

**КОНФОРМАЦИОННАЯ ДИНАМИКА БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ
МОЛЕКУЛЫ СРЕКА****Г.Д.АББАСОВА, И.Н.АЛИЕВА, Н.М.ГОДЖАЕВ**
Бакинский Государственный Университет

Методом теоретического конформационного анализа изучена конформационная подвижность боковых цепей аминокислотных остатков нового противоопухолевого лекарственного препарата-молекулы СРЕКА. На основе количественной оценки пределов изменения двугранных углов установлено, что наиболее подвижными в низкоэнергетическом конформационном состоянии молекулы СРЕКА являются боковые цепи остатков цистеина, глутаминовой кислоты и аланина.

ВВЕДЕНИЕ

Сегодня в мире зарегистрировано более тридцати тысяч различных лекарственных препаратов. Механизм их действия исследуется как на системном, органном (например, на уровне сердечно-сосудистой системы или сердца, печени, почках и т.д.), так и клеточном и молекулярном уровнях. Большинство лекарств стимулирует, угнетает или полностью блокирует биохимические или физиологические реакции организма. Для поиска лекарственных препаратов, обладающих ярко выраженным селективным эффектом действия, синтезируются новые вещества, ведется поиск их модифицированных аналогов. К числу таких лекарственных препаратов, интенсивно используемых в последние годы в терапии опухолевых клеток, относится соединение, синтезированное в 2006 году американскими учеными из Технологического Университета штата Массачусетс [1]. Этот препарат, состоящий из пяти аминокислотных остатков Cys1-Arg2-Glu3-Lys4-Ala5 получил название СРЕКА в соответствии с однобуквенным наименованием аминокислотных остатков, образующих его химическую структуру [2-7]. Ранее нами была исследована пространственная структура молекулы СРЕКА и установлены низкоэнергетические конформационные состояния его пептидной цепи [8]. В данной работе с целью изучения конформационной подвижности боковых цепей аминокислотных остатков, входящих в химическую структуру молекулы СРЕКА, установлены допустимые пределы изменений двугранных углов боковых цепей аминокислотных остатков молекулы и выявлена их роль в функциональной активности исследуемого соединения.

МЕТОД РАСЧЕТА

Исследования проводились методом теоретического конформационного анализа в приближении механической модели атома по методике, подробно

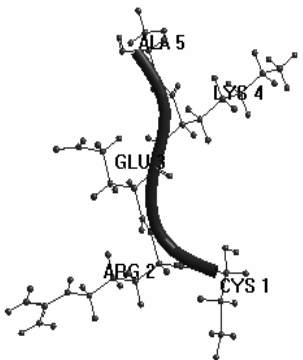
описанной в [9-12]. Там же приведены параметры используемых в работе потенциальных функций, описывающих различные виды атом-атомных взаимодействий—электростатических, невалентных (включая водородные связи, образующиеся с участием подвижного атома водорода функциональных групп –ОН, –NH и SH и гетероатома кислорода) и торсионных потенциалов [9,10].

Стерически допустимые изменения двугранных углов вращения вокруг связей N-C^α(φ) в основной цепи и связей C^α-C^β(χ₁), C^β-C^γ(χ₂), C^γ-C^δ(χ₃) и т. д. в боковых цепях аминокислотных остатков Cys, Arg, Glu, Lys и Ala были определены из конформационных карт, построенных в низкоэнергетических состояниях молекулы по вычислительной программе, разработанной сотрудниками Института Проблем Физики Бакинского Государственного Университета [13]. Углы φ и χ₁, соответствующие локальным минимумам потенциальной поверхности монопептида, варьировались в энергетическом поле всей молекулы, основная цепь которой фиксировалась в соответствии с координатами атомов в одной из 12 низкоэнергетических конформаций, рассчитанных в [8]. Результаты вычислительного эксперимента были обобщены с помощью прикладных компьютерных программ Power Point и Excell для Windows-97.

Таблица 1

Значения двугранных углов в глобальной конформации молекулы CREKA по данным [8].

