двугранных углов, возможны 2 шейпа и 8 форм основной цепи. Развернутый шейп e включает четыре формы BB, BR, LB и LR, а свернутый шейп f включает формы основной цепи RB, RR, PR и PB.

Учитывая специфику боковых цепей аминокислотных остатков глицина и пролина, важно подчеркнуть, что остаток Gly лишен боковой цепи (в боковой цепи находится один атом водорода), а боковая цепь остатка Pro представляет жестко фиксированное кольцо. Конформационные возможности дипептидной молекулы определяются углами только основной цепи этих остатков: ϕ , ψ , ω . Расчет показал, что основной вклад в энергию молекулы вносят дипептидные взаимодействия, их энергия варьируется от $(-1,0)$ до $(-3,0)$ ккал/моль. Формы основной цепи шейпа e имеют одинаковый развернутый ход основной цепи, при этом боковые цепи Gly и Pro находятся по разные стороны от основной цепи, а формы шейпа f имеют одинаковый свернутый ход основной цепи, где боковые цепи аминокислот оказываются сближенными. Низкой энергией для дипептидной молекулы обладают конформации PR, RR, RB, которые имеют свернутую форму основной цепи.

Найденные низкоэнергетические конформации трипептидной и дипептидной молекул послужили основой для начальных приближений при изучении структуры всей пентапептидной молекулы Arg-Glu-Arg-Gly-Pro. Молекула содержала 90 атомов и 26 переменных двугранных углов основной и боковых цепей аминокислот, входящих в эту молекулу. Специфика боковых цепей всех аминокислот пентапептидной молекулы определила количество начальных приближений. Было составлено свыше 250 начальных приближений. Все они были проминимизированы по энергии, оценены их геометрические и энергетические параметры. Низкоэнергетические конформации молекулы Arg-Glu-Arg-Gly-Pro представлены в таблице 1. Геометрические параметры (в градусах) трех низкоэнергетических конформаций пентапептида Arg-Glu-Arg-Gly-Pro представлены в таблице 2.

Самой низкоэнергетической конформацией оказалась форма основной цепи BRBLR (шейп effe), которая имеет полусвернутый ход основной цепи. В глобальной конформации $B_{3222}R_{221}B_{3322}LR$ (effe) ($\Delta E_{\text{отн}}=0$ ккал/моль) энергия невалентных взаимодействий составляет $(-18,2)$ ккал/моль, электростатических $(-5,6)$ ккал/моль и торсионных $2,4$ 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 Arg-Glu-Arg-Gly-Pro.

№	Конформация (шейп)	Е _{нв}	Е _{эл}	Е _{торс}	Е _{общ}	Е _{отн}
Молекула Arg-Glu-Arg-Gly-Pro						
1	B ₃₂₂₂ R ₂₂₁ B ₃₃₂₂ LR(effe)	-18,2	-5,6	2,4	-21,5	0,0
2	B ₂₁₂₂ R ₂₂₁ B ₃₃₂₂ LB(effe)	-18,2	-5,6	2,5	-21,4	0,1
3	B ₃₂₂₂ R ₂₂₁ B ₃₃₂₂ LR(effe)	-16,7	-5,4	2,0	-20,2	1,3
4	B ₂₂₂₂ R ₂₂₁ R ₃₂₂₂ PB(efef)	-15,9	-4,2	2,0	-18,1	3,4
5	B ₃₃₂₂ R ₂₂₁ B ₃₃₂₂ PB(efff)	-12,2	-4,4	2,3	-14,3	7,2
6	B ₂₃₂₂ R ₂₂₁ R ₃₃₂₂ LR(efee)	-14,1	-5,2	3,3	-16,1	5,4
7	R ₃₂₂₂ B ₂₂₁ R ₃₂₂₂ BR(fefē)	-18,1	-4,7	4,6	-18,2	3,3
8	R ₁₂₂₂ B ₃₂₁ R ₃₂₂₂ RR(feef)	-14,8	-2,9	2,8	-15,0	6,5
9	R ₂₂₂₂ R ₂₂₁ R ₃₃₂₂ PR(ffef)	-14,3	-3,7	1,9	-16,1	5,4

Таблица 2. Геометрические параметры (град.) низкоэнергетических конформаций пентапептидной молекулы Arg-Glu-Arg-Gly-Pro.

