ISSN 1512-1461

УДК 577.3

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ ГЛИПРОЛИНОВ С ОСТАТКОМ LEU

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

Бакинский Государственный Университет, Институт Физических Проблем
Ул. З.Халилова 23, Баку, AZ-1148, Азербайджан
e-mail: **Abbasli_Rena@mail.ru**

Аннотация

С помощью метода теоретического конформационного анализа было исследовано пространственное строение и конформационные возможности глипролиновых пептидных молекул Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu и Leu-Pro-Gly-Pro. Эти молекулы участвуют в жизненно важных процессах живых организмов и используются в качестве лекарственных препаратов. Потенциальная энергия каждой глипролиновой молекулы рассматривалась как сумма невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Найдены низкоэнергетические конформации пептидных молекул, значения двугранных углов основной и боковых цепей, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий. Расчет показал, что низкоэнергетическими для данных молекул являются свернутые формы основной цепи. Свернутая форма сближает участки основной цепи и боковые цепи аминокислот, входящих в эти молекулы, и приводит к их эффективным взаимодействиям.

Ключевые слова: *конформация, пространственная структура, пептид, молекула*

Здоровье человека – самое важное для нас. В настоящее время многие ученые, работающие в области физики, биологии, химии, информатики трудятся над созданием медицинских препаратов на основе биологически активных пептидных молекул. Известно, что, являясь низко токсичными, пептидные препараты не обладают побочными эффектами. Кроме того, с помощью регуляторных пептидов осуществляется управление всеми биохимическими процессами в живом организме.

Сейчас открываются новые семейства пептидных молекул, изучаются их свойства, создаются на их основе новые лекарственные препараты. Глипролины (короткие пролинсодержащие пептиды) - одно из таких семейств. Эти молекулы имеют широкий диапазон свойств: влияют на свертывающую систему крови, обладают противоязвенными свойствами, модулируют работу иммунной системы, оказывают влияние на деятельность центральной нервной системы. Трипептид Pro-Gly-Pro обладает рядом протекторных и лечебных свойств, повышая устойчивость организма к стрессу [1, 2]. Присоединение этого трипептида к другим олигопептидам с С-конца повышает устойчивость конечной молекулы к действию протеаз и усиливает физиологические эффекты исходного пептида. Это свойство трипептида Pro-Gly-Pro используется для создания лекарственных препаратов на пептидной основе (семакс, селанк) [3, 4].

Глипролины Pro-Gly, Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Gly обладают нейропротективными свойствами, обеспечивают сохранение нормальной функции инсулярной и противосвертывающей систем крови на фоне развития диабета. Ряд аминокислот (Leu, Arg,) участвуют в нормализации уровня триглециридов и баланса липопротеидов, предотвращают риск диабета и атеросклероза. Leu обладает способностью сжигать глюкозу, благодаря чему в организме поддерживается стабильный уровень сахара. Глипролины с отатком Leu

ISSN 1512-1461

улучшают параметры жирового обмена, блокируют накопление жировых отложений в организме [5-7]. Тетрапептид Pro-Gly-Pro-Leu является уникальным средством пептидной природы для профилактики и лечения липидного и углеводного обмена, диабетической энцефалопатии. Коррекция нарушений противосвертывающей и инсулярной систем организма регулируется глипролином Leu-Pro-Gly-Pro [7].

Понять механизмы действия этих биомолекул можно, если решить задачу их структурно-функциональной организации, поэтому изучение пространственного строения пептидов, возможности изменения конформации при взаимодействии с другими молекулами является актуальной проблемой. Целью данной работы является определение структуры глипролинового трипептида Pro-Gly-Pro и тетрапептидов Pro-Gly-Pro-Leu и Leu-Pro-Gly-Pro, которые получаются добавлением к трипептиду остатка Leu с С-конца и с N-конца молекулы.

.