Оста-ток	Двугранные углы (град)
	φ, ψ, ω, χ ₁ , χ ₂ , χ ₃ , χ ₄
Cys1	-73,-55,180,176
Arg2	-104,-59,178, 177, 185,176,181
Glu3	-99,137,185, -54, -69,166
Lys4	-117,-61,184, -61,179,179,179
Ala5	-88,-52,178, 180



РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рисунки 1-8 иллюстрируют степень подвижности двугранного угла φ в пептидном остове и углов χ в боковых цепях аминокислотных остатков молекулы CREKA. Конформация остова молекулы соответствует одной из низкоэнергетических состояний молекулы, рассчитанной нами ранее (табл.1, [8]). Сечения

потенциальной поверхности молекулы были построены для углов φ - χ_1 , χ_1 - χ_2 и χ_2 - χ_3 , варьируемых в пределах от -180° до 180° с шагом 30° . Для низкоэнергетических областей с $E - E_{\text{мин}} \leq 5$ ккал/моль углы варьировались с шагом 5° .

Анализ конформационной карты φ - χ_1 , построенной для остатка Cys1 показал, что основная цепь цистеина может принимать конформации, незначительно различающиеся по стабильности при изменениях угла φ на $\pm 20^\circ$ (рис.1). Низкоэнергетические изменения угла φ в интервале -30° ÷ -90° очерчены энергетическим контуром 1,1 ккал/моль, в то время как варьирование угла φ в пределах -30° ÷ -150° может привести к изменению энергии молекулы на 2,1 ккал/моль. Положительные значения угла φ энергетически невыгодны, они уступают низкоэнергетическим состояниям с отрицательным значением угла φ на 6,3÷8,8 ккал/моль. В отличие от угла φ вращение вокруг связей C^α - C^β (χ_1) в боковой цепи Cys1 может происходить практически свободно в широком интервале от -180° до $+180^\circ$. Для χ_1 наиболее выгодны значения, равные -60 и 180° .

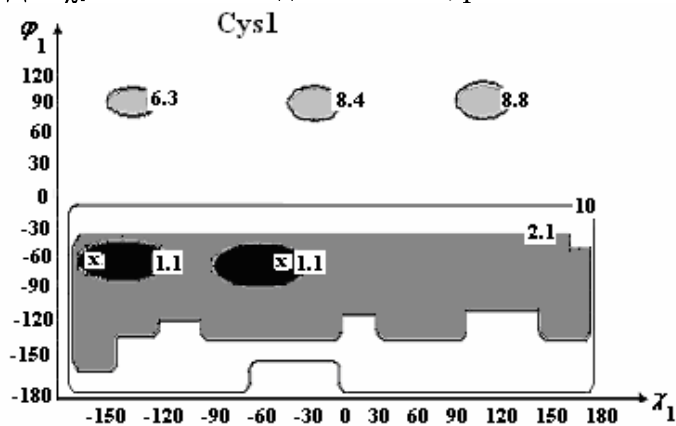
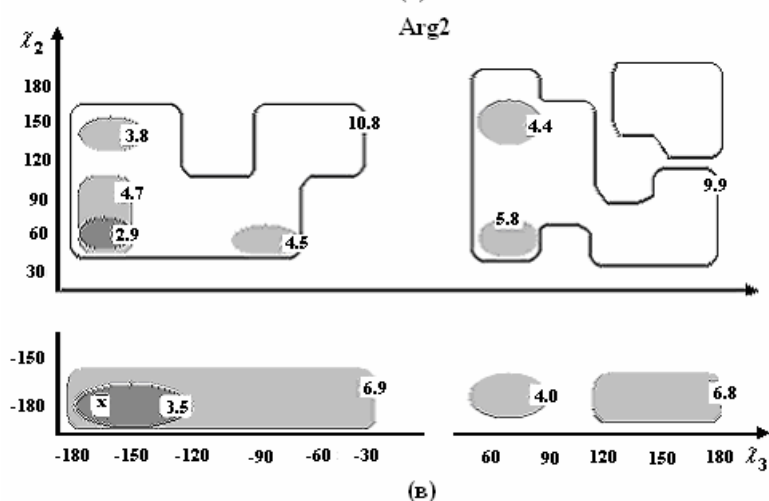
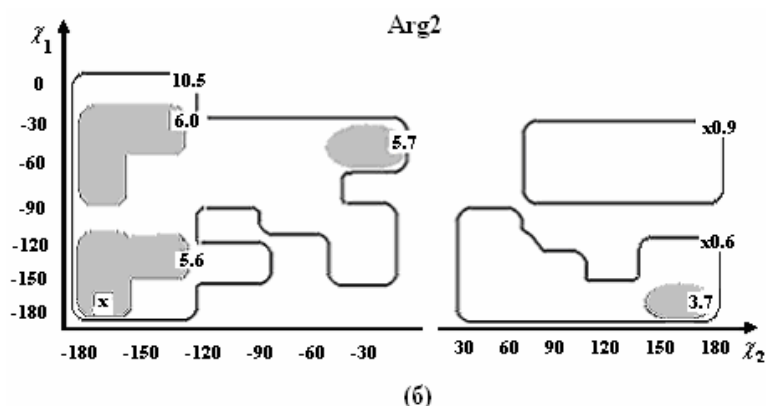
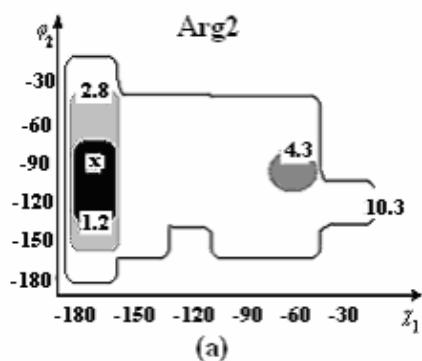


