

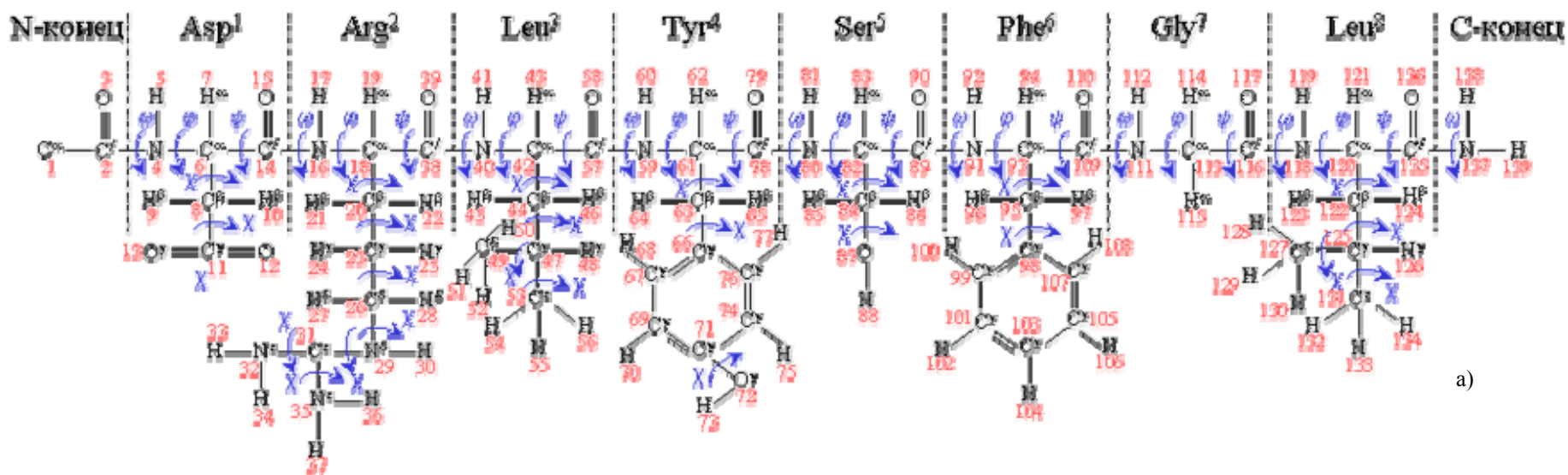
**ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА  
НЕЙРОПЕПТИДА АЛЛАТОСТАТИНА-4**

**М.А.МУСАЕВ, Л.И.ВЕЛИЕВА, И.Н.АЛИЕВА, Н.М.ГОДЖАЕВ**  
*Бакинский Государственный Университет*

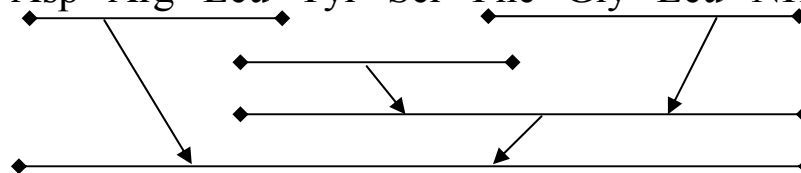
*Методом теоретического конформационного анализа установлена пространственная структура нейропептида аллатостатина-4, принадлежащего семейству аллатостатинов. На основе расчёта величины внутримолекулярной конформационной энергии проведена количественная оценка стабильности возможных конформационных состояний молекулы в условиях полярной среды.*

**ВВЕДЕНИЕ**

Аллатостатины образуют семейство биологически активных нейропептидов, которые играют ключевую роль в регуляции процессов синтеза и выделения ювенильных гормонов у различных видов насекомых [1-4]. Важную роль в реализации функций аллатостатинов играют их конформационные свойства и трехмерная пространственная организация, изучение которых необходимо для понимания механизмов функционирования нейропептидов на молекулярном уровне. В данной работе методом молекулярной механики на основе поэтапного подхода, описанного в работах [5,6], проведено исследование структуры и конформационной динамики молекулы аллатостатина-4. Первичная структура молекулы, предложенная в работе [4], является линейной последовательностью восьми аминокислотных остатков  $\text{H-Asp}^1\text{-Arg}^2\text{-Leu}^3\text{-Tyr}^4\text{-Ser}^5\text{-Phe}^6\text{-Gly}^7\text{-Leu}^8\text{-NH}_2$  и включает в себя остатки с ароматическими кольцами в положениях 4 и 6 пептидной цепи. Молекула содержит также два остатка с заряженными функциональными группами на концах своих боковых цепей. Это отрицательно заряженная карбоксильная группа у остатка аспарагиновой кислоты ( $\text{Asp}^1$ ) и положительно заряженная гуанидиновая группа у аргинина ( $\text{Arg}^2$ ). Наличие объемной боковой цепи с разветвлением при  $\text{C}^\gamma$ -атоме в остатках лейцина ( $\text{Leu}^3$ ,  $\text{Leu}^8$ ) может оказать существенное влияние на взаимосвязь конформационных состояний основной и боковых цепей молекулы аллатостатина-4.



a)



b)

Рис 1. Молекулярная модель, переменные двугранные углы (а) и схема расчета (б) стабильных конформаций молекулы аллатостатина-4.

