

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ОПИОИДНОГО ОКТАПЕПТИДА

Н.А.АХМЕДОВ, Р.М.АББАСЛЫ, Л. И.ИСМАИЛОВА

Институт Физических Проблем,
Бакинский Государственный Университет,

Баку /АЗЕРБАЙДЖАН

Larisa_Ismailova@yahoo.com

РЕЗЮМЕ

Методом теоретического конформационного анализа исследованы пространственное строение и конформационные свойства пептидной молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂, содержащей восемь аминокислотных остатков. Найдены низкоэнергетические конформации октапептидной молекулы, значения двугранных углов основной и боковых цепей всех аминокислот, оценена энергия внутри- и межостаточных взаимодействий.

Ключевые слова: пептид, конформация, структура, молекула

STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE OPIOID OCTAPEPTIDE

ABSTRACT

The spatial structures of the peptide molecule Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂ with eight amino acids were investigated using method of theoretical conformational analysis. Calculations yielded the values of all dihedral angles of the backbone and side chains of the peptide forms as well as intra- and interresidue interaction energies.

Key words: peptide, conformation, structure, molecule

Введение

В настоящее время при создании новых лекарственных препаратов исследователи все чаще обращаются к использованию собственных регуляторов человеческого организма. Нервная система, управляющая жизнедеятельностью организма, имеет свой механизм регуляции функций. Ключевым звеном данного механизма являются регуляторные пептиды. Главными характеристиками этих пептидных молекул являются их высокая эффективность в малых дозах и быстрота действия.

Для того чтобы понять, как работает организм, необходимо постичь природу

действия регуляторных пептидов и выполняемые ими функции, определить их пространственное строение и структурно-функциональную организацию. Выяснение структурно-функциональных свойств пептидов имеет большое прикладное значение в медицине, фармакологии, тесно связанными со всеми процессами жизнедеятельности человеческого организма. Специально разработанная программа [1] позволила изучать пространственную структуру и конформационные свойства этих молекул.

Опиоидные пептиды являются одним из классов нейропептидов, к которым также относятся гипоталамические пептиды, гормоны гипофиза и их фрагменты,

биоактивные пептиды желудочно-кишечного тракта и крови, пептиды – регуляторы сна и некоторые другие. Большой интерес к изучению опиоидных пептидов имеет и в настоящее время [2-5]. Опиоидные пептиды - большая группа физиологически активных пептидов с выраженным сродством к рецепторам опиоидного типа [6-7]. Эти пептиды, обладающие чрезвычайно широким спектром регуляторной активности, обнаружены в различных тканях - как в мозге, так и на периферии. Они образуются в нервной системе, а также пищеварительном тракте, надпочечниках, половых железах, иммунокомпетентных клетках. Опиоидные пептиды оказывают прямое и опосредственное воздействие на нервные клетки в центральной нервной системе. Прямое действие опиоидных пептидов проявляется в виде тормозных или модулирующих эффектов на нейроны, обладающие опиоидными рецепторами [8,9].

Настоящая работа является продолжением серии исследований структурно-функциональной организации опиоидных пептидов [10]. Одним из источников получения опиоидных пептидов являются белки молока, точнее, фракция β -казеина [11-13]. Твердофазным методом были синтезированы фрагменты белка молока с аминокислотной последовательностью Tug-X-Phe, Tug-X₁-X₂-Phe и определена опиоидная активность этих молекул.