Рис.1. Сечения потенциальной поверхности по углам $\varphi_1 - \chi_1$ остатка Cys1 в глобальной конформации молекулы CREKA (здесь и далее на рисунках приведена относительная шкала энергии в ккал/моль).

Остаток Arg2 с целочисленным положительным зарядом обладает объемной боковой цепью и играет существенную роль в формировании пространственной структуры молекулы CREKA. Ранее нами было установлено, что он является наиболее конформационно устойчивым в структуре молекулы CREKA и во всех низкоэнергетических конформациях его основная цепь находится в R-области конформационного пространства, а боковая цепь участвует в образовании водородной связи с COO-группой боковой цепи глутаминовой кислоты ($N^{\delta}H(\text{Arg}2) \dots \text{COO}(\text{Glu}3)$). Несмотря на небольшую величину энергии такой связи ($-0,18$ ккал/моль), она способствует дополнительной стабилизации конформации молекулы. Стабильные положения боковой цепи Arg2 найдены из конформационных карт χ_1 - χ_2 , χ_2 - χ_3 и $\chi_3 - \chi_4$, построенных при фиксированном значении угла φ , соответствующего табл.1.

Анализ конформационных карт и их обобщение наглядно демонстрируют ограниченность вращательной способности углов χ в боковой цепи Arg2. Как

следует из рис.2 (а-г) допустимые значения углов χ_1 и χ_2 аргинина попадают в сравнительно небольшие области с минимумами при $\chi_1 = 180$; $\chi_2 = -60, 180^0$. Причем положение с $\chi_2 = -60^0$ на 5,7 ккал/моль энергетически менее выгодно по сравнению с $\chi_2 = 180^0$. Об этом наглядно свидетельствуют также карты на рис.2 (в) и рис.2 (г), из которых видно, что для боковой цепи аргинина в глобальной конформации молекулы энергетически предпочтительны вытянутые конформационные состояния.