## МЕТОД РАСЧЕТА

На рис.1 приведена молекулярная модель и схема поэтапного расчета отдельных фрагментов молекулы аллатостатина-4. Моделирование структуры молекулы проводилось методом теоретического конформационного анализа с учётом полярного окружения атомов на основе пакета прикладных компьютерных программ [7]. Они основаны на количественных расчетах полной конформационной энергии исследуемого фрагмента и поисках её локальных минимумов методом сопряженных градиентов. Конформационная энергия ( $E_{\text{конф}}$ ) представляется в виде аддитивной суммы вкладов от невалентных ( $E_{\text{нев}}$ ), электростатических ( $E_{\text{эл}}$ ) взаимодействий атомов, торсионной энергии вращения вокруг валентных связей ( $E_{\text{торс}}$ ) и энергии образования водородных связей ( $E_{\text{в.с.}}$ ). Используемые в работе полуэмпирические потенциальные функции и их параметризация взяты из работы [8]. Полярное окружение атомов в вычислительном эксперименте моделировалось с помощью величины  $\epsilon=10$  и параметра  $D$ , описывающего глубину водородной связи, равную  $-1,5$  ккал/моль в потенциале Морзе [5,6]. В работе использована также стандартная система идентификаторов, описывающая конформационные состояния как отдельных аминокислотных остатков (формы остатка-В, R, P и L), так и фрагментов различной длины. Форма аминокислотного остатка (т.е. форма его основной цепи) характеризует принадлежность углов  $\phi$  и  $\psi$  пептидной цепи той и иной области конформационного пространства: R ( $\phi, \psi = -180 \div 0^\circ$ ); B ( $\phi = -180 \div 0^\circ, \psi = 0 \div 180^\circ$ ); L ( $\phi, \psi = 0 \div 180^\circ$ ) и P ( $\phi = 0 \div 180^\circ, \psi = -180 \div 0^\circ$ ).

Сочетание форм аминокислотных остатков в полипептидной цепи образует форму самой цепи. Способ укладки двух смежных остатков пептидной цепи в пространстве независимых координат X, Y, Z определяется шейпами двух типов: *e* и *f*. Они описывают развернутый и свёрнутый типы структуры полипептидной цепи, соответственно. Структурные типы различаются углом  $\theta = \psi_i + \phi_{i+1}$ , значения которого при всех возможных формах остатков близко к нулю в шейпе *e* или равно  $180^\circ$  в шейпе *f*. Конформационные состояния боковой цепи аминокислотных остатков обозначаются символами  $\chi_i$ , где  $i=1,2$  или 3 для значений угла  $\chi$  в интервале  $0 \div 120^\circ$ ;  $-120 \div 120^\circ$  и  $-120 \div 0^\circ$ , соответственно. Отсчет двугранных углов вращения проводился согласно стандартной номенклатуре [9].

## РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Пространственная структура молекулы изучена на основе стабильных конформаций метиламидов N-ацетил- $\alpha$ -аминокислот с учетом различных ориентаций их боковых цепей. Поэтапный расчет пространственной структуры аллатостатина-4 включал изучение конформационных состояний последовательно наращиваемых фрагментов согласно схеме, приведенной на рис.1,б. При расчете трипептидного фрагмента Asp<sup>1</sup>-Arg<sup>2</sup>-Leu<sup>3</sup> для аспарагиновой кислоты учитывались R и B формы основной цепи, по-

