

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ  
ASP-PRO-LYS-GLN-ASP-PHE-MET-ARG-PHE-NH<sub>2</sub>

Ш.Н.ГАДЖИЕВА, Н.А.АХМЕДОВ

*Бакинский Государственный Университет**Namig.49@bk.ru*

*Методом теоретического конформационного анализа исследованы пространственное строение и конформационные свойства кардиоактивного нонапептида. Найденны низкоэнергетические конформации нонапептидной молекулы, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Показано, что пространственная структура молекулы представлена 14 конформациями, которые распределены в энергетическом интервале 0-10.0 ккал/моль. Ключевые слова: кардиоактивные пептиды, конформационный анализ, структура*

## ВВЕДЕНИЕ

Молекула Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub>, выделенная из экстрактов тканей *Drosophila melanogaster* двумя лабораториями независимо друг от друга [1, 2], относится к семейству, так называемых, FMRF-амидов(Phe-Met-Arg-Phe амид).

Пептиды семейства FMRF-амидов обнаружены в организмах представителей животного мира, где принимают участие в многочисленных физиологических функциях, таких, как контроль мускульных движений, кардиорегуляция, регуляция боли, а также обучение [3]. FMRF-амид впервые был выделен из тканей моллюска *Macrocallista nimbosa*. Исследуемый пептид имеет последовательность, гомологичную биоактивному тетрапептиду FMRF-амида моллюска, и является новым представителем семейства FMRF-амидов. Пептид Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> в начале был замечен в центральной нервной системе эмбриона [3], он не влияет на скорость сердцебиения [4]. Молекула повышает стимулированные нервные сжатия брюшных мускулов [5].

Целью настоящей работы явилось изучение структурной организации молекулы Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub>, а также определение всех предпочтительных по энергии и, следовательно, физиологически активных конформационных состояний. Настоящая работа является продолжением наших исследований в области структурно-функциональной организации кардиоактивных пептидов [6, 7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Расчет нонапептидной молекулы Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> выполнялся в рамках механической модели молекул с учетом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. При изложении результатов расчета использована предложенная классификация, согласно которой все структурные варианты разбиваются на шейпы, которые включают определенные формы основной цепи, а каждая форма представлена рядом конформаций, определяющихся количеством вращательных степеней свободы боковых цепей остатков. Для обозначения конформаций применена система идентификаторов, согласно которой конформационное состояние каждого остатка определяется как  $X_{ij}^n$ , где X характеризует форму основной цепи остатка в последовательности, а символы  $ij = 11\dots, 12\dots, 13\dots, 21\dots$ , и т.д. отвечают положениям боковой цепи ( $\chi^1, \chi^2, \dots$ ): индекс 1 соответствует значениям углов в области 0-120°, индекс 2- области 120°-(-120°), а индекс 3- области (-120°)-0°.

Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют номенклатуре [8].

Используемые в расчете потенциальные функции и полуэмпирические параметры для оценки невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий, водородных связей взяты из работы [9]. Конформационные возможности молекулы рассчитывались применительно к условиям водного окружения, поэтому величина диэлектрической проницаемости принята равной 10.

Пространственная структура молекулы Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> исследована фрагментарно. На первом этапе изучены конформационные возможности N-концевого пентапептидного фрагмента Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5 на основе низкоэнергетических конформаций соответствующих аминокислотных остатков. Известно, что у любого аминокислотного остатка (за исключением Gly), находящегося перед Pro, все конформации с R-формой основной цепи высокоэнергетичны, поэтому такое состояние у Asp1 из расчета исключалось. Следовательно, исходные структурные варианты могли обладать только следующими восемью шейпами пептидного скелета: eeee, eeee, eeff, efee, efef, effe, eefe и efff.

Результаты расчета пентапептида показывают, что происходит энергетическая дифференциация как по конформациям, так и по формам основной цепи и шейпам. В интервал энергии 0 - 5.0 ккал/моль попадают пять шейпов. Шейпы eeee и efff имеют энтальпийную и энтропийную предпочтительность, они представлены многими низкоэнергетическими конформациями. Как видно из аминокислотной последовательности, в пентапептидный фрагмент входят заряженные, объемные и лабильные боковые цепи, поэтому для дальнейшего расчета нонапептидной молекулы выбраны конформации всех восьми шейпов.

Расчет пространственной структуры фрагмента Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> выполнен на основе стабильных конформаций аминокислотных остатков. Результаты свидетельствуют о том, что в энергетический интервал 0-5.0 ккал/моль попадают конформации семи шейпов. Поэтому для расчета трехмерной структуры нонапептидной молекулы выбраны конформации всех восьми шейпов.