Цель данного исследования заключается в изучении структурной организации октапептидной молекулы Tug-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂. Для нахождения пространственного строения этого октапептида использовался теоретический подход, позволяющий рассчитывать трехмерную структуру биомолекул исходя из известной аминокислотной последовательности [14,15]. Специально ве-

денная классификация (конформация, форма основной цепи, шейп) позволили ориентироваться в огромном числе рассматриваемых структур, предполагая, что низкоэнергетическая структура биомолекулы формируется из отдельных структурных блоков меньшей длины, которые потом укладываются в пространственную структуру всей молекулы [16,17]. Формы остатков определялись низкоэнергетическими областями B, R, L двугранных углов основной цепи ϕ - ψ . При расчете рассматривались развернутые формы дипептидной молекулы (BB, BR, LB, LR) и свернутые формы основной цепи (RB, RR, BL). Конформационное состояние каждого аминокислотного остатка обозначалось символом X_{ij}, где X означает одну из возможных форм основной цепи B, R, L, P, а индексы i j = 11..., 12..., 13..., 21...и т.д. обозначают положения углов боковой цепи χ^1 , χ^2 , χ^3 . При этом индекс 1 соответствует значению угла χ в области (0–120°), 2 – (120–120°), 3 – (-120–0°). Отсчет двугранных углов вращения проводился согласно стандартной номенклатуре IUPAC-IUB [18].

Расчет выполнялся в рамках механической модели молекул с учетом невалентных, электростатических, торсионных взаимодействий и энергии водородных связей. Невалентные взаимодействия оценивались по потенциалу Леннарда-Джонса с параметрами Скотта и Шераги [19]. Электростатические взаимодействия рассчитывались в монополярном приближении по закону Кулона с использованием зарядов, предложенных в работе. Конформационные возможности пептидов рассчитывались применительно к условиям водного окружения, поэтому величина диэлектрической проницаемости принята равной 10. Водородные связи, которые оценивались по потенциалам типа Морзе, предполагались ослабленными (максимальная энер-

гия образования водородной связи при $r_0=1,8\text{\AA}$ составляла 1,5 ккал/моль). Торсионные потенциалы и величины барьеров вращения аналогичны величинам, предложенным в работах [19]. Расчет октапептидной молекулы проводился поэтапно. Трехмерная структура молекулы изучена на основе оптимальных конформаций N-концевого гексапептидного фрагмента и C-концевого трипептида. Расчет конформационных возможностей гексапептидного участка Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro и трипептидного фрагмента Pro-Ile-Pro позволили определить пространственную структуру всей пептидной молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂.

Фрагмент Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro. Конформационный анализ данного гексапептидного участка был проведен на основе низкоэнергетических пространственных структур молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-NH₂ и монопептида Pro [10]. Из расчета пентапептида были выбраны 18 конформаций, относительная энергия которых не превышала 10 ккал/моль. Аминокислотный остаток Pro является C-концевым остатком, поэтому он в расчете был взят только в одной В форме основной цепи. Таким образом, было рассчитано всего 18 конформаций гексапептидной молекулы. Относительная энергия конформаций молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro приведена в таблице 1.

Таблица 1. Относительная энергия конформаций молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro

Форма основной цепи	$E_{отн}$	Форма основной цепи	$E_{отн}$
1 B ₁ B B ₂ R ₂ B ₁₂ B	5,5	10 B ₁ R B ₁ B ₃ B ₃₁ B	6,4
2 B ₁ B B ₃ B ₃ B ₃₂ B	9,2	11 B ₁ R B ₁ L ₂ B ₂₂ B	4,4
3 B ₁ B B ₃ L ₂ B ₁₂ B	-	12 B ₁ B L ₂ R ₂ B ₃₂ B	8,7
4 B ₁ B R ₃ R ₂ B ₁₂ B	3,9	13 B ₁ B L ₂ B ₂ B ₃₂ B	9,6
5 B ₁ B R ₃ B ₂ B ₃₂ B	5,6	14 B ₂ R L ₃ R ₂ B ₃₂ B	9,4
6 B ₁ B R ₃ L ₂ B ₃₂ B	8,7	15 B ₂ R L ₃ B ₃ B ₃₂ B	11,7
7 B ₁ R R ₂ R ₂ B ₃₂ B	0	16 B ₂ R L ₃ L ₂ B ₃₂ B	9,4
8 B ₁ R R ₃ B ₃ B ₃₂ B	2,9	17 B ₁ R R ₂ R ₂ L ₃₃ B	1,2
9 B ₁ R B ₁ R ₁ B ₁₂ B	4,0	18 B ₁ R R ₂ B ₃ L ₃₂ B	-