МЕТОД РАСЧЕТА

Компьютерное моделирование, основанное на использовании метода теоретического конформационного анализа и программ, позволяющих получать графическое изображение пространственной структуры молекулы, было выполнено для молекул семейства глипролинов. Метод теоретического конформационного анализа дает возможность рассчитывать трехмерную структуру пептидных молекул исходя из известной аминокислотной последовательности [8]. В расчетах использовалась разработанная специальная классификация (конформация, форма основной цепи, шейп) [8]. Формы остатков определялись областями B, R, L и P двугранных углов основной цепи φ-ψ. При расчете рассматривались развернутые формы дипептидной молекулы (BB, BR, LB, LR, RL, PL, PP- шейп e) и свернутые формы основной цепи (RB, RR, BL, LL, PR, PB- шейп f). Для глицина начальные приближения формировались из низкоэнергетических конформаций (R форма – $\varphi = -90^o$; $\psi = -90^o$; B форма – $\varphi = -90^o$; $\psi = 100^o$; L форма – φ, $\psi = 90^o$ и P форма основной цепи – $\varphi = 90^o$; $\psi = -90^o$). Для аминокислоты пролин учитывались два положения (B форма – $\psi = 130^o$ и R форма – $\psi = -50^o$). Для аминокислотного остатка Leu рассматривались R, B и L формы основной цепи. Положения боковой цепи лейцина определялось четырьмя углами χ^1, χ^2, χ^3 и χ^4.

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учётом невалентных ($E_{нв}$), электростатических ($E_{эл}$), торсионных взаимодействий ($E_{тор}$) и энергии водородных связей ($E_{вс}$). Конформационное состояние каждого аминокислотного остатка обозначалось через X_{ij}, где X - характеризует форму основной цепи остатка (R, B, L, P), а символы ij = 11…,12…,13…,21…, и т.д. отвечают положениям боковой цепи (χ^1, χ^2,…); индекс 1 соответствует значениям углов области $0\text{-}120^0$, индекс 2 – области 120^0 –(-120^0), а индекс 3 – области (-120^0)-0^0. Обозначения и отсчеты углов вращения соответствуют принятой международной номенклатуре [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью метода теоретического конформационного анализа была рассчитана пространственная структура выше перечисленных молекул глипролинов: Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu и Leu-Pro-Gly-Pro. Для нахождения пространственного строения данных пептидных молекул использовалась специально разработанная программа [10]. 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.

Молекула Pro-Gly-Pro. Конформационные возможности трипептида Pro-Gly-Pro были изучены на основе стабильных конформаций монопептидов N-ацетил-L-пролина и L-глицина. Для данного трипептида, содержащего 39 атомов и 7 переменных двугранных

ISSN 1512-1461

углов, возможны 4 шейпа, представленных 16-ю формами основной цепи. Результаты расчета молекулы Pro-Gly-Pro представлены в таблице 1.

Таблица 1

Энергетические вклады (ккал/моль) конформаций молекулы Pro-Gly-Pro

№	Шейп	Конформация	$E_{нв}$	$E_{эл}$	$E_{тор}$	$E_{об}$	$\Delta E_{отн}$
1	ee	BBB	0,5	-4,0	0,8	- 2,8	4,6
2		BBR	-0,1	-3,9	0,7	-3,3	4,1
3		RLB	-1,4	-3,8	0,9	-4,3	3,1
4		RLR	-2,1	-3,6	0,7	-5,1	2,3
5	ef	BRB	-1,2	-3,8	1,1	-3,9	3,5
6		BRR	-2,2	-3,8	0,8	-5,2	2,2
7		RPB	-1,1	-4,1	0,4	-4,8	2,6
8		RPR	-2,8	-4,0	0,5	-6,3	1,1
9	fe	RBB	-0,6	-3,9	0,7	-3,8	3,6
10		RBR	-1,3	-3,8	0,5	-4,5	2,9
11		BLB	-1,1	-3,9	1,1	-3,9	3,5
12		BLR	-1,8	-3,9	0,9	-4,7	2,7
13	ff	RRB	-2,5	-3,4	1,0	-4,9	2,5
14		RRR	-4,3	-3,7	0,7	-7,4	0,0
15		BPB	-0,4	-4,0	1,0	-3,1	4,3
16		BPR	-2,1	-4,3	0,9	-5,5	1,9