скольку для первого остатка молекулы В и L формы являются изоэнергетичными. Для остатка лейцина в положении 3 пептидной цепи были учтены R, В и L формы его основной цепи, а величины двугранных углов боковой цепи ( $\chi_1$ ,  $\chi_2$ ) до начала процедуры минимизации конформационной энергии принимались равными 60, 180 и  $-60^0$ . Значения угла  $\chi_2$  в боковой цепи остатков Tyr и Phe взяты равными  $90^0$ . Общее число низкоэнергетических конформационных состояний, рассчитанных для фрагментов Asp<sup>1</sup>-Arg<sup>2</sup>-Leu<sup>3</sup>, Leu<sup>3</sup>-Tyr<sup>4</sup>-Ser<sup>5</sup>-Phe<sup>6</sup> и Phe<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Leu<sup>8</sup> составило, соответственно 171, 1215 и 324. Величины относительной энергии конформаций фрагмента, выбранных для дальнейшего расчёта перекрывающихся участков молекулы аллатостатина-4 в зависимости от длины пептидной цепи варьируют в пределах 0÷5 ккал/моль. Как следует из результатов расчета, более половины допустимых конформаций на трипептидном фрагменте Asp<sup>1</sup>-Arg<sup>2</sup>-Leu<sup>3</sup> (58,9%) принадлежат шейпу *fe* с полусвернутой формой пептидной цепи. Согласно результатам расчета конформации шейпа *fe* почти на 2,0 ккал/моль энергетически выгоднее низкоэнергетических конформаций с полностью развернутой формой основной цепи (в интервал относительной энергии 0÷3 ккал/моль попадает лишь 7,7% низкоэнергетических конформаций шейпа *ee*). Предпочтительность этих структур обусловлена эффективными взаимодействиями боковых цепей противоположно заряженных боковых цепей остатков аргинина и аспарагиновой кислоты. Вклад от энергии межостаточных взаимодействий в конформациях шейпа *fe* максимален и составляет - 7,8 ккал/моль. В целом суммарный вклад от энергии невалентных и электростатических взаимодействий этих остатков в низкоэнергетических конформациях варьирует в пределах -5,1 ÷ -7,8 ккал/моль. В глобальной конформации шейпа *fe* образуется водородная связь между атомом кислорода карбоксильной группы Asp<sup>1</sup> и атомом водорода амидной группы основной цепи Arg<sup>2</sup>. Общее число низкоэнергетических конформаций трипептида, выбранных для последующего этапа расчетов, составило 39.

Для тетрапептидного фрагмента Leu<sup>3</sup>-Tyr<sup>4</sup>-Ser<sup>5</sup>-Phe<sup>6</sup> энергетически предпочтительными являются конформации шейпов *ef* и *eff* (27,9 и 18% от общего числа рассчитанных конформаций с  $E_{отн} = 0 \div 5$  ккал/моль, соответственно). Устойчивые структуры с локальными минимумами энергии этого фрагмента стабилизированы, главным образом, невалентными взаимодействиями остатков с ароматическими боковыми цепями Tyr<sup>4</sup> и Phe<sup>6</sup> (порядка -5,0 ккал/моль). В низкоэнергетической конформации, принадлежащей шейпу *eff* образуется  $\beta$ -изгиб на участке Leu<sup>3</sup>-Phe<sup>6</sup>, при котором расстояние между C <sup>$\alpha$</sup> -атомами остатков Tyr<sup>4</sup> и Phe<sup>6</sup> равно 5,4 Å. Такой изгиб способствует сближению и почти параллельному расположению ароматических колец остатков так, что расстояние между центрами тяжести колец варьирует в пределах 4,2÷4,5 Å. Формирование  $\beta$ -изгиба в низкоэнергетических конформациях тетрапептида и образование водородных связей между атомами пептидных звеньев остатков, расположенных в по-

ложениях 3 и 6 основной цепи свидетельствуют о формировании компактной структуры, стабилизированной дисперсионными взаимодействиями, которая может сохраниться при увеличении длины пептидной цепи. Эффективные межстаточные взаимодействия между Tyr<sup>4</sup> и Phe<sup>6</sup> образуются и в конформациях шейпа *fee*, однако они на 1,7 ккал/моль уступают глобальной конформации фрагмента. Основным вкладом в стабилизацию структур этого типа вносят дипептидные взаимодействия Leu<sup>3</sup>-Tyr<sup>4</sup> (-5,1 ккал/моль). Наличие остатка серина, содержащего гидроксильную группу в боковой цепи, определяет специфику пространственного строения данного участка молекулы аллатостатина-4. Известно, что у Ser, благодаря электростатическим взаимодействиям между его боковой и основной цепью, ярко выражена тенденция участвовать в формировании β-структур. Во всех рассчитанных конформациях фрагмента образуется водородная связь между ОН группой боковой и NH группой основной цепи серина, длина которой варьирует в очень узком интервале значений 2,48 ÷ 2,51 Å. Таким образом, тетрапептидный фрагмент, плотно упакованный в пространстве и стабилизированный в основном невалентными взаимодействиями, представлен в последующих расчетах в основном конформациями шейпов *eef*, *fee* и *eff*.

На трипептидном фрагменте Phe<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Leu<sup>8</sup> число рассчитанных конформаций, принадлежащих 4 шейпам и 16 формам пептидной цепи, составило 324. В низкоэнергетических конформациях фрагмента, благодаря остатку глицина, выполняющему роль шарнира в структуре фрагмента, образуются эффективные межстаточные взаимодействия между Phe<sup>6</sup> и Leu<sup>8</sup>. Поэтому состояния как с развернутой, так и полусвернутой формой основной цепи реализуются с равной вероятностью. Об этом свидетельствуют как результаты минимизации, так и анализ вкладов межстаточных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях фрагмента. В глобальной конформации фрагмента образуется водородная связь между атомами основной цепи остатков Phe<sup>6</sup> и Leu<sup>8</sup>, длина которой варьирует в зависимости от конформационного состояния основной цепи от 2,03 до 2,07 Å.