Относительная энергия рассчитанных конформаций изменяется в энергетическом интервале (0–11,7) ккал/моль. В энергетический интервал 0–6 ккал/моль попадают конформации 8 конформаций. Расчет показал, что геометрические параметры и энергетические характеристики N-концевого гексапептида оказались такими же, как и в молекуле Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-NH₂. Прибавление аминокислотного остатка Pro не нарушило сформировавшуюся структуру пентапептида, а наоборот, остаток пролина вступает в эффективные взаимодействия с другими остатками, вклад которых составляет около -9,0 ккал/моль.

Фрагмент Pro-Ile-Pro. Конформационные возможности фрагмента Pro-Ile-Pro рассчитаны на основе стабильных конформаций соответствующих монопептидов пролина и изолейцина. Рассмотрены BBB, RBB, BLB и RLB формы основной цепи при возможных семи положениях боковой цепи остатка Ile. Сам аминокислотный остаток изолейцина рассматривался в двух возможных формах основной цепи, так как он стоит в аминокислотной последовательности молекулы перед пролином, поэтому R форма основной цепи запрещена. Поэтому было рассчитано всего 28 конформаций трипептидного фрагмента. Относительная энергия этих конформаций приведена в таблице 2.

Таблица 2. Относительная энергия конформаций молекулы Pro-Ile-Pro

Положения χ^1, χ^2 боковой цепи Ile	Формы Основной Цепи			
	BBB	RBB	BLB	RLB
12	2,4	0,6	5,8	6,6
21	2,7	1,0	7,8	8,3
22	2,7	1,5	5,7	7,8
23	11,8	10,1	19,3	18,2
31	2,6	2,6	4,1	4,5
32	1,5	0	2,2	1,0
33	2,9	2,0	2,8	1,0

Во всех формах энергетически выгодными являются положения боковой цепи остатка Ile, соответствующие значениям $\chi^1 = -60^\circ$, $\chi^2 = 180^\circ$. Поэтому, в нулевом приближении расчета конформационных возможностей всей октапептидной молекулы были выбраны в каждой форме основной цепи одно положение боковой цепи аминокислотного остатка Ile.

Молекула Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂. Расчет конформационных возможностей гексапептидного участка Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro и трипептидного фрагмента Pro-Ile-Pro позволил изучить пространственную структуру всей окта-

пептидной молекулы. На первом этапе были рассчитаны 70 конформаций при вариации всех двугранных углов основной цепи и боковых цепей. В таблице 3 приведены величины относительной энергии низкоэнергетических конформаций октапептидной молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂.

Рассчитаны также конформации с другими значениями углов боковых цепей остатков Glu и Ile. Эти положения не привели к существенному изменению в энергетическом спектре конформеров. Поэтому, такие конформации не приведены в таблице 3.

Таблица 3. Относительная энергия конформаций молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂

Форма основной цепи		E _{отн}	Форма основной цепи		E _{отн}
1	B ₁ B B ₂ R ₂ B ₁₂ R B ₃₂ B	4,8	8	B ₁ R R ₃ B ₃ B ₃₂ B B ₃₂ B	4,7
2	B ₁ B R ₃ R ₂ B ₃₂ R B ₃₂ B	2,7	9	B ₁ R R ₃ B ₃ B ₃₂ R L ₃₂ B	4,8
3	B ₁ B R ₃ R ₂ B ₃₂ R L ₃₂ B	2,6	10	B ₁ R B ₁ L ₂ B ₂₂ R L ₃₂ B	4,4
4	B ₁ R R ₂ R ₂ B ₃₂ B B ₃₂ B	1,5	11	B ₁ R R ₂ R ₂ L ₃₃ B B ₃₂ B	4,3
5	B ₁ R R ₂ R ₂ B ₃₂ R B ₃₂ B	0,9	12	B ₁ R R ₂ R ₂ L ₃₃ R B ₃₂ B	2,3
6	B ₁ R R ₂ R ₂ B ₃₂ B L ₃₂ B	5,0	13	B ₁ R R ₂ R ₂ L ₃₃ B L ₃₂ B	4,9
7	B ₁ R R ₂ R ₂ B ₃₂ R L ₃₂ B	0	14	B ₁ R R ₂ R ₂ L ₃₃ B L ₃₂ B	3,1