Всего было рассчитано 16 форм основной цепи, из них самой низкоэнергетической оказалась форма RRR, которая имеет полностью свернутый ход основной цепи. В глобальной конформации RRR ($\Delta E_{отн}$=0 ккал/моль) энергия невалентных взаимодействий составляет (-4,3) ккал /моль, электростатических (-3,7) ккал/моль и торсионных 0,7 ккал/моль. При этом основной стабилизирующий вклад вносят ди- и трипептидные взаимодействия аминокислотных остатков.

Всего 1,1 ккал/моль проигрывает конформация с полусвернутой формой основной цепи RPR (шейп ef). Конформации с полусвернутой формой шейпа fe проигрывают свыше 3 ккал/моль. Формы с полностью развернутой основной цепью (BBB, BBR, RLB и RLR) уступают по энергии от 2 до 5 ккал/моль. Таким образом, проведенный расчет не обнаружил резкой энергетической дифференциации конформаций по шейпам и формам основной цепи. В энергетический интервал 0-3 ккал/моль попадают 12 конформаций, принадлежащих всем возможным шейпам. Лучшей конформацией с полностью развернутой основной цепью является RLR, а у другой полусвернутой формой основной цепи fe самой низкоэнергетической является конформация BLR. Расчет выявил 20 низкоэнергетических конформаций для трипептида Pro-Gly-Pro (включая граничные области для остатка Gly). Представители каждой формы основной цепи были включены в расчет тетрапептидных глипролировых молекул Pro-Gly-Pro-Leu и Leu-Pro-Gly-Pro.

Важно подчеркнуть, что пролонгированное действие препарата селанк объясняется присутствием именно трипептидного участка Pro-Gly-Pro, который имеет низкоэнергетическую форму основной цепи BLR, то есть полусвернутую [4].

Молекула Pro-Gly-Pro-Leu. Расчет данной тетрапептидной глипролиновой молекулы проводился на основе низкоэнергетических конформаций трипептида Pro-Gly-Pro и стабильных конформаций монопептида N-ацетил-L-лейцина. Для аминокислот учитывались все возможные формы основной цепи. Тетрапептид включал в себя 60 атомов и 15 переменных двугранных углов основной и боковых цепей всех аминокислот, входящих. Всего для тетрапептида Pro-Gly-Pro-Leu было составлено свыше 200 начальных

ISSN 1512-1461

приближений, принадлежащих восьми возможным шейпам и 25 формам основной цепи. Все они были проминимизированы по энергии, оценены их геометрические и энергетические параметры. Специфика аминокислотной последовательности данной пептидной молекулы состоит в том, что боковая цепь аминокислоты Leu является лабильной и объемной, глицин практически не имеет боковой цепи, а пролин имеет жесткую боковую цепь.

Расчет выявил, что для тетрапептидной молекулы Pro-Gly-Pro-Leu в энергетический интервал 0-5 ккал/моль попадают конформации свернутых и полусвернутых шейпов ffe и fff . Для тетрапептида самыми низкоэнергетическими оказались конформации с формой основной цепи RRRR, BPRR, RPRB, имеющих свернутую основную цепь. Расчет показал, что глобальной конформацией молекулы является $RRRR_{3222}$. Низкоэнергетические конформации тетрапептида Pro-Gly-Pro-Leu представлены в табл.2

Таблица 2.

Энергетические параметры низкоэнергетических конформаций глипролинов.