Общее число 458 начальных вариантов, составленных для процедуры минимизации конформационной энергии всей молекулы, соответствуют 90 формам и 41 шейпу пептидной цепи. Они являются сочетаниями низкоэнергетических конформационных состояний фрагментов Arg<sup>1</sup>-Leu<sup>3</sup>, Leu<sup>3</sup>-Phe<sup>6</sup>, Phe<sup>6</sup>-Leu<sup>8</sup> и их перекрывающихся участков, относительная энергия которых не превышает 5 ккал/моль. Конформационный анализ последовательно наращиваемых и перекрывающихся фрагментов молекулы аллатостатина-4 выявил значительную преемственность результатов по мере увеличения длины рассматриваемой пептидной цепи (табл. 1 и 2). В результате минимизации энергии составленных структурных вариантов были найдены низкоэнергетические конформации молекулы аллатостатина-4. В интервал относительной энергии 0÷10 ккал/моль входят конформации 12 структурных типов октапептида.

Расчет показал, что молекула аллатостатина-4 в условиях водного окружения может формировать несколько устойчивых конформационных состояний, разделенных невысоким энергетическим барьером 5,0 ккал/моль.

Таблица 1  
Энергетическое распределение конформаций аллатостатина-4

№	Шейп	Интервал относительной энергии, ккал/моль						Процентное соотношение конформаций
		0÷1	1÷2	2÷3	3÷4	4÷5	>5	
1	<i>feefef</i>	1	6	3	7	6	26	28.1
2	<i>feefee</i>	-	1	-	2	1	22	15.3
3	<i>feefff</i>	-	-	1	-	3	17	12.7
4	<i>feeffe</i>	-	-	1	-	1	16	10.4
5	<i>fefeee</i>	-	-	1	1	-	1	1.6
6	<i>fffeff</i>	-	-	-	1	-	10	6.2
7	<i>feefff</i>	-	-	-	3	4	16	13.2
8	<i>eeefef</i>	-	1	2	1	-	2	3.4
9	<i>eeefff</i>	-	-	1	1	-	2	2.3
10	<i>effeff</i>	-	-	-	-	1	4	2.8
11	<i>eeeffe</i>	-	-	-	-	1	2	1.7
12	<i>eefeee</i>	-	-	-	-	1	3	2.3

Таблица 2  
Энергетические параметры низкоэнергетических конформаций аллатостатина-4

№	Шейп	Конформация остатка*								Энергетические вклады, ккал/моль				
		Asp	Arg	Leu	Tyr	Ser	Phe	Gly	Leu	$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{горс}$	$E_{конф}$	$E_{отн}$
1	<i>feefef</i>	R <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>1</sub>	P	R <sub>3</sub>	-44,3	3,0	4,3	-36,9	0,0
2	<i>eeefef</i>	R <sub>1</sub>	L <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>1</sub>	P	R <sub>3</sub>	-44,9	4,5	5,1	-35,4	1,6
3	<i>feefee</i>	R <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>1</sub>	P	L <sub>3</sub>	-42,4	2,3	4,9	-35,2	1,8
4	<i>feeffe</i>	R <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	B	B	B <sub>3</sub>	-42,9	3,1	4,9	-34,9	2,1
5	<i>fefeee</i>	R <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B	R <sub>3</sub>	-41,7	2,8	4,2	-34,6	2,4
6	<i>eeefff</i>	R <sub>1</sub>	L <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-42,4	3,9	4,1	-34,3	2,6
7	<i>feefff</i>	B <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-40,0	2,5	3,8	-33,7	3,3
8	<i>fffeff</i>	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-40,0	3,2	3,4	-33,4	3,5
9	<i>feefff</i>	R <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-40,1	2,6	5,8	-32,8	4,1
10	<i>eeefff</i>	R <sub>1</sub>	L <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-40,3	4,0	3,9	-32,4	4,6
11	<i>effeff</i>	B <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-40,9	5,3	2,6	-32,2	4,8
12	<i>eefeee</i>	R <sub>1</sub>	L <sub>3</sub>	R <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	P	R <sub>3</sub>	-41,4	3,8	5,8	-31,8	5,1

\*-обозначения локальных минимумов монопептидов см. в тексте.

В целом, 53% рассчитанных структур содержат развёрнутую форму участка Arg<sup>2</sup>-Tyr<sup>4</sup> и отличаются лишь конформационными состояниями C-концевого фрагмента Ser<sup>5</sup>-Leu<sup>8</sup>. В таблицах 2-3 приведены энергетические параметры низкоэнергетических конформаций аллатостатина-4, а в таблице 4 - величины двугранных углов состояния молекулы с глобальным минимумом внутримолекулярной конформационной энергии.