Таблица 4. Геометрические параметры (град.) низкоэнергетических конформаций молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂

Остаток	B R R R B R L B	B R R R L R B B	B B R R B R L B
Tyr 1	3 148 179	4 147 178	1 150 178
	52 82 0	53 81 0	63 85 0
Pro 2	- -63 -170	- -62 -169	- 115 -176
Phe 3	-116 -72 173	-115 -75 176	-89 -58 -179
	171 49	171 50	-58 93
Val 4	-129 -55 -178	-133 -57 -176	-102 -62 180
	176 180 180	175 180 180	180 180 180
Glu 5	-101 140 179	57 64 180	-101 140 178
	-60 180 90	-59 -60 91	-60 180 90
Pro 6	- -53 180	- -50 180	- -54 -176
Ile 7	57 78 180	58 75 178	57 75 178
	-53 -174 172 -172	-50 -173 175 -171	-51 -173 174 -171
Pro 8	- 130 180	- 131 180	- 131 180
Δ E _{отн} (ккал/моль)	0	2,3	2,6
Примечание: значения двугранных углов даны в следующей последовательности φ, ψ, ω, χ ₁ , χ ₂			

Исследование пространственной структуры октапептидной молекулы показало, что при расчете возникает сильная энергетическая дифференциация по конфор-

мациям и формам основной цепи. В достаточно широкий энергетический интервал 0-5 ккал/моль попадают всего 14 конформаций. Численные значения двугранных углов даны в следующей последовательности φ, ψ, ω, χ₁, χ₂

ранных углов вращения ϕ , ψ , ω , χ^1 , χ^2 , для трех наиболее стабильных трехмерных структур представлены в таблице 4,

а величины энергии внутри- и межстаточных взаимодействий для этих конформаций приведены в таблице 5.

Таблица 5. Энергия внутри- и межстаточных взаимодействий (ккал/моль) в конформациях $B_1 R R_2 R_2 B_{32} R L_{32} B$ ($\Delta E_{отн}=0$, верхняя строка), $B_1 R R_2 R_2 L_{33} R B_{32} B$ ($\Delta E_{отн}=2,3$, средняя строка) и $B_1 B R_3 R_2 B_{32} R L_{32} B$ ($\Delta E_{отн}=0$, нижняя строка)

Остаток	Tyr1	Pro2	Phe3	Val4	Glu5	Pro6	Ile7	Pro8
Tyr1	4,2	-3,9	-2,1	-3,7	-5,0	-2,7	-0,2	-1,9
	3,9	-4,0	-1,9	-3,7	-7,3	-0,1	0	-2,0
	3,2	-4,4	-6,0	-0,1	-2,7	-0,2	-0,2	-1,9
Pro2		0,3	-1,2	-0,4	-1,0	-1,3	-0,3	-0,1
		0,3	-1,3	-0,4	-1,2	0	0	-0,1
		0,3	-0,9	-0,5	-0,8	-1,8	-0,5	-0,1
Phe3			0,4	-2,8	-1,0	-0,1	-0,1	0
			0,4	-2,8	-1,4	-0,1	0	0
			-0,1	-1,6	-0,7	-0,1	0	0
Val4				0,5	-1,4	-0,6	-0,1	0
				0,6	-0,2	-2,9	-0,1	0
				0,4	-2,3	-0,6	-0,1	0
Glu5					3,5	-3,0	-3,1	2,5
					4,7	-3,4	-1,0	2,4
					3,5	-3,1	-3,2	2,5
Pro6						0,3	-1,3	-1,4
						0,3	-1,9	-1,0
						0,3	-1,3	-1,6
Ile7							1,2	-4,3
							0,5	-4,0
							1,2	-4,2
Pro8								1,3
								1,3
								1,3

Пространственные изображения низкоэнергетических конформаций октапептидной молекулы представлены на рисунках 1, 2 и 3.