Исходные для минимизации энергии структурные варианты Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> формировались из отмеченных выше 8 шейпов N-концевого пентапептида Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5 и 8 шейпов тетрапептида Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub>. После оптимизации энергии, выполненной при варьировании значений двугранных углов основной и боковых цепей всех остатков, были уточнены ориентации боковых цепей Lys3 и Arg8 в отношении углов  $\chi^3$  и  $\chi^4$ .

Из рассмотренных свыше 200 структурных вариантов нонапептидной молекулы около половины оказались стерически запрещенными; относительная энергия остальных распределилась от 0 до 40 ккал/моль. В таблице 1 приведены лучшие оптимальные конформации молекулы, энергия которых не превышает 10.0 ккал/моль. Они имеют 14 различных форм основной цепи, принадлежащих 14 шейпам. Там же для каждой конформации даны энергетические вклады невалентных, электростатических и торсионных взаимодействий; в значение  $U_{нев}$  входит энергия водородных связей.

Таблица 1

**Относительная энергия ( $U_{отн}$ ) и энергетические вклады невалентных ( $U_{нев}$ ), электростатических ( $U_{эл}$ ), торсионных ( $U_{торс}$ ) взаимодействий оптимальных конформаций молекулы Asp1-Pro2-Lys3-Gln4- Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub>**

Пространственная группа	№	Шейп	Конформация	$U_{отн}$	Энергетический вклад		
					$U_{нев}$	$U_{эл}$	$U_{торс}$
А	1	efffffef	B <sub>3</sub> RR <sub>1222</sub> R <sub>231</sub> R <sub>3</sub> R <sub>2</sub> B <sub>332</sub> B <sub>3122</sub> B <sub>3</sub>	0	-44.0	-1.2	6.1
	2	efffffef	B <sub>3</sub> RR <sub>1222</sub> R <sub>231</sub> R <sub>3</sub> R <sub>2</sub> B <sub>332</sub> R <sub>222</sub> R <sub>3</sub>	3.4	-45.0	3.9	5.3
	3	efffffef	B <sub>3</sub> RR <sub>1222</sub> R <sub>231</sub> R <sub>3</sub> B <sub>2</sub> B <sub>212</sub> R <sub>2122</sub> B <sub>3</sub>	3.1	-46.6	4.6	6.0
	4	effffeee	B <sub>3</sub> RR <sub>1222</sub> R <sub>231</sub> R <sub>3</sub> B <sub>2</sub> B <sub>232</sub> B <sub>2122</sub> B <sub>1</sub>	6.4	-42.4	4.2	5.6
В	5	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> R <sub>2</sub> B <sub>332</sub> R <sub>2222</sub> R <sub>3</sub>	0.5	-45.0	0.7	5.8
	6	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> R <sub>2</sub> B <sub>332</sub> B <sub>3122</sub> B <sub>3</sub>	2.5	-38.5	-2.6	4.5
	7	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>212</sub> R <sub>3322</sub> B <sub>1</sub>	2.7	-41.9	1.9	3.8
	8	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> B <sub>212</sub> R <sub>2122</sub> R <sub>3</sub>	4.6	-40.7	1.3	4.9
	9	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> R <sub>3</sub> R <sub>332</sub> B <sub>3322</sub> B <sub>1</sub>	5.5	-43.9	5.1	5.1
	10	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> B <sub>1</sub> R <sub>222</sub> B <sub>3322</sub> B <sub>2</sub>	8.1	-36.7	1.9	3.7
С	11	eeeeeef	B <sub>1</sub> BB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> B <sub>323</sub> B <sub>2122</sub> B <sub>1</sub>	8.3	-35.9	0.9	4.2
	12	efeeefef	B <sub>1</sub> RB <sub>1222</sub> B <sub>211</sub> B <sub>1</sub> R <sub>2</sub> B <sub>332</sub> R <sub>2222</sub> R <sub>3</sub>	5.5	-44.0	5.1	5.1
	13	efeeeff	B <sub>1</sub> RB <sub>1222</sub> B <sub>2112</sub> B <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>212</sub> R <sub>3322</sub> R <sub>1</sub>	5.7	-42.5	5.3	3.8
	14	efeeefef	B <sub>1</sub> RB <sub>1222</sub> B <sub>2112</sub> B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> B <sub>212</sub> R <sub>2122</sub> R <sub>3</sub>	6.8	-41.5	4.6	4.6