	Углы	B ₃₂₂₂ R ₂₂₁ B ₃₃₂₂ LR	B ₂₂₂₂ R ₂₂₁ R ₃₂₂₂ PB	R ₂₂₂₂ R ₂₂₁ R ₃₃₂₂ PR
Arg 1	φ ₁	-120	-120	-101
	χ ¹ ₁	180	175	178
	χ ¹ ₂	63	176	-172
	χ ¹ ₃	174	174	171
	χ ¹ ₄	-179	176	-175
	ψ ₁	200	120	-63
	ω ₁	-173	173	-172
Glu 2	φ ₂	-95	-91	-103
	χ ² ₁	-179	-179	-157
	χ ² ₂	180	-175	174
	χ ² ₃	91	94	97
	ψ ₂	-49	-56	-54
	ω ₂	-172	-177	-178
Arg 3	φ ₃	-111	-116	-98
	χ ³ ₁	-53	-48	-49
	χ ³ ₂	-63	-178	-56
	χ ³ ₃	179	-172	-177
	χ ³ ₄	180	180	180
	ψ ₃	93	-57	-51
	ω ₃	177	-176	-178
Gly4	φ ₄	88	117	137
	ψ ₄	89	-97	-70
	ω ₄	179	176	175
Pro5	φ ₅	-60	-60	-60
	ψ ₅	-55	134	-52
	ω ₅	180	179	180
Энергия Е _{отн} (ккал/моль)		0,0	3,4	5,4

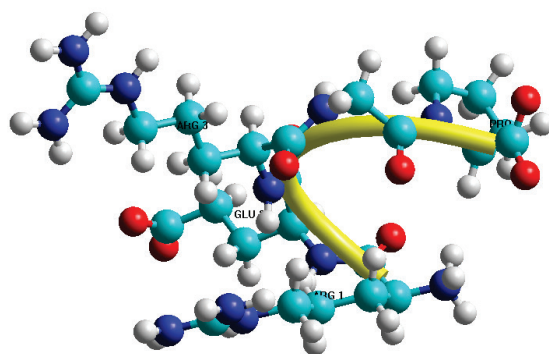


Рисунок 1. Низкоэнергетическая пространственная структура B₂₂₂R₂₂₁B₃₃₂₂LR пентапептида Arg-Glu-Arg-Gly-Pro

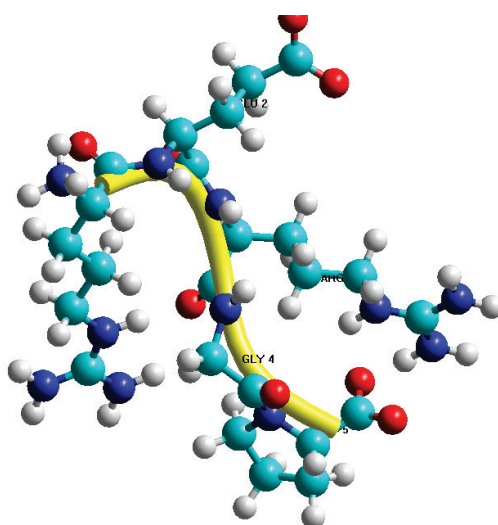


Рисунок 2. Низкоэнергетическая пространственная структура B₂₂₂₂R₂₂₁R₃₃₂₂PB пентапептида Arg-Glu-Arg-Gly-Pro

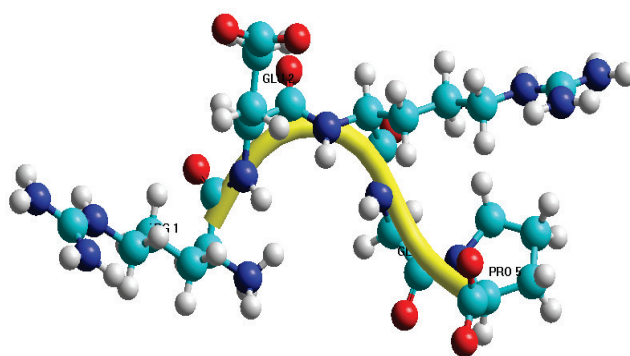


Рисунок 3. Низкоэнергетическая пространственная структура R₂₂₂₂R₂₂₁R₃₃₂₂PR пентапептида Arg-Glu-Arg-Gly-Pro

Всего 3,4 ккал/моль проигрывает другая конформация с полусвернутой формой основной цепи B₂₂₂₂R₂₂₁R₃₃₂₂PB (efef) и 3,3 ккал/моль R₃₃₂₂B₂₂₁R₃₃₂₂BR (feff). Конформация R₁₂₂B₃₂₁R₃₂₂₂RR (feff) со свернутой формой основной цепи проигрывает глобальной конформации 6,5 ккал/моль. Формы с полностью развернутой основной цепью уступают по энергии от 5 до 9 ккал/моль. Таким образом, расчет обнаружил резкую энергетическую дифференциацию конформаций по шейкам и формам основной цепи. В энергетический интервал 0-5 ккал/моль попадают 26 конформаций, принадлежащих 8 возможным шейкам. Расположение аминокислот в трех низкоэнергетических конформациях B₃₂₂₂R₂₂₁B₃₃₂₂LR, B₂₂₂₂R₂₂₁R₃₃₂₂PB и R₂₂₂₂R₂₂₁R₃₃₂₂PR пентапептида представлено на рисунках 1-3.