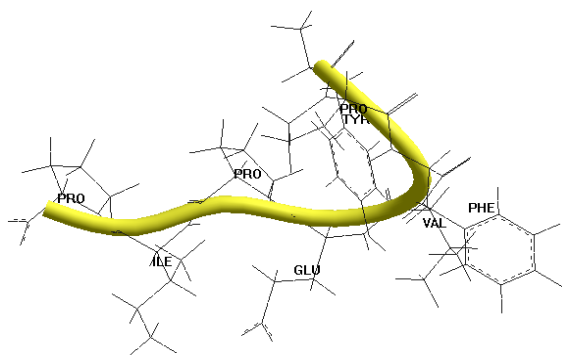


Рисунок 1. Пространственное изображение конформации $B_1 R R_2 R_2 B_{32} R L_{32} B$ ($\Delta E_{отн}=0$ ккал/моль) молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂

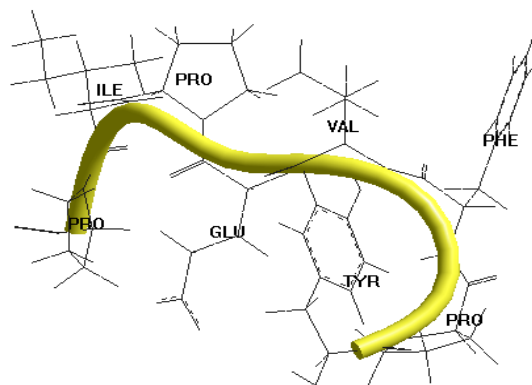


Рисунок 2. Пространственное изображение конформации $B_1 R R_2 R_2 L_{33} R B_{32} B$ ($\Delta E_{отн}=2,3$ ккал/моль) молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂

Самой стабильной конформацией октапептидной молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂ является $B_1 R R_2 R_2 B_{32} R L_{32} B$. Она была самой стабильной и

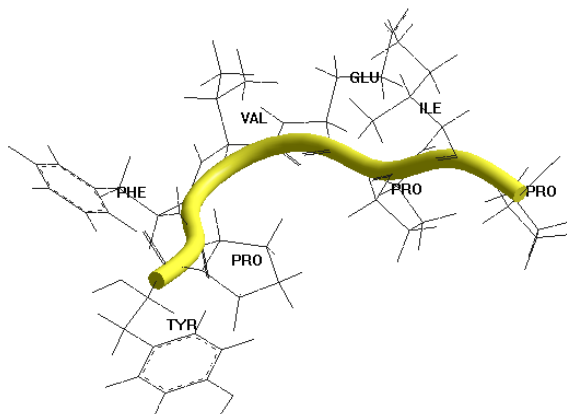


Рисунок 3. Пространственное изображение конформации $B_1 B_3 R_2 B_{32} R L_{32} B$ ($\Delta E_{отн} = 2,6$ ккал/моль) молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂

для ее гексапептидного Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro и трипептидного Pro-Ile-Pro фрагментов. Расчет показал, что боковая цепь глутаминовой кислоты Glu ориентирована в окружающую молекулу среду в самых низкоэнергетических пространственных структурах октапептида, боковая цепь этой аминокислоты принимает положение, самое выгодное с точки зрения межмолекулярных взаимодействий молекулы с водой, что непосредственно не учитывалось в расчете.