В отношении геометрии N-концевого пентапептидного фрагмента, представленной в таблице 1, низкоэнергетические конформации нонапептидной молекулы распадаются на три группы А, В, С. С-концевой тетрапептидный фрагмент является лабильным и представлен семью формами основной цепи. Аминокислотная последовательность С-концевого тетрапептида совпадает с молекулой FMRF-амида. Все низкоэнергетические формы С-концевого тетрапептидного фрагмента так же являются низкоэнергетическими и у молекулы FMRF-амида. Группа А представлена четырьмя формами основной цепи, группа В- семью, а группа С- тремя. Для самой низкоэнергетической конформации каждой формы в таблице 2 представлены энергия внутри- и межостаточных

взаимодействий, а в таблице 3 даны значения двугранных углов основной и боковых цепей этих конформаций. На рисунках 1, 2 представлено пространственное изображение двух низкоэнергетических конформаций. В трех низкоэнергетических конформациях исследованы конформационные возможности боковых цепей всех аминокислотных остатков, путем построения конформационных карт для двугранных углов вращения. Некоторые из них представлены на рис.2.

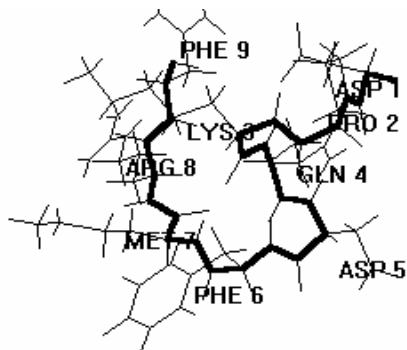


Рис. 1. Пространственное изображение конформации  $B_3RR_{1222}R_{231}R_3R_2B_{332}B_{3122}B_3$

Таблица 2

Энергия внутри- и межостаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях молекулы Asp1-Pro2-Lys3-Gln4- Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> шейпов effffee ( $U_{отн}=0$  ккал/моль, верхняя строка), eeeeefef ( $U_{отн}=0.5$  ккал/моль, средняя строка), и efefefef ( $U_{отн}=5.5$  ккал/моль, нижняя строка)

Asp1	Pro2	Lys3	Gln4	Asp5	Phe6	Met7	Arg8	Phe9	
2.8	-3.2	-7.5	-2.7	0.7	-0.1	-0.1	-1.6	0.1	Asp1
0.5	-3.7	-8.6	0.0	2.6	0.0	-0.1	-4.0	0.1	
0.7	-3.9	-4.1	-1.1	2.6	0.1	-0.1	-1.4	0.1	
	0.2	-1.3	-1.2	-1.8	-1.1	-0.1	-0.2	0.0	Pro2
	0.5	-0.9	-0.2	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	
	0.3	-1.9	-0.2	-0.2	0.0	0.0	0.2	0.0	
		3.5	-0.3	-3.9	-2.0	-1.0	2.2	0.4	Lys3
		2.7	-1.4	-9.9	-0.1	0.0	2.8	-0.4	
		2.5	-1.3	-9.4	-0.1	0.1	3.4	-0.4	
			1.4	-2.0	-0.3	-1.7	-4.6	0.0	Gln4
			0.2	-2.7	-0.4	0.0	0.0	0.0	
			0.2	-2.6	-0.4	0.0	0.0	0.0	
				2.1	0.3	-0.7	-7.7	0.2	Asp5
				2.5	-1.9	-2.1	-5.3	0.2	
				2.6	-1.8	-2.3	-5.3	0.2	
					0.0	-3.0	-2.5	-0.1	Phe6
					-0.1	-3.7	-0.4	0.0	
					-0.1	-3.1	-0.4	-0.1	
						0.2	-1.4	-2.1	Met7
						0.1	-0.4	-1.2	
						0.1	-0.4	-1.1	
							0.1	-1.7	Arg8
							0.0	-6.4	
							0.1	-6.8	
								-2.9	Phe9
								-2.8	
								-2.8	

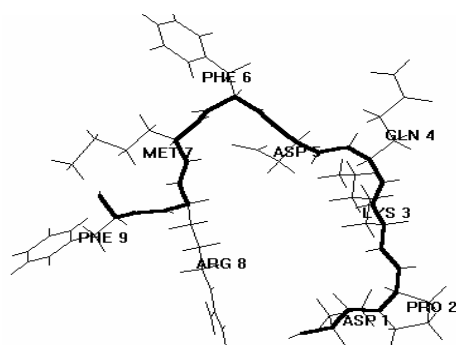


Рис. 2. Пространственное изображение конформации  $B_1BB_{1222}B_{211}B_1R_2B_{332}R_{2222}R_3$