N	Конформация (шейп)	$E_{нв}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{общ}$	$E_{отн}$
Молекула Leu-Pro-Gly-Pro						
1	BRPR (eef)	-13,3	-2,9	1,7	-14,5	0.0
2	BRPB (eef)	-9,8	-3,1	1,1	-11,8	2,7
3	BRRR (eff)	-11,8	-2,77	1,0	-13,4	1,1
4	BRBR (efe)	-11,2	-3,0	1,2	-13,0	1,5
5	BBLR (efe)	-11,0	-2,9	1,5	-12,4	2,1
Молекула Pro-Gly-Pro-Leu						
1	RRRR (fff)	-14,7	-3,7	2,0	-15,4	0,0
2	BPRR (fff)	-12,9	-3,1	1,1	-15,0	0,4
3	RRBR (ffe)	-9,5	-2,7	1,2	-11,0	4,4
4	RPRB (eff)	-13,3	-3,1	2,2	-14,2	1,2
5	RPBL (eff)	-9,0	-3,1	1,9	-10,3	5,1

Основной вклад в энергию этой конформации вносят невалетные взаимодействия (-14,7) ккал/моль, вклад электростатических взаимодействий составляет (-3,7) ккал/моль, а торсионных взаимодействий 2,0 ккал/моль, общая энергия конформации составляет (-15,4ккал/моль). Данная конформация является компактной структурой, так как имеет свёрнутую форму основной цепи, поэтому между аминокислотными остатками молекулы возникают сильные взаимодействия: вклад дипептидных взаимодействий составляет (-7,0) ккал/моль, трипептидных – (-3,7) ккал/моль, тетрапептидных – (-4,9) ккал/моль, причем вклад Leu составляет (-9,5) ккал/моль. Расстояние между N-концевым и C-концевым атомами основной цепи составляет 4,7 A°. Между NH Pro1 и CO группой Leu4 возникает водородная связь($r_0 = 1{,}8A°, E_{hv} = -1{,}1kkal/mol$). Низкая энергия этой конформации обусловлена наличием всех возможных для тетрапептидной молекулы взаимодействий. В энергетический интервал 0-5 ккал/моль попадают конформации пяти форм основной цепи. Низкоэнергетическая конформация RRRR (fff) представлена на рисунке 1.

ISSN 1512-1461

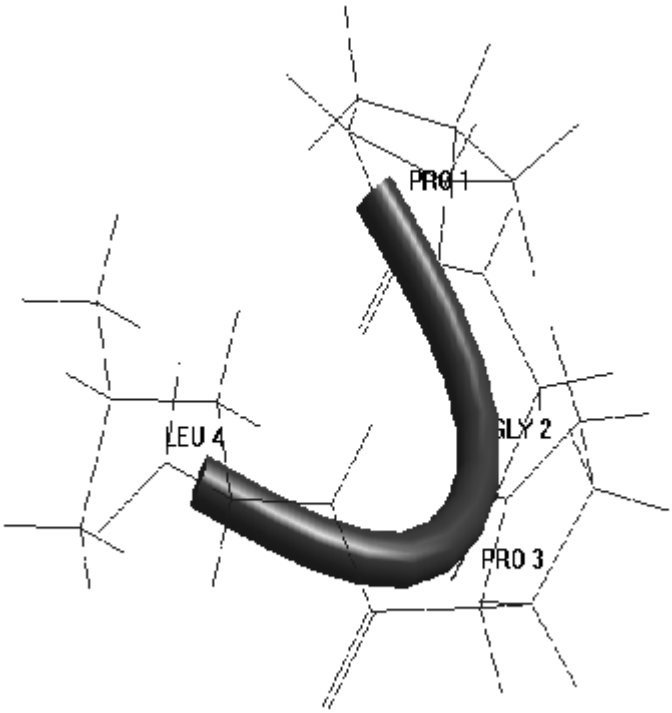

Рис.1

Молекула Leu-Pro-Gly-Pro. В данной тетрапептидной молекуле остаток Leu присоединен к N-концу молекулы. Расчет тетрапептида проводился на основе конформаций монопептида N-ацетил-L-лейцина и низкоэнергетических конформаций трипептида Pro-Gly-Pro. Здесь было составлено свыше 100 начальных приближений, так как стоящий перед Pro остаток Leu может находиться только в B форме основной цепи, так как R форма является высокоэнергетической. Низкоэнергетические конформации принадлежат трем полусвернутым шейпам, пяти формам основной цепи (табл. 2). Низкоэнергетическая конформация BRPR (eef) представлена на рисунке 2.

