

# КОНФОРМАЦИОННАЯ ДИНАМИКА МОЛЕКУЛЫ ФИЗАЛАЕМИНА

Г. А. Агаева, Н. Н. Керimli

*Институт Физических Проблем, Бакинский Государственный Университет*

e-mail: gulshen@mail.ru

Молекула физалаемин содержит 11 остатков с аминокислотной последовательностью: pGlu1-Ala2-Asp3-Pro4-Asn5-Lys6-Phe7-Tyr8-Gly9-Leu10-Met11NH<sub>2</sub> [1,2] и по многим функциональным признакам и гомологичной первичной структуре относится к группе тахикининовых пептидов, характеризующихся одинаковой С-концевой последовательностью Phe-Хаа-Gly-Leu-Met NH<sub>2</sub>. Эта пептидная молекула, впервые выделенная из амфибий, обладает широким спектром физиологических функций: способствует снижению артериального давления, стимулирует выделение слюны и сокращение гладких мышц. Известно, что физалаемин взаимодействует с одним подтипом тахикининовых рецепторов- NK1. В последнее время интенсивно изучаются различные структурные аналоги физалаемин в качестве агонистов и антагонистов рецепторов NK1. Особый интерес к поиску его эффективных аналогов связан с обнаружением олигопептида физалаемин в одной из форм легочной карциномы человека. Ведется поиск новых химических производных этой молекулы, которые бы обладали свойствами воздействовать на раковые клетки легочной карциномы. Однако все эти структурные аналоги синтезируются без учета результатов детального конформационного анализа молекулы вещества Р. Для детального исследования механизма воздействия на раковые клетки подвижной пептидной молекулы необходимо знание его пространственного строения и конформационной подвижности основной цепи и боковых радикалов, требуемых для комплементарного взаимодействия этих лигандов с рецепторами реагирующей клетки. Методами <sup>1</sup>H-ЯМР и ИК-спектроскопии в работе [3] была изучена пространственная структура физалаемин. Авторы отмечают, что физалаемин в растворе имеет стабильную конформацию. Предполагается наличие эффективного взаимодействия боковых цепей остатков Asp3 и Lys6, а также образование сильной водородной связи между NH-группой Phe7 и пептидной СО-группой Pro4. Однако спектральные методы не в состоянии дать полного детального описания всех стабильных конформаций подвижного олигопептида, величины двугранных углов, иерархии стабильности конформеров, энергетические вклады отдельных взаимодействий и т.д. Все эти задачи разрешаются при использовании теоретических расчетных методов конформационного моделирования.

В данной работе проведено исследование конформационной динамики основной цепи и боковых радикалов физалаемин и сопоставление полученных результатов с ранее экспериментально исследованными его конформациями. Исследование конформационной динамики основной цепи и боковых радикалов молекулы физалаемин проводилось методом молекулярной механики с использованием стандартной геометрии. При конформационном расчете пептида учитывали невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионные потенциалы. Невалентные взаимодействия оценивали по потенциалу Леннарда-Джонса с параметрами Скотта и Шераги. Электростатическую энергию рассчитывали в монополярном приближении по закону Кулона с использованием зарядов, предложенных Момани и др. Параметризация потенциальных функций была аппроксимирована к условиям полярной среды: величина диэлектрической проницаемости принята равной 10, а водородные связи, оцениваемые по потенциалу Морзе, предполагались ослабленными. Торсионные потенциалы и величины барьеров взяты такими же как в работе [4]. Отсчет двугранных углов проводился согласно общепринятой номенклатуре. В расчетах были использованы программа и техника расчета, примененные в работе [4]. В качестве начальных приближений при расчете конформаций отдельных молекул послужили известные значения двугранных углов, соответствующих низкоэнергетическим состояниям монопептидов.