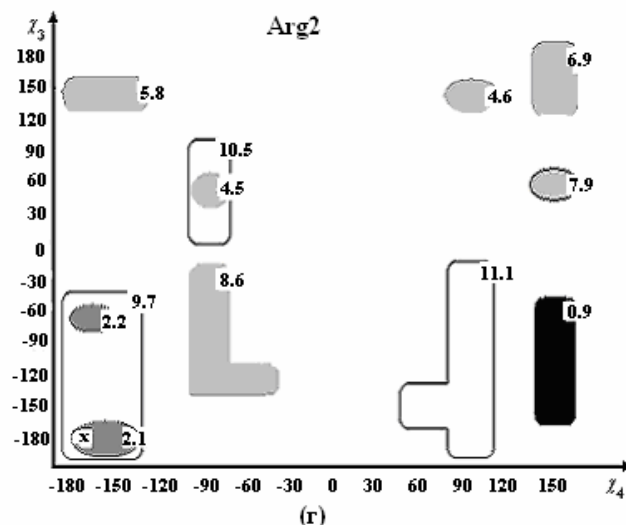
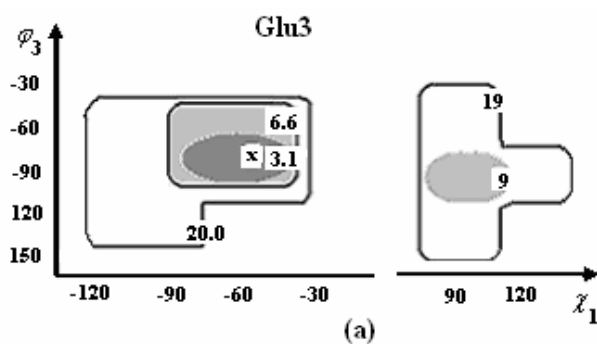


Рис. 2. Сечения потенциальной поверхности по углам $\varphi_2 - \chi_1$ (а), $\chi_1 - \chi_2$ (б), $\chi_2 - \chi_3$ (в) и $\chi_3 - \chi_4$ (г) остатка Arg2 в глобальной конформации молекулы CREKA.

Таким образом, можно заключить, что не только основная цепь, но и боковая цепь аргинина конформационно устойчивы в глобальной конформации молекулы CREKA.

На рис.3 (а-в) приведены низкоэнергетические области для углов φ , χ_1 , χ_2 и χ_3 остатка глутаминовой кислоты (Glu3). Установлено, что в глобальной конформации молекулы CREKA допустимы лишь отрицательные значения угла φ , причем изменение его более чем на 20° сопровождается резким увеличением конформационной энергии молекулы на 20 ккал/моль. Для углов χ_1 и χ_2 также энергетически предпочтительны отрицательные значения рис.3(б), их минимальные значения соответствуют -60° . Из рис.3(в) следует, что при отрицательных значениях углов χ_1 и χ_2 вращение по углу χ_3 может происходить практически без затрат энергии в широком интервале значений от -180 до 180° .