На рисунке 2 приведены стереоизображения молекулы в четырех конформациях с глобальным ( $E_{\text{конф}} = -36,9$  ккал/моль) и локальными минимумами энергии ( $E_{\text{конф}} = -35,4; -35,2; -34,9$  ккал/моль). Следует отметить, что большое число низкоэнергетических конформаций характеризуются свернутой структурой пептидной цепи на С-конце молекулы. Эти конформации отличаются в основном энергией дисперсионных взаимодействий, т.е. в конечном счете, плотностью упаковки и способствуют ограничению конформационной свободы С-концевого фрагмента аллатостатина-4. Об этом свидетельствует также существенная дифференциация шейпов, поскольку из 41 рассмотренных шейпов в интервал относительной энергии 0-5 ккал/моль попадают только 12.

Таблица 3

Энергетические вклады (ккал/моль) межостаточных взаимодействий в низкоэнергетических конформациях молекулы аллатостатина-4

Аминокислотные остатки	Конформация шейпа <i>feefef</i> с $E_{\text{отн}} = 0,0$ ккал/мол		Конформация шейпа <i>eeefef</i> с $E_{\text{отн}} = 1,6$ ккал/мол	
	Расстояние между $C^{\alpha}$ атомами (Å)	$\sum_{i,j} E_{i,j}$	Расстояние между $C^{\alpha}$ атомами (Å)	$\sum_{i,j} E_{i,j}$
Asp1-Arg2	3.8	-7.5	3.8	-5.1
Arg2-Leu3	3.8	-1.6	3.8	-1.6
Leu3-Tyr4	3.8	-2.1	3.8	-2.1
Tyr4-Ser5	3.8	-1.9	3.8	-1.9
Ser5-Phe6	3.8	-2.2	3.8	-2.3
Phe6-Gly7	3.8	0.8	3.8	-0.8
Gly7-Leu8	3.8	-1.5	3.8	-1.5
Asp1-Leu3	6.4	-0.7	5.6	-4.8
Arg2-Tyr4	6.0	-3.3	5.9	-2.8
Leu3-Ser5	7.2	-0.2	7.2	-0.2
Tyr4-Phe6	5.4	-5.0	5.4	-5.1
Ser5-Gly7	5.0	-1.0	5.0	-1.0
Phe6-Leu8	5.7	-3.3	5.7	-3.3
Asp1-Tyr4	9.5	0.5	8.9	0.5
Arg2-Ser5	9.3	-0.1	9.3	-0.1
Leu3-Phe6	8.7	-0.1	8.6	-0.1
Tyr4-Gly7	4.3	-2.5	4.2	-2.6
Ser5-Leu8	8.4	-0.0	8.3	-0.0
Asp1-Ser5	12.9	-0.1	12.4	0.1
Arg2-Phe6	9.3	-0.3	9.2	-0.2
Leu3-Gly7	6.1	-0.2	5.9	-0.2
Tyr4-Leu8	7.4	-0.2	7.3	-0.2
Asp1-Phe6	13.0	0.1	12.9	0.1
Arg2-Gly7	6.1	-1.3	6.0	-1.1
Leu3-Leu8	8.6	-0.0	8.4	0.0
Asp1-Gly7	9.5	-0.1	9.5	-0.1
Arg2-Leu8	6.8	-3.3	6.6	-2.3
Asp1-Leu8	9.8	-0.0	10.0	0.1

В глобальной конформации молекулы на участке Tyr<sup>4</sup>-Gly<sup>7</sup> образуется  $\beta$ -поворот пептидной цепи, о чем свидетельствуют расстояния ме-

жду C<sup>α</sup>-атомами остатков Tyr<sup>4</sup> и Gly<sup>7</sup> (4,3 Å; табл. 3) и водородные связи между атомами основной цепи Tyr<sup>4</sup> и Gly<sup>7</sup> (табл.5).

Следующая по стабильности конформация R<sub>1</sub>L<sub>3</sub>V<sub>3</sub>V<sub>3</sub>R<sub>1</sub>R<sub>1</sub>PR<sub>3</sub>, принадлежащая шейпу *eeefef*, на 1,6 ккал/моль уступает по стабильности глобальной конформации шейпа *eeefef*. По суммарному вкладу тетра- и пентапептидных взаимодействий (-12,6 ккал/моль) глобальная конформация заметно превосходит другие стабильные конформации R<sub>1</sub>V<sub>3</sub>V<sub>3</sub>V<sub>3</sub>R<sub>1</sub>R<sub>1</sub>PL<sub>3</sub> (-13,2 ккал/моль) и R<sub>1</sub>V<sub>3</sub>V<sub>3</sub>V<sub>3</sub>R<sub>1</sub>PL<sub>3</sub> (-10,4 ккал/моль). В последней конформации, однако, благодаря сближенности удалённых по цепи остатков Arg<sup>2</sup> и Leu<sup>8</sup> образуется эффективное взаимодействие между боковой цепью остатка аргинина и основной цепью лейцина (-1,2 ккал/моль), а также трипептидное взаимодействие между Phe<sup>6</sup> и Leu<sup>8</sup> (-2,7 ккал/моль).