Теоретический конформационный анализ молекулы Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-NH₂ привел к такой структурной организации, которая не исключает реализацию данной молекулой целого ряда самых разнообразных функций, требующих строго специфических взаимодействий с различными рецепторами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Максумов И.С., Исмаилова Л.И., Годжаев Н.М. Программа полуэмпирического расчета конформаций молекулярных комплексов на ЭВМ. Журнал структурной химии, 1983, т.24, №4, с.147-148
2. Исмаилова Л.И. Программа расчетов пространственной структуры биомолекул и их комплексов. Elm və təhsildə informasiya-kommunikasiya texnologiyalarının tətbiqi. II Beynəlxalq konfrans materialları, 2007, Bakı, s. 414-417
3. Schneider J.P. Opioids for the Treatment of Chronic Musculoskeletal Pain: Mynts and Misunderstandings. Journal of Musculoskeletal Medicine. 2010
4. Vella-Brincat J., Macleod A.D. Adverse effects of opioids on the central nervous systems of palliative care patients. J Pain Palliat Care Pharmacother. 2007, v.21, №1, p.15-25
5. Fine P.G. Opioid insights: opioid-induced hyperalgesia and opioid rotation. J. Pain Palliat Care Pharmacother, 2004, v.18, №3, p.75-79
6. Mitra S. Opioid-induced hyperalgesia: pathophysiology and clinical implications. J Opioid. Manag. 2008, v.4, №3, p. 123-130
7. McNally G. P., Akil H. Opioid peptides and their receptors: overview and function in pain modulation. Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress. 2002, p.35-46
8. Snyder S.H., Pasternak G.M. Historical review: opioid receptors. Trends Pharmacol. Sci. 2003, v.24, p.198-205
9. Xu Zhang, Lan Bao, Ji-Song Guan. Role of delivery and trafficking of δ -opioid peptide receptors in opioid analgesia and tolerance. Trends in Pharmacological Sciences, 2006, v.27, №6, p.324-329
10. Walwyn W. Induction of δ -opioid receptor function by upregulation of membrane receptors in mouse primary afferent neurons. Mol. Pharmacol., 2005, v.68, p.1688-1689
11. Ахмедов Н.А., Аббаслы Р.М., Исмаилова Л.И. Структурно-функциональная взаимосвязь опиоидных пептидов. Journal of Qafqaz University, 2009, №27, p.33-37
12. Смагин В.Г., Виноградов В.А., Булгаков С.А. Лиганды опиоидных рецепторов, М.: Наука, 1983, с.75-77
13. Гейн С.В., Гейн О.Н., Гаврилова Т.В. Опиоидная регуляция пролиферантного ответа лимфоцитов in vitro. Rus. J. Immunol., 2004, V.9, N 1, p.38-42
14. Угдыжекова Д.С., Маслов Л.Н., Крылатов А.В. К вопросу о специфичности антиаритмического эффекта опиоидных рецепторов. Эксперим. и иммун. Фармакология, 2001, Т.64, №4, с.17-20
15. Попов Е.М. Белки и пептиды, М.: Наука, 1995, с.10-73
16. Popov E.M. // Int.J.Quantum Chem., 1979, V.16, p.707-737
17. Исмаилова Л.И., Аббаслы Р.М., Ахмедов Н.А. Пространственная структура изолейцинового октапептида // Биофизика, 2007, т.52, вып.6, с.1141-1147

18. Исмаилова Л.И., Ахмедов Н.А., Аббаслы Р.М.
Пространственная структура изолейциновых пентапептидов Glu-Phe-Leu-Arg-Ile-NH₂ и Pro-Phe-Tyr-Arg-Ile-NH₂ // Биофизика, 2008, т.53, вып.1, с.14-21
19. IUPAC-IUB, Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry. V.39. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1988
20. Momany F.A., McGuire R.F., Burgess A.W., Scheraga H.A. // J.Phys.Chem., 1975, V. 29, p.2361-2381