

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОГО СТРОЕНИЯ МОЛЕКУЛЫ CYS-ARG-GLU-LYS-ALA

Г.Дж.Аббасова, Л.С.Гаджиева

*Кафедра оптики и молекулярной физики, Бакинский Государственный
Университет, ул.З.Халилова,23, AZ1148, Баку, Азербайджан
Тел.(+994125390507), e-mail: lala-h@mail.ru*

АННОТАЦИЯ

Методом теоретического конформационного анализа изучены низкоэнергетические конформационные состояния молекулы CREKA, нового лекарственного препарата, обладающего противоопухолевым эффектом. Установлены геометрические параметры, энергетические вклады различных видов межатомных взаимодействий в стабилизацию рассчитанных структур.

Ключевые слова: конформационный анализ, пептид, CREKA

ABSTRACT

Low-energy conformational states of the CREKA molecule, new anti-tumors drug were established by the method of theoretical conformational analysis. Geometrical parameters and different types energy contributions stabilized calculated structures were determined.

Key words: conformational analysis, peptide, CREKA

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее перспективные направления в исследованиях структуры и свойств биологических систем на молекулярном и клеточном уровне связаны с нанобиотехнологией, целью которой является управление транспортом лекарственных и диагностических средств. Загруженная наночастица концентрирует в себе несколько десятков тысяч и более молекул лекарственного вещества, что дает возможность эффективного транспорта химических соединений непосредственно к месту доставки без поражения здоровых клеток различных органов и тканей (рис.1).

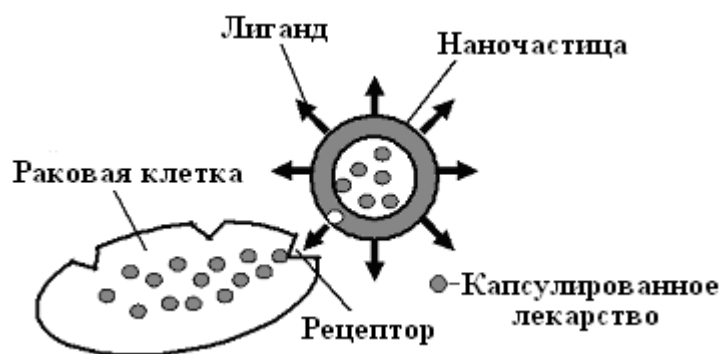


Рис.1 Предполагаемый механизм транспорта лекарственных препаратов с помощью наночастиц

К числу таких лекарственных препаратов, используемых в терапии опухолевых клеток с использованием наночастиц относится соединение, состоящее из пяти аминокислотных остатков Cys1-Arg2-Glu3-Lys4-Ala5 и получившее название CREKA. Препарат CREKA, обладающий ярко выраженным противоопухолевым эффектом в отношении рака простаты был впервые синтезирован в 2006 году американскими учеными из Технологического Университета штата Массачусетс [1]. Впоследствии были изучены его фармакологические свойства [2-7]. В данной работе методом молекулярной механики с использованием вычислительных компьютерных программ исследовано пространственное строение и конформационные свойства молекулы CREKA. Расчеты проводились методом теоретического конформационного анализа по методике, подробно изложенной в работах [8-11]. На основе данных по монопептидным молекулам были поэтапно рассчитаны конформационные состояния фрагментов Arg2-Glu3, Cys1-Arg2-Glu3, Cys1-Arg2-Glu3-Lys4, а затем и всей молекулы CREKA (рис.2).

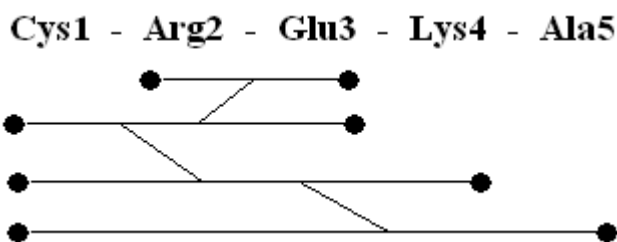


Рис.2 Схема поэтапного расчета молекулы CREKA

При изложении результатов использована стандартная классификация пептидных структур на конформации, формы и шейки [8,9]. Согласно данной классификации, дипептидные формы основной цепи являются сочетаниями R, B, P и L форм в конформационном пространстве каждого аминокислотного остатка. При этом сочетания BB, BR, RL, LB, LR, RP, PL, PP форм описывают структуры с развернутой формой пептидного остова (шейп *e*-«*extended shape*»), а сочетания RB, RR, BL, BP, LL, LP, PR, PB форм - структуры свернутого типа (шейп *f*-«*folded shape*»). Используемая в работе структурная классификация, основанная на количественном анализе вкладов от отдельных внутри- и

межостаточных взаимодействий в пептидной молекуле необходима для объективного выбора конформационных состояний. Отсчет двугранных углов вращения проводился согласно стандартной номенклатуре IUPAC-IUB [12].