Таблица 4

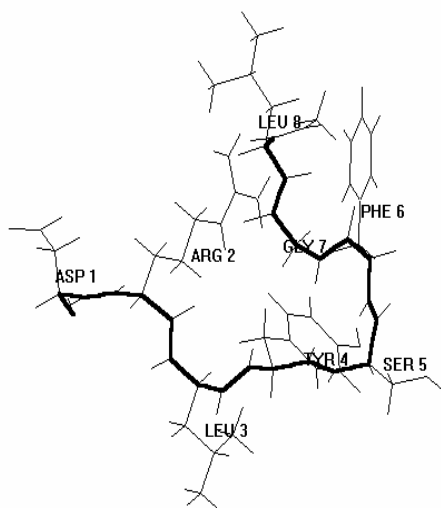
Двугранные углы основной и боковых цепей аминокислотных остатков в низкоэнергетических конформациях аллатостатина-4

Аминокислотный остаток	Двугранные углы (град)		
	φ, ψ, ω, χ <sub>1</sub> , χ <sub>2</sub>	φ, ψ, ω, χ <sub>1</sub> , χ <sub>2</sub>	φ, ψ, ω, χ <sub>1</sub> , χ <sub>2</sub>
Asp <sup>1</sup>	φ= -89, ψ= -44, ω=178, χ <sub>1</sub> =54, χ <sub>2</sub> =105	φ= -73, ψ= -43, ω=178, χ <sub>1</sub> =61, χ <sub>2</sub> =112	φ= -89, ψ= -44, ω=180, χ <sub>1</sub> =54, χ <sub>2</sub> =105
Arg <sup>2</sup>	φ= -134, ψ=97, ω=179, χ <sub>1</sub> = -67, χ <sub>2</sub> =174, χ <sub>3</sub> =161	φ=53, ψ=57, ω=175, χ <sub>1</sub> =57, χ <sub>2</sub> =179, χ <sub>3</sub> =181	φ= -133, ψ=98, ω=183, χ <sub>1</sub> = -67, χ <sub>2</sub> =174, χ <sub>3</sub> =182
Leu <sup>3</sup>	φ= -99, ψ=94, ω=183, χ <sub>1</sub> =54, χ <sub>2</sub> =177, χ <sub>3</sub> =182	φ= -100, ψ=94, ω=183, χ <sub>1</sub> = -56, χ <sub>2</sub> =174, χ <sub>3</sub> =187	φ= -99, ψ=96, ω=182, χ <sub>1</sub> = -54, χ <sub>2</sub> =177, χ <sub>3</sub> =187
Tyr <sup>4</sup>	φ= -150, ψ=165, ω=177, χ <sub>1</sub> = -67, χ <sub>2</sub> =95, χ <sub>3</sub> =180	φ= -148, ψ=165, ω=178, χ <sub>1</sub> = -65, χ <sub>2</sub> =96, χ <sub>3</sub> =179	φ= -148, ψ=164, ω=178, χ <sub>1</sub> = -61, χ <sub>2</sub> =95, χ <sub>3</sub> =180
Ser <sup>5</sup>	φ= -71, ψ= -52, ω=171, χ <sub>1</sub> =56, χ <sub>2</sub> =177	φ= -69, ψ= -52, ω=171, χ <sub>1</sub> =57, χ <sub>2</sub> =179	φ= -71, ψ= -53, ω=170, χ <sub>1</sub> =57, χ <sub>2</sub> =180
Phe <sup>6</sup>	φ= -60, ψ= -29, ω=178, χ <sub>1</sub> =62, χ <sub>2</sub> =81	φ= -60, ψ= -29, ω=178, χ <sub>1</sub> =62, χ <sub>2</sub> =81	φ= -61, ψ= -35, ω=179, χ <sub>1</sub> =57, χ <sub>2</sub> =80
Gly <sup>7</sup>	φ=80, ψ= -77, ω=182	φ=80, ψ= -77, ω=182	φ=72, ψ= -89, ω=181
Leu <sup>8</sup>	φ= -104, ψ= -60, ω=179, χ <sub>1</sub> =53, χ <sub>2</sub> =176, χ <sub>3</sub> =186	φ= -104, ψ= -60, ω=179, χ <sub>1</sub> = -53, χ <sub>2</sub> =176, χ <sub>3</sub> =186	φ=50, ψ=59, ω=180, χ <sub>1</sub> = -58, χ <sub>2</sub> =174, χ <sub>3</sub> =186
E <sub>отн</sub>	0,0 ккал/мол	1,6 ккал/мол	1,8 ккал/мол