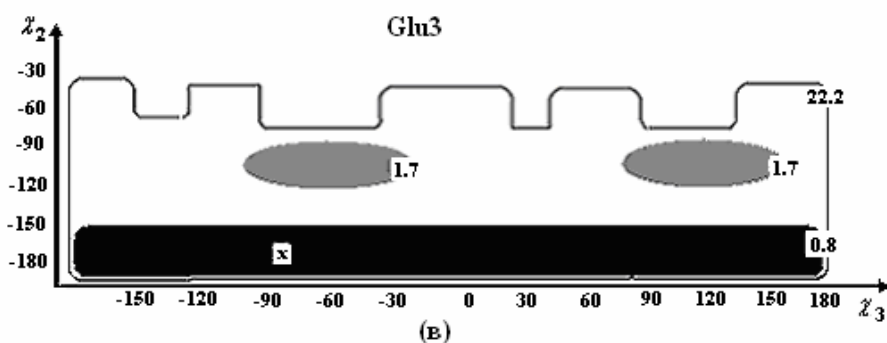
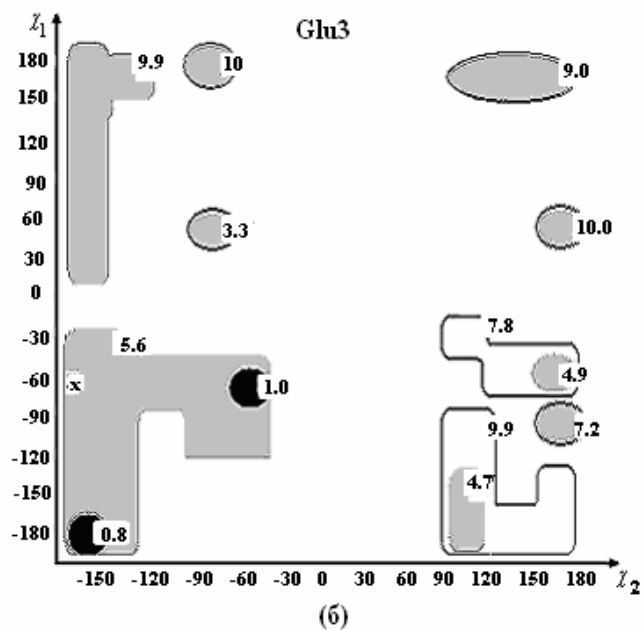
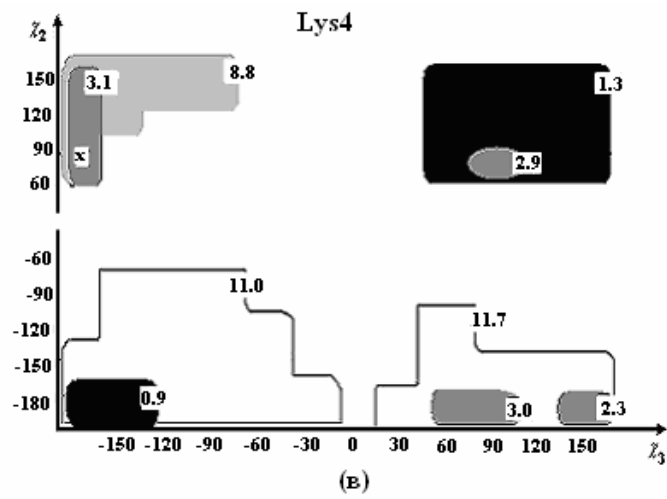
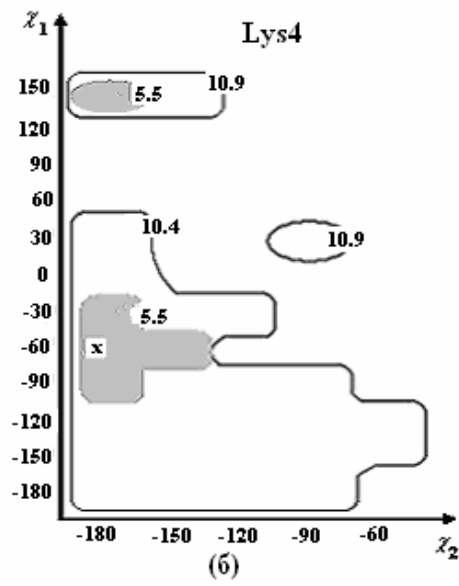
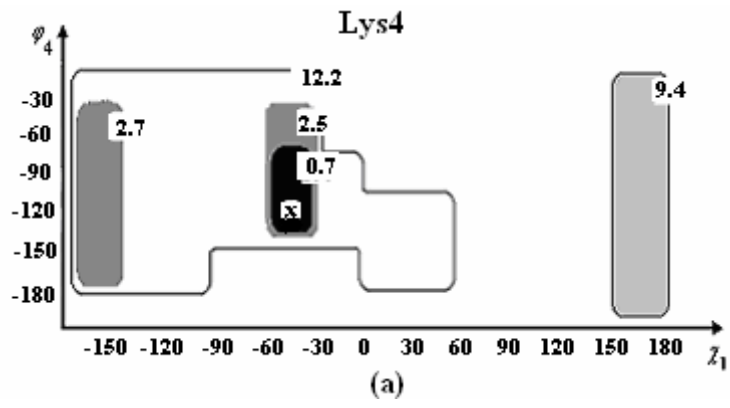


Рис.3. Сечения потенциальной поверхности по углам $\varphi_3 - \chi_1$ (а), $\chi_1 - \chi_2$ (б) и $\chi_2 - \chi_3$ (в) остатка Glu3 в глобальной конформации молекулы CREKA.