Конформационное исследование физалаемин проводилось поэтапно на основе ряда последовательно решаемых структурных задач. Сначала были исследованы конформации С-концевого пентапептида молекулы, а затем на основе низкоэнергетических конформаций этого пентапептида и перекрывающихся фрагментов

pGlu<sup>1</sup>-Asn<sup>5</sup> и Asn<sup>5</sup>-Tyr<sup>8</sup> были последовательно рассмотрены конформационные возможности С-концевого гептапептида Asn<sup>5</sup>-Met<sup>11</sup>NH<sub>2</sub> и ,наконец, всей молекулы ундекапептида pGlu<sup>1</sup>-Met<sup>11</sup>NH<sub>2</sub>.

Основные результаты расчета структурных вариантов ундекапептида физаламина в условиях полярной среды представляют собой три семейства конформаций с величинами относительной энергии в интервале 0-10 ккал/моль. Каждое семейство конформаций ундекапептида формирует одну из стабильных конформаций С-концевого гептапептида. Внутри каждого семейства конформации различаются структурным типом N-концевого тетрапептидного фрагмента, который продолжен относительно жестким участком последовательности Asn<sup>5</sup>-Met<sup>11</sup>NH<sub>2</sub>. Данный конформационно жесткий участок реализуется в трех пространственных формах пептидной цепи. Как оказалось молекула физаламина формирует одну глобальную, т.е. самую низкоэнергетическую структуру со значением E<sub>отн</sub>=0 ккал/моль, которая образует один β-изгиб на N-конце и α-спиральный сегмент на С-конце. Следует отметить, что две другие стабильные конформации имеют величины относительной энергии E<sub>отн</sub>=4.3 ккал/моль и E<sub>отн</sub>=7.1 ккал/моль соответственно. В глобальной конформации физаламина реализуется самое эффективное межостаточное взаимодействие между разноименно заряженными боковыми цепями остатков остатков Asp<sup>3</sup> и Lys<sup>6</sup>, энергетический вклад которого составляет -8,6 ккал/моль. Следует отметить, что именно это взаимодействие предсказывалось спектральными методами. Как показал расчет в стабильных конформациях в N-концевой части молекулы формируется β-изгиб, о чем свидетельствует величина расстояния между атомами C<sup>α</sup> остатков pGlu<sup>1</sup> и Pro<sup>4</sup>, которая составляет 6,8Å. Расчет показал, что в α-спиральном сегменте глобальной конформации образуется система регулярных внутримолекулярных водородных связей, характерных для правой α-спирали: NH(Lys<sup>6</sup>)...CO(Asp<sup>3</sup>), NH(Phe<sup>7</sup>)...CO(Pro<sup>4</sup>), NH(Gly<sup>9</sup>)...CO(Asn<sup>5</sup>), NH(Leu<sup>10</sup>)...CO(Lys<sup>6</sup>) и NH(Met<sup>11</sup>)...CO(Phe<sup>7</sup>). Конформационные карты, построенные вокруг двугранных углов φ-ψ каждого остатка, выявили конформационно консервативные и подвижные участки молекулы. Как видим, в результате расчетов были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях физаламина. Для остатков с функционально важными боковыми радикалами были построены конформационные карты вокруг двугранных углов (χ) боковых цепей в поле энергетически предпочтительных конформаций молекулы физаламина. Было показано, что наиболее конформационно подвижными оказались боковые радикалы остатков Asn<sup>5</sup> и Tyr<sup>8</sup>, относительно менее подвижны радикалы остатков Lys<sup>6</sup>, Phe<sup>7</sup>, Leu<sup>10</sup> и Met<sup>11</sup>. Полученные в результате расчетных методов конформационные особенности физаламина по многим геометрическим и энергетическим параметрам находятся в удовлетворительном согласии с результатами спектральных методов.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] G. Bertaccini, G. De Caro, Br. J. Pharmacol. **25**, 380 (1965).
- [2] C. Gao, K. Abe, Exper. Oral Biology **6**, 180 (2000).
- [3] J.L. Bernier, J. P. Henichart, N. Helbecque, Eur. J. Biochem **142**, 371 (1984).
- [4] G.A. Agaeva, Journal of Qafqaz University **19**, 30 (2007).