Таблица 5

## Водородные связи в низкоэнергетических конформациях аллатостатина-4

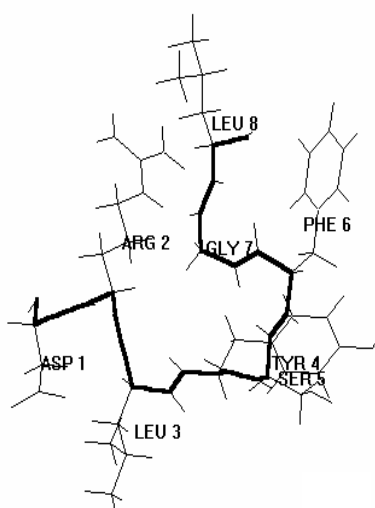
N	Шейп	Конформация	Водородная связь	Расстояние между атомами (в Å)
1	<i>feefef</i>	R <sub>1</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>1</sub> R <sub>1</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Arg <sup>2</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...HN(Gly <sup>7</sup> ) NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,83 2,75 2,50 2,12
2	<i>eeefef</i>	R <sub>1</sub> L <sub>3</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>1</sub> R <sub>1</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Leu <sup>3</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...HN(Gly <sup>7</sup> ) NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,26 2,67 2,51 2,13
3	<i>feefee</i>	R <sub>1</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>1</sub> R <sub>1</sub> PL <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Arg <sup>2</sup> ) N <sup>ε</sup> H(Arg <sup>2</sup> )...OC(Leu <sup>8</sup> ) NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,79 1,92 2,50 2,26
4	<i>feeffe</i>	R <sub>1</sub> B <sub>1</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>1</sub> R <sub>1</sub> BB <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...HN(Gly <sup>7</sup> ) NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,80 2,50 2,09
5	<i>feeeee</i>	R <sub>1</sub> B <sub>1</sub> R <sub>2</sub> B <sub>3</sub> B <sub>2</sub> B <sub>3</sub> BR <sub>3</sub>	N <sup>ε</sup> H(Arg <sup>2</sup> )...OC(Phe <sup>6</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,71 2,08
6	<i>eeeffff</i>	R <sub>1</sub> L <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>3</sub> R <sub>1</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Leu <sup>3</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Arg <sup>2</sup> )...HN(Tyr <sup>4</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Ser <sup>5</sup> )...NH <sub>2</sub> C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,40 2,87 2,13 2,49 2,93 2,01
7	<i>feeffff</i>	B <sub>2</sub> L <sub>3</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>2</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	1,92 1,99
8	<i>fffefff</i>	R <sub>1</sub> R <sub>3</sub> R <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>1</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	NH(Asp <sup>1</sup> )...C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,91 2,00 2,48 2,00
9	<i>feeffff</i>	R <sub>1</sub> B <sub>1</sub> B <sub>3</sub> R <sub>3</sub> R <sub>1</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Arg <sup>2</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Arg <sup>2</sup> )...HN(Tyr <sup>4</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Ser <sup>5</sup> )...NH <sub>2</sub> C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,6 2,8 2,1 2,5 2,9 2,0
10	<i>eeeffff</i>	R <sub>1</sub> L <sub>3</sub> B <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>2</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Leu <sup>3</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Arg <sup>2</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,4 2,6 2,1 2,0
11	<i>effefff</i>	B <sub>1</sub> R <sub>3</sub> R <sub>3</sub> B <sub>3</sub> R <sub>1</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) OH(Ser <sup>5</sup> )...NH(Phe <sup>6</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	2,0 2,5 2,3 2,0
12	<i>eefeeee</i>	R <sub>1</sub> L <sub>3</sub> R <sub>2</sub> B <sub>3</sub> B <sub>1</sub> B <sub>3</sub> PR <sub>3</sub>	C <sup>γ</sup> O(Asp <sup>1</sup> )...HN(Leu <sup>3</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Tyr <sup>4</sup> )...NH <sub>2</sub> NH(Ser <sup>5</sup> )...OH(Ser <sup>5</sup> ) OH(Ser <sup>5</sup> )...NH(Phe <sup>6</sup> ) C <sup>γ</sup> O(Ser <sup>5</sup> )...NH <sub>2</sub> C <sup>γ</sup> O(Phe <sup>6</sup> )...HN(Leu <sup>8</sup> )	1,9 2,5 2,5 2,1 2,8 2,0



а) Шейп: *feefef*

Конформация:

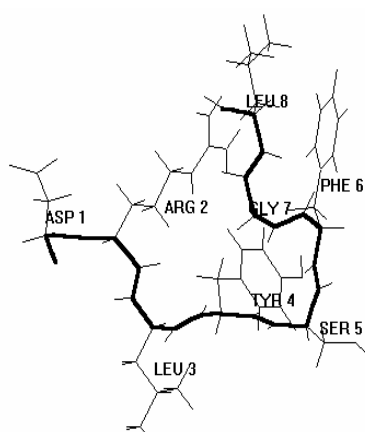
$R_1B_3B_3B_3R_1R_1PR_3$



б) Шейп: *eeefef*

Конформация:

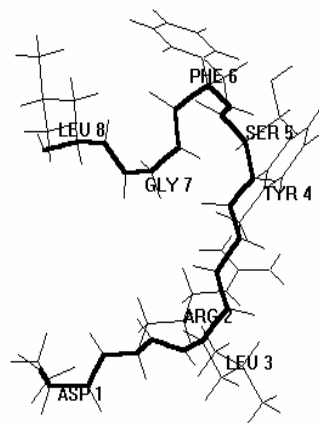
$R_1L_3B_3B_3R_1R_1PR_3$



в) Шейп: *feefee*

Конформация:

$R_1B_3B_3B_3R_1R_1PL_3$



г) Шейп: *feeffe*

Конформация:

$R_1B_1B_3B_3R_1R_1BB_3$

Рис.2. Конформационные состояния молекулы аллатостатина-4 с  $E_{отн}=0.0$  (а), 1,6 ккал/моль (б), 1,8 ккал/моль (в), 2,1 ккал/моль (г)

В глобальной конформации образуются водородные связи между атомами кислорода карбонильной группы и атомами водорода амидной группы пептидных звеньев: C'O(Tyr<sup>4</sup>)...HN(Gly<sup>7</sup>) и C'O(Phe<sup>6</sup>)...HN(Leu<sup>8</sup>) (табл. 5). Водородные связи образуются и в других конформациях, однако большинство оптимальных конформаций октапептида стабилизируются, главным образом, взаимодействиями, образованными ранее в стабильных конформациях перекрывающихся фрагментов-трипептида Asp<sup>1</sup>-Arg<sup>2</sup>-Leu<sup>3</sup> и тетрапептида Leu<sup>3</sup>-Tyr<sup>4</sup>-Ser<sup>5</sup>-Phe<sup>6</sup>. В низкоэнергетических конформациях октапептида возникают также новые межостаточные взаимодействия в связи с удлинением пептидной цепи. Такими новыми взаимодействиями в глобальной конформации являются контакты между Arg<sup>2</sup>-Gly<sup>7</sup> (-1,3 ккал/моль) и Arg<sup>2</sup>-Leu<sup>8</sup> (-3,3 ккал/моль). В конформации шейпа *eeeffff* новые контакты также образуются между Tyr<sup>4</sup> и NH<sub>2</sub> C-концевой группой молекулы (-3,5 ккал/моль).

Обобщая результаты исследований можно предположить, что в условиях водного окружения молекула аллатостатина-4 может реализовывать ряд низкоэнергетических конформационных состояний, различающихся, в основном, конформационными состояниями C-концевого фрагмента. Полученные результаты могут служить основой для целенаправленной модификации аллатостатина-4 с целью создания аналогов более селективного и пролонгированного действия.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Pratt G.E, Farnsworth D.E, Siegel N.R, Fok K.F, Feyereisen R. "Identification of an allatostatin from adult *Diploptera punctata*" //Biochem. Biophys. Res. Commun., 1990, v.29, iss.163(3), p.1243-1247
2. Stay B., Fairbairn S., Yu C.G. "Role of allatostatins in the regulation of juvenile hormone synthesis" //Arch. Insect. Biochem. Physiol., 1996, v.32, N.3-4, p.287-297
3. Woodhead A.P., Stay B., Seidel S.L., Khan M.A., Tobe S.S. "Primary structure of four allatostatins: neuropeptide inhibitors of juvenile hormone synthesis" //Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, v.85, N.15, p.5997-6001
4. Woodhead A.P., Klan M.A., Stay B., Tobe S.S. "Two new allatostatins from the brains of *Diploptera punctata*" // Insect. Biochem. Mol. Biol., 1994, v.24, N.3, p.257-263
5. Попов Е.М. "Quantitative approach to conformations of proteins" //Int. J. Quantum Chem., 1979, 16, p.707-737
6. Попов Е.М. "Структурная организация белков" М., Наука, 1989, 352с.
7. 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
8. 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
9. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature Abbreviations and Symbols for Description of Conformation of Polypeptide Chains //Pure Applied Chem., 1974, v.40, p.291-308

## ***ALLATOSTATİN-4 NEYROPEPTİDİNİN FƏZA QURULUŞU***

***M.H.MUSAYEV, L.İ.VƏLİYEVƏ, İ.N.ƏLİYEVƏ, N.M.QOCAYEV***

### ***ANNOTASIYA***

Allatostatinlər ailəsinə mənsub olan allatostatin-4 neyropeptidinin nəzəri konformasiya analizi üsulu ilə fəza quruluşu tədqiq edilmişdir. Molekuldaxili konformasiya enerjisinin ölçülməsi nəticəsində polyar mühitdə molekulun bütün mümkün stabil konformasiya halları kəmiyyətə qiymətləndirilmişdir.

## **SPATIAL STRUCTURE OF THE ALLATOSTATIN-4 NEUROPEPTIDE**

**M.G.MUSAYEV, L.I.VELIYEVA, I.N.ALIEVA, N.M.GODJAYEV**

### **ABSTRACT**

The spatial structure of the allatostatin-4 neuropeptide from allatostatin family has been established by theoretical conformational analysis method. On the basis of the intramolecular conformational energy calculation the quantitative evaluation of the possible conformational states of the molecule in water solution has been carried out.