Анализ конформационной подвижности следующего остатка Lys4 показал, что изменение угла φ в пределах от -90° до -150° может происходить без существенных затрат энергии (рис.4,а), а отклонение угла χ_1 в пределах $\pm 20^\circ$ от его оптимального значения (табл.1) ограничено энергетическим контуром 2,5-9,4 ккал/моль.

Как следует из рис.5 допустимые значения угла φ в Ala5 попадают в энергетический интервал от -60 до 120° (максимальное отклонение от оптимального значения составляет 30°) при $\chi_1 = \pm 60^\circ$ и 180° , т.е. угол χ_1 может с равной вероятностью находиться во всех трех допустимых минимумах торсионного потенциала вращения вокруг связи C-C, а переходы между ними требуют затрат энергии около 10,7 ккал/моль.



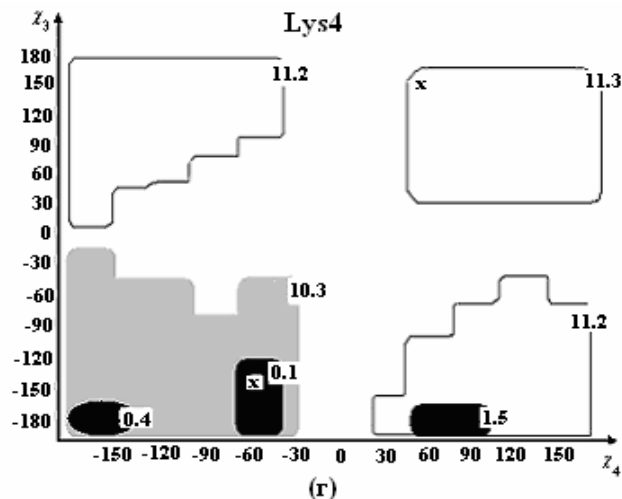


Рис.4. Сечения потенциальной поверхности по углам $\varphi_4 - \chi_1$ (а) и $\chi_1 - \chi_2$ (б), $\chi_2 - \chi_3$ (в) и $\chi_3 - \chi_4$ (г) остатка Lys4 в глобальной конформации молекулы CREKA.

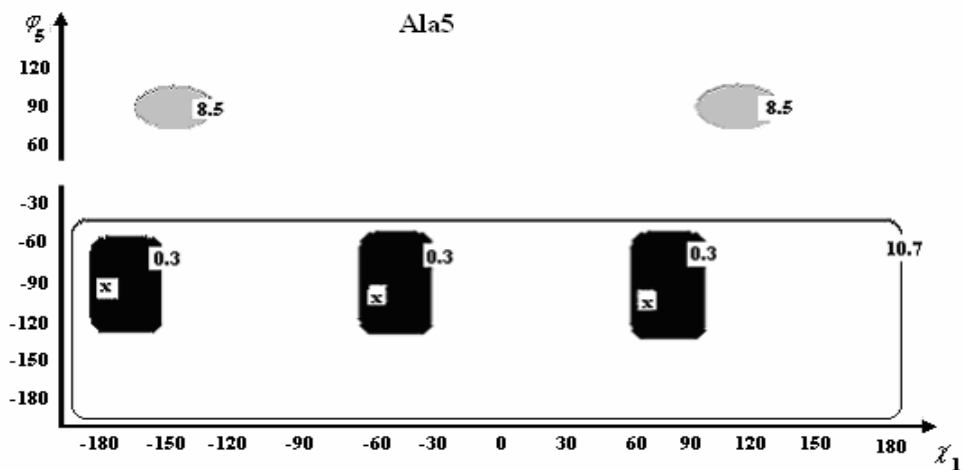


Рис.5. Сечения потенциальной поверхности по углам $\varphi_5 - \chi_1$ остатка Ala5 в глобальной конформации молекулы CREKA.

Обобщение результатов исследований позволяет сделать вывод, что наиболее подвижными в пространственной структуре молекулы CREKA являются боковые цепи остатков Cys1, Glu3 и Ala5.