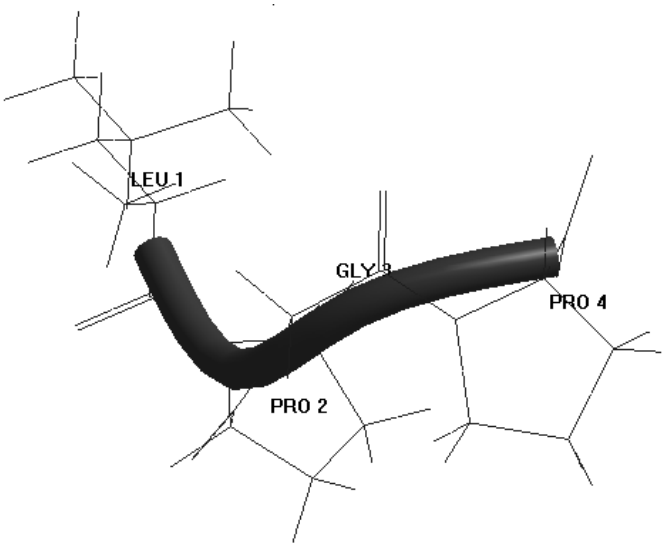

Рис. 2. Низкоэнергетическая пространственная структура глипролина Leu-Pro-Gly-Pro

ISSN 1512-1461

Проведенный расчет пространственной структуры три- и тетрапептидных молекул, принадлежащих семейству глипролинов, позволил определить четкие количественные энергетические и геометрические характеристики. Полученные результаты могут быть использованы для изучения пространственного строения тетрапептидных и гексапептидных молекул глипролинов, а так же исследования конформационных возможностей боковых цепей при взаимодействии с молекулами рецепторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мартынова К.В., Андреева Л.А., Климова П.А. и др. Структурно-функциональные исследования глицин и пролин содержащих пертидов, являющихся нейропротекторами. Биоорг.хим. 2009, том 35. №2, с. 165-171.
2. Falalyeyeva T.M., Samonina G.E., Beregovaya T.V. et all 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, №6, pp.699-701.
3. Григоьева М.Е., Ляпина Л.А. Противосвертывающие и антитромбоцитарные эффекты препарата «семакс» в условиях острого и хронического иммобилизационного стресса. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2010, №1, с.41-46.
4. Козловская М.М. и др. Сравнительный анализ структурно-функциональных особенностей пептидного препарата Селанка. Психофармокол.биол.наркол., 2002. том 2, № 2, с. 203-210.
5. Григорьева М.Е., Ляпина Л.А., Шубина Т.А. и др. Влияние пептида Pro-Gly-Pro-Leu на параметры гемостаза при экспериментальной гиперхолестеринемии. Тромбоз, гемостаз и реология, 2015, №1, с.46-50.
6. Шубина Т.А., Григоьева М.Е., Ляпина Л.А. и др. Гипогликемическая и противосвертывающая активности тетрапептида Pro-Gly-Pro-Leu в условиях гиперхолистеринемии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2014, Т. 158, №7, С. 35-39.
7. Mysoyedov N.F., Andreeva L.A., Lyapina L.A. et all Correction of impairments in functions of anticoagulation and insular systems of an organism by regulatory peptide Leu-Pro-Gly-Pro. Biology Bulletin, 2013, V. 40, №3, P. 304-306.
8. Попов Е.М. Белки и пептиды. М.: Наука, 1995, С.49-52.
9. IUPAC-IUB, Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry. 1988. vol. 39, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
10. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Журнал структурной химии, 1983, Том 24. №4. С.147-148.

Работа содержит 2 рисунка и 2 таблицы.

Работа была доложена на конференции: **International Conference MODERN TRENDS IN PHYSICS 20–22 April 2017, BAKU**

Article received 2017-09-13