Таблица 3

Геометрические параметры (град.) предпочтительных конформаций различных шейпов пептидного скелета молекулы  $Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH_2$

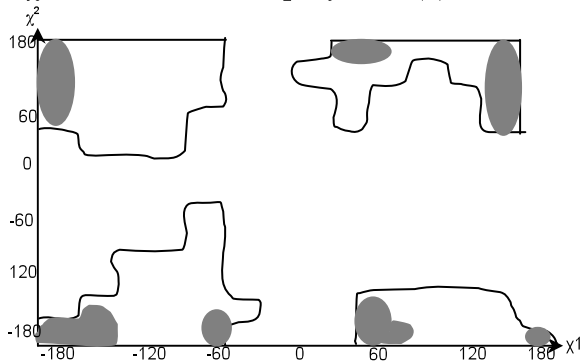
Остаток	Шейп		
	<i>effffee</i>	<i>eeeeefef</i>	<i>Efeeeefef</i>
<i>Asp1</i>	-109 151 180 -61 89	-77 152 174 61 105	-78 151 171 52 88
<i>Pro2</i>	-60 -41 177	-60 104 172	-60 -57 176
<i>Lys3</i>	-62 -43 180 66 180 179 180 180	-156 160 169 66 179 176 180 180	-146 147 171 65 175 180 177 180
<i>Gln4</i>	-57 -51 180 180 -80 110	-103 97 180 180 60 76	-96 99 180 58 97
<i>Asp5</i>	-53 -29 180 -65 90	-117 165 174 61 76	-121 164 175 58 97
<i>Phe6</i>	-91 -61 178 178 64	-85 -53 166 176 70	-86 -53 169 176 69
<i>Met7</i>	-129 145 178 -72 -63 178 180	-131 139 180 -68 -64 175 180	-131 140 180 -68 -64 175 180
<i>Arg8</i>	-109 117 173 -73 68 164 179	-88 -55 177 176 172 172 180	-88 -56 179 175 174 172 180
<i>Phe9</i>	-115 140 180 -63 89	-99 -56 180 -58 99	-100 -55 180 -58 99
$U_{отн}(ккал/моль)$	0	0.5	5.5

Примечание: Значение двугранных углов даны в последовательности  $\phi, \psi, \omega, \chi^1, \chi^2, \dots$

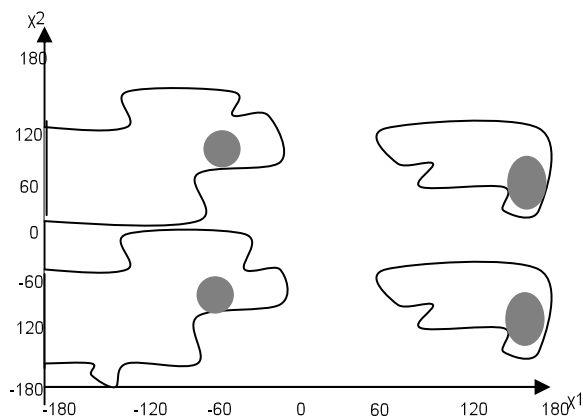
Глобальной конформацией нонапептидной молекулы является  $B_3RR_{1222}R_{321}R_3R_2B_{332}B_{3122}B_3$ . Эта конформация одновременно выгодна и по невалентным, и по электростатическим взаимодействиям, образуя водородные связи между атомами основной цепи, которые вносят вклад (-4.2 ккал/моль) в общую энергию. В этой конформации аминокислотные остатки Pro2-Phe6 образуют спиральную структуру, а Met7-Phe9-NH<sub>2</sub> принимает развернутую форму. Боковая цепь Lys3 в пространстве располагается так, что одновременно образует

эффективные взаимодействия с предыдущими остатками Asp1-Pro2 (-8.8 ккал/моль, табл.2) и последующими остатками Gln4-Met7 (-7.2 ккал/моль, табл. 2)

Конформационная карта, построенная для двугранных углов  $\chi^1$ - $\chi^2$  показывает, что боковая цепь Lys3 имеет достаточно большую конформационную свободу (рис. 3(a)). В глобальной структуре конформационной свободой обладают также боковые цепи Asp5, Arg8 и Phe9. Конформационные карты для двугранных углов  $\chi^1$ - $\chi^2$  Phe9 показаны на рисунке 3 (b).