Таким образом, пространственную структуру молекулы Arg-Glu-Arg-Gly-Pro можно представить девятью низкоэнергетическими конформациями, в которых пентапептидная молекула выполняет свои функции.

Теоретический конформационный анализ пентапептида привел к таким структурным организациям молекулы, которые не исключают реализацию ими функций, требующих специфических взаимодействий с различными рецепторами.

Список литературы / References:

1. Falaliyeva 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.
2. 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 glysin and prolin containing peptides, which are neuroprotectors. *Bioorg. chim.*, 2009, vol. 35, no. 2, pp. 165-171. (In Russ.)]
3. Umarova B.A., Kopylova G.N., Smirnova E.L. et al. Secretory Activity of Mast Cell during Stress: Effect of Prolyl-Glycyl-Proline and Simax. *Bullet. of Exper. Biology and Medicine*, 2003, vol. 136, no. 4, pp. 325-327.
4. Рогозинская Э.Я., Ляпина Л.А., Шубина Т.А., Мясоедов Н.Ф., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Андреева Л.А. Тромбоэластографическое исследование аргининсодержащих, лейцинсодержащих и лизинсодержащих пептидов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2020, т. 169, с. 716-719. [Rogozinskaya E.Ya., Lyapina L.A., Shubina T.A., Myasoedov N.F. et al. Trombotlastografic research of arginin-containing, leusine-containing and lysine-containing peptides. *Bullet. of Exper. Biology and Medicine*, 2020, vol. 169, pp. 716-719. (In Russ.)]
5. Жуйкова С.Е. Глипролины – регуляторные пептиды с интегративным действием. *Интегративная физиология*, 2020, т. 1, № 6, с. 303-316. [Juykova S.E. Glyprolines – regulatory peptides with integrative action. *Integrative physiology*, 2020, vol. 1, no. 6, pp. 303-316. (In Russ.)].
6. Grigoryeva M., Shubina T., Obergan T., Lyapina L. Hema Sphere Peptides PGP and RERPGP increase NO metabolites and tissue plasminogen activator activity in vitro in rat model. *Biofarmaceutical Journal*, 2020, vol. 12, pp. 38-42.
7. *IUPAC-IUB, Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988, vol. 39.
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., Godjaye 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. (In Russ.)]
9. Akhmedov N.A., Gadjieva Sh.N., Abbasli R.M. Structural organization of Asp-Pro- Lys-Gln-Asp-Phe-Met-Arg-Phe-NH₂ molecule. *Current Topics in Peptide Protein Research*, 2009, vol. 10, pp. 57-62.
10. Akhmedov N.A., Ismailova L.I., Agayeva L.N., Godjaev N.M. The spatial structure of the cardio active peptides. *Current Topics in Peptide Protein Research*, 2010, vol. 11, pp. 87-93.
11. Akhmedov N.A., Ismailova L.I., Abbasli R.M., Agayeva L.N., Akhmedova S.R. Spatial structure of Octarphin Molecule. *IOSR Journal of Applied Physics*, 2016, vol. 8, pp. 66-70.
12. Akhmedov N.A., Agayeva L.N., Akhmedova S.R., Abbasli R.M., Ismailova L.I. Spatial structure of the β -Casomorphin-7 Molecule. *Journal of Applied Physics (IOSR-JAP)*, 2021, vol. 13, pp. 62-67.
13. Ismailova L.I., Abbasli R.M., Akhmedov N. Computer Modeling of the Spatial Structure of Nonapeptide Molecule. *COIA*, 2020, vol. 1, pp. 218-221.
14. Исмаилова Л.И., Аббаслы Р.М., Ахмедов Н.А. Структурная организация молекулы Gly-Pro-Arg-Pro. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 1, с. 53-56. [Ismailova L.I., Abbasli R.M., Akhmedov N. *Russian Journal biological physics and chemistry*, 2021, vol. 6, no. 1, pp. 53-56. (In Russ.)]

THREEDIMENSIONAL STRUCTURE OF THE PENTAPEPTIDE MOLECULE ARG-GLU-ARG-GLY-PRO

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

Received 22.06.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0485

Abstract. It seems relevant to carry out structural and functional studies of glyprolines and their synthetic analogues on model systems using theoretical research methods. Glyprolines are a family of short peptides whose amino acid sequences contain residues of proline and glycine. Currently their mechanisms of action are poorly understood. Great interest in their structure is caused by the possibility of creating new drugs that are the human body's own reserve. Glyproline molecules are stable and eddicient. Using the method of molecular mechanics, the spatial structure and conformational properties of the glyproline pentapeptide molecule Arg-Glu-Arg-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. 9 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 Arg and Glu 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: *molecule, spatial structure, pentapeptide, conformation.*