ЛИТЕРАТУРА

1. Farokhzad O.C., Cheng J.J., Teply B.A., Sherifi I., Jon S., Kantoff P.W., Ritchie J.P., Langer R. Targeted nanoparticles–aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy *in vivo* // *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 2006, v.103, p. 6315-6320.
2. Fleischmann A., Laderach U., Friess H., Buechler M.W., Reubi J.C. Bombensin receptors in distinct tissue compartments of human pancreatic diseases // *Laboratory Investigation*,

- 2000, v.80, p.1807-1817.
3. Montet X., Weissleder R., Josephson L. Imaging pancreatic cancer with a peptid-nanoparticle conjugate targeted to normal pancreas // *Bioconjugate Chemistry*, 2006, v.17, p.905-911.
 4. Couvreur P., Vauthier C. Nanotechnology: intelligent design to treat complex disease // *Pharmaceutical Research*, 2006, v.23 (7), p.1417-1450.
 5. Sunderland C.J., Steiert M., Talmadge J.E., Derfus A.M., Barry S.E. Targeted nanoparticles for detecting and treating cancer // *Drug Development Research*, 2006, v.7, p.70-93.
 6. Yih T.C., Al-Fandi M. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems // *Journal of Cellular Biochemistry*, 2006, v.97, p.1184-1190.
 7. Simberg D., Duza T., Park J.H., Essler M., Pilch J., Zhang L., Derfus A.M., Yang M., Hoffman R.M., Bhatia S., Sailor M.J., Ruoslahti E. Biomimetic amplification of nanoparticle homing to tumors // *PNAS*, 2007, v.104, no.3, p.932-936.
 8. Годжаев Н.М., Аббасова Г.Д., Алиева И.Н. Исследование пространственного строения нового противоопухолевого лекарственного препарата-молекулы CREKA. // *Journal Qafqaz University*, 2007.
 9. Popov E.M. Quantitative approach to conformations of proteins // *Int.J.Quantum Chem.*, 1979, v.16, p.707-737/
 10. Попов Е.М. Структурная организация белков. М., Наука, 1989, 352с.
 11. Momany F.A., McGuire R.F., Burgess A.W., Scheraga H.A. Energy parameters in polypeptides: Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interaction for naturally occurring amino acid. // *Phys. Chem.*, 1975, v.79, p.2361-2381.
 12. Alieva I.N., Velieva L.I., Musayev M.A., Gojayev N.M. Conformational features of the allatostatin III neuropeptide from the cockroach *Diploptera Punctata* // *Journal of Protein and Peptide Letters (PPL)*, Bentham Science Publishers Ltd., 2006, v.13, No.10, p.1007-1015.
 13. Максумов И.С., Исмаилова Л. И., Годжаев Н. М. Программа полуэмпирического расчёта конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ. // *Журнал структурной химии*, 1983, т.24, №4, с.147-148.

CREKA MOLEKULUNUN YAN ZƏNCİRLƏRİNİN KONFORMASIYA DİNAMİKASI

G.C.ABBASOVA, İ.N.ƏLİYEVA, N.M.ƏOCAYEV

XÜLASƏ

Nəzəri konformasiya üsulu ilə xərçəng xəstəliyinin təpəriyasında istifadə olunan yeni dərman preparatının-CREKA molekulunun kimyəvi quruluşuna daxil olan amin turşularının yan zəncirlərinin konformasiya mütəhərriqliyi öyrənilmişdir. Göstərilmişdir ki, sistein, qlumatın turşusu və alanin amin turşuların yan zəncirləri yüksək mütəhərriqliyə malikdir.

CONFORMATIONAL DYNAMICS OF THE SIDE CHAINS OF CREKA MOLECULE

G.D.ABBASOVA, I.N.ALIEVA, N.M.GODJAEV

SUMMARY

The conformational flexibility of the amino acids side chains of the CREKA molecule, the new anti-tumors drug has been studied by the method of theoretical conformational analysis. Their role at the formation of the molecule spatial structure was revealed. It was established that cysteine, glutamine acid and alanine amino acids side chains are most mobile in the CREKA molecule spatial organization.