а) Конформационная энергетическая карта углов  $\chi^1$ - $\chi^2$  аминокислотного остатка Lys3



б) Конформационная энергетическая карта углов  $\chi^1$ - $\chi^2$  аминокислотного остатка Phe9

Рис. 3.

Группа В представлена семью конформациями, относительная энергия которых изменяется в энергетическом интервале 0.5-8.3 ккал/моль. Во всех этих структурах N-концевой пентапептид имеет одну конформацию, в то время как C-концевой тетрапептидный участок отличается формами основной цепи (табл. 1). Самой низкоэнергетической конформацией группы В является  $V_1BV_{1222}V_{211}V_{1R_2}V_{332}R_{2222}R_3$  с относительной энергией 0.5 ккал/моль. В этой конформации Lys3 ориентирован так, что эффективно взаимодействует одно-

временно с Asp1 (- 8.6 ккал/моль, табл.2) и с Asp5 (-9.9 ккал/моль, табл.2). Конформационная свобода боковой цепи Lys3 ограничена. В этой конформации достаточной конформационной свободой обладают боковые цепи Asp1, Asp5, Phe6 и Phe9. Все три конформации группы C имеют достаточно большую относительную энергию (табл. 1).

Теоретический конформационный анализ кардиопептида молекулы Asp1-Pro2-Lys3-Gln4-Asp5-Phe6-Met7-Arg8-Phe9-NH<sub>2</sub> привел к таким ее структурным организациям молекулы, которые не исключают реализацию целого ряда самых разнообразных функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Nambu J.A., Murphy-Erdosh C., Andrews P.C., Feistner G.J., Scheller R.H. Neuron. 1988, v.1, p.55-61.
2. Nicols R. J. Mol. Neurosci. 1992, v.3, p.213-218.
3. Meeusen T., Mertens I., Clynen E., Baggerman G., Nicols R., Nachman R.J., Huybrechts R., Loof A., Schools L. Proc.Nat.Acad.Sci. USA. 2002, v. 99, p. 15363-15368.
4. Friedman J., Starkman J., Nicols R. Peptides. 2001, v.22(2), p. 235-239.
5. Duttlinger A., Berry K. and Nichols R. Peptides. 2002, v. 23(11), p.1953-1957.
6. Исмаилова Л.И., Аббаслы Р.М., Ахмедов Н.А. Биофизика. 2007, т.52, в.6, с.1141-1147.
7. Исмаилова Л.И., Ахмедов Н.А., Аббаслы Р.М., Биофизика. 2008, т.53, в. 6, с.14-21.
8. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature Biochim. et. biophys. acta., 1971, v.229, p. 1-17.
9. Липкинд Г.М., Архипова С.Ф., Попов Е.М. // Структ. химии. 1970, v.11, p.121-126.

#### ASP-PRO-LYS-GLN-ASP-PHE-MET-ARG-PHE-NH<sub>2</sub> MOLEKULUNUN FƏZA QURULUŞU

Ş.N.HACIYEVA, N.A.ƏHMƏDOV

#### XÜLASƏ

Nəzəri konformasiya analizi üsulu ilə kardiofəal nonapeptid molekulunun fəza quruluşu və konformasiya xüsusiyyətləri tədqiq edilmişdir. Nonapeptid molekulun alçaqenerjili konformasiyaları, əsas və yan zəncirlərin ikiüzlü fırlanma bucaqları, aminturşu qalıqları daxili və arası qarşılıqlı təsir enerjiləri müəyyən edilmişdir. Göstərilmişdir ki, molekulun fəza quruluşu əsas zəncirin fəzada yerləşməsinə görə üç qrupa bölünən, 0-10.0 kkal/mol enerji intervalına düşən 14 konformasiya ilə təənnüm oluna bilər.

#### THE SPATIAL STRUCTURE OF MOLECULE ASP-PRO-LYS-GLN-ASP-PHE-MET-ARG-PHE-NH<sub>2</sub>

Sh.N.HAJIYEVA, N.A.AHMADOV

#### SUMMARY

The spatial structure and conformational properties of cardioactive nonapeptide were investigated by using the theoretical method of conformational analysis. The low-energy conformation states of the nonapeptide molecule, the value of dihedral angles of backbone and side chains were determined and the energy intermolecular interactions were evaluated.

**Key words:** cardioactive peptide, conformational analysis, structure.