Результаты расчетов обобщены в таблицах 1-3, а также на рис.3, где приведены низкоэнергетические конформационные состояния молекулы СРЕКА. Согласно результатам исследования в условиях, максимально приближенных к условиям водного окружения пентапептидная молекула может реализовать около 200 конформационных состояний, полная энергия которых варьирует в интервале $-11.27 \div -5.8$ ккал/моль. Низкоэнергетические конформации каждого из допустимых 12 шейпов для пентапептидной молекулы приведены в табл.1 и на рис.3. Глобальная конформация принадлежит шейпу *ffef* с $RR_2B_3R_3R$ формой основной цепи и лишь на 0.3 ккал/моль выгоднее следующих за ней конформаций с $RR_2B_1B_3R$ (*ffee*-шейп) и $BR_2R_3B_2R$ (*effe*-шейп) формами основной цепи. Как следует из табл.1 глобальная конформация характеризуется выгодными электростатическими взаимодействиями боковых цепей остатков Arg2 и Glu3, несмотря на относительно небольшую величину энергии невалентных взаимодействий. В 80% рассчитанных структур боковая цепь Arg2 участвует в образовании водородной связи с карбоксильной группой в боковой цепи Glu3. В пространственной структуре устойчивых структур положительно заряженные боковые цепи остатков Arg2 и Lys4, как правило, ориентированы в противоположных направлениях.

Таблица 1. Вклады различных видов взаимодействий в низкоэнергетических конформациях молекулы СРЕКА (в ккал/моль)

№	Шейп	Форма	$E_{н-в}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{полн}$	$E_{отн}$
1	ffef	$RR_2B_3R_3R$	-16.0	2.8	1.9	-11.3	0.0
2	ffee	$RR_2B_1B_3R$	-17.4	4.8	2.5	-10.0	0.3
3	effe	$BR_2R_3B_2R$	-17.1	4.1	2.0	-10.9	0.3
4	efff	$BR_2B_3L_3L$	-16.5	2.6	3.1	-10.7	0.5
5	fffe	$RR_2B_3L_3B$	-15.6	2.9	2.3	-10.4	0.9
6	feee	$RR_3L_1B_3R$	-19.8	7.4	2.2	-10.2	1.0
7	fefe	$RR_3L_1L_3B$	-18.6	5.6	2.7	-10.2	1.1
8	feef	$RR_3L_1R_3R$	-20.5	8.4	2.1	-10.0	1.2
9	efef	$BR_2B_3R_3R$	-14.8	2.8	2.0	-9.8	1.5
10	eeef	$BB_2B_3R_3R$	-17.4	6.3	2.6	-8.5	2.8
11	eeee	$BR_3L_1B_3R$	-17.9	7.7	1.9	-8.4	2.2
12	ffff	$RR_2R_3R_3R$	-15.6	4.3	3.4	-7.8	3.4

В конформациях других шейпов-*fffe* и *efff* электростатические наталкивания атомов положительно заряженных боковых цепей Arg2 и Lys4 компенсируются образованием водородной связи как между боковыми цепями остатков Arg2 и Glu3, так и атомами их основной цепи (табл.2). Можно предположить, что Glu3 является центром электростатической стабилизации, так как участвует как в

невалентных взаимодействиях, так и в электростатических контактах с соседними по цепи остатками. В таблице 3 приведены значения двугранных углов некоторых низкоэнергетических конформационных состояний молекулы CREKA, которые могут быть использованы для дальнейшего моделирования конформационной динамики соединения и изучения структуры его аналогов.

Таблица 2. Водородные связи в низкоэнергетических конформациях молекулы CREKA

Шейп	Форма	Водородные связи	Длина водородной связи, Å	Энергия водородной связи, ккал/моль
ffef	RR ₂ B ₃ R ₃ R	N ^δ H(Arg2)...COO(Glu3)	2.73	-0.18
ffee	RR ₂ B ₁ B ₃ R	NH(Glu3)...COO(Glu3)	2.50	-0.34
effe	BR ₂ R ₃ B ₂ R	N ^δ H(Arg2)...COO(Glu3)	2.33	-0.54
efff	BR ₂ B ₃ L ₃ L	N ^δ H(Arg2)...COO(Glu3)	2.91	-0.11
fffe	RR ₂ B ₃ L ₃ B	N ^δ H(Arg2)...COO(Glu3)	2.78	-0.15
feee	RR ₃ L ₁ B ₃ R	NH(Cys1)...COO(Glu3)	1.98	-1.25
		NH(Arg2)...COO(Glu3)	2.20	-0.76
fefe	RR ₃ L ₁ L ₃ B	NH(Cys1)...COO(Glu3)	2.06	-1.05
		NH(Arg2)...COO(Glu3)	2.25	-0.68

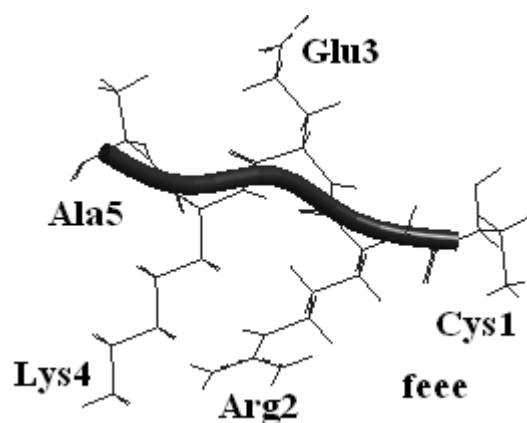
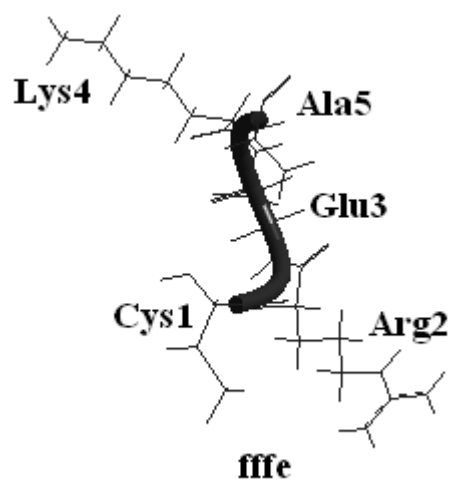
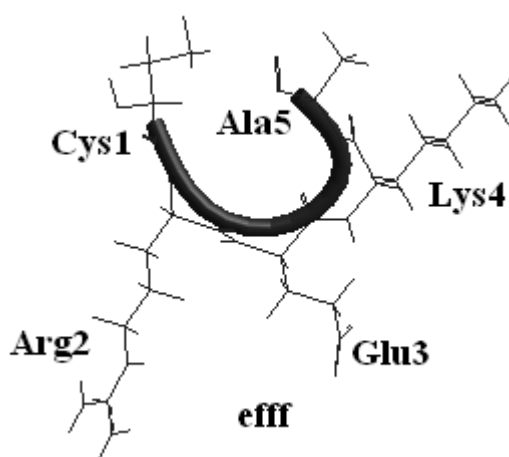
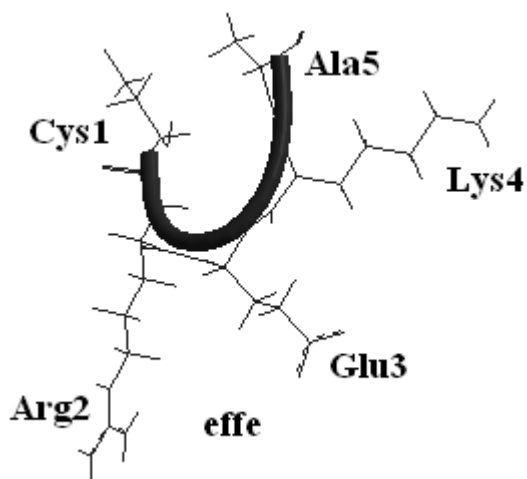
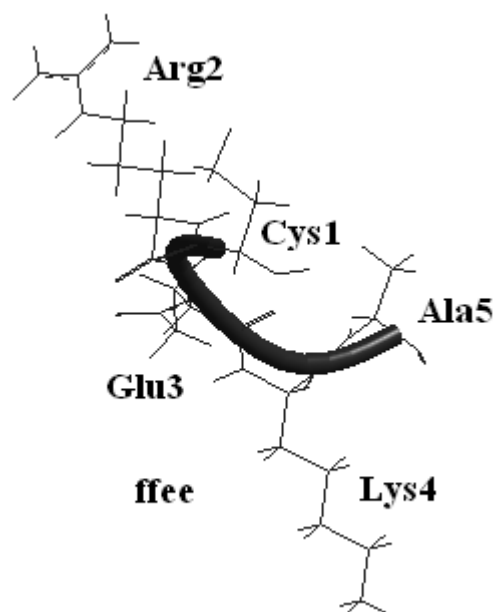
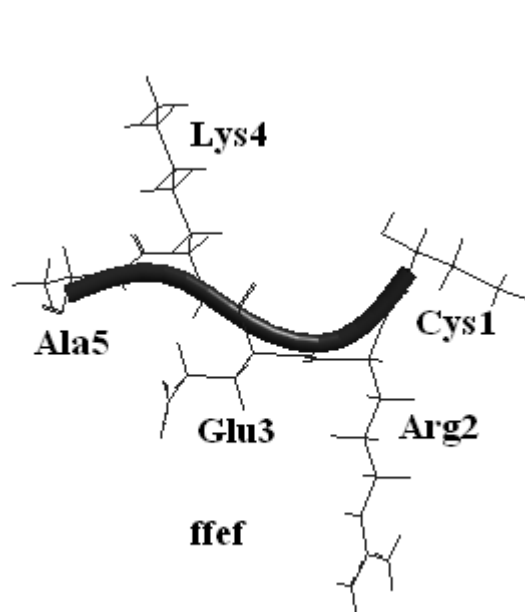
Таблица 3. Двугранные углы в низкоэнергетических конформациях молекулы CREKA по данным конформационного анализа

Остаток	Форма и шейп пептидной цепи				
	RR ₂ B ₃ R ₃ R (ffef)	RR ₂ B ₁ B ₃ R (ffee)	BR ₂ R ₃ B ₂ R (effe)	BR ₂ B ₃ L ₃ L (efff)	RR ₂ B ₃ L ₃ B (fffe)
Cys1	*-73,-55,180 176	-76,-52,180 179	-83,72,181 178	-83,76,181 180	-77,-57,179 176
Arg2	-104,-59,178 177, 185,176,181	-92,-56,178 178,182,17 8,181	-116,- 63,177 175, 187,171,180	-119,- 63,179 179,185,177 ,181	-108,-61,178 177,183,177, 181
Glu3	-99,137,185 -54, -69,166	- 147,173,18 0 43, 60, 67	-96,-52,183 -55,-66,154	-94.140,187 -56, -70,167	-98,143,186 -55,-70,168

Lys4	-117,-61,184 - 61,179,179,1 79,	-90,95,180 - 60,181,181, 181	- 114,123,175 180,179,180 ,180,	54, 65 ,184 - 57,179,181, 180	55, 68, 181 - 57,180,180,1 80
Ala5	-88,-52,178, 180	-84,-55,179 180	-83,-54,180 181	50,56,188 -59	- 113,141,183 61

*Примечание: Величины двугранных углов даны в последовательности: φ , ψ , ω (основная цепь, верхняя строка), χ_1 , χ_2 , χ_3 , χ_4 (боковая цепь, нижняя строка).

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что конформационно устойчивым в структуре молекулы СРЕКА является остаток аргинина. Во всех низкоэнергетических конформациях рассчитанных шейпов он находится в R-области конформационного пространства, а для его боковой цепи предпочтительны полностью вытянутые конформации. Иная картина наблюдается для остатка Glu3, который с равной вероятностью может находиться как в R-, так и в B-областях конформационного пространства. Боковая цепь Glu3 реализует предпочтительно структуры свернутого типа, благодаря чему может образовывать водородные связи не только с боковой цепью Arg2, но и с собственной основной цепью в конформации с $RR_2V_1V_3R$ шейпа *ffe*, а также с атомом водорода пептидной группы в основной цепи соседних по цепи остатков, например с NH-группой остатков Cys1 и Arg2 в конформациях с $RR_3L_1V_3R$ и $RR_3L_1L_3V$ -формами основной цепи. Наиболее конформационным подвижным в структуре молекулы СРЕКА является остаток лизина; он может реализовывать большое число конформационных состояний с вытянутой боковой цепью. Как следует из результатов расчета Lys4 образует наименьшее число благоприятных контактов и, в основном, не участвует в образовании водородных связей с карбоксильной группой боковой цепи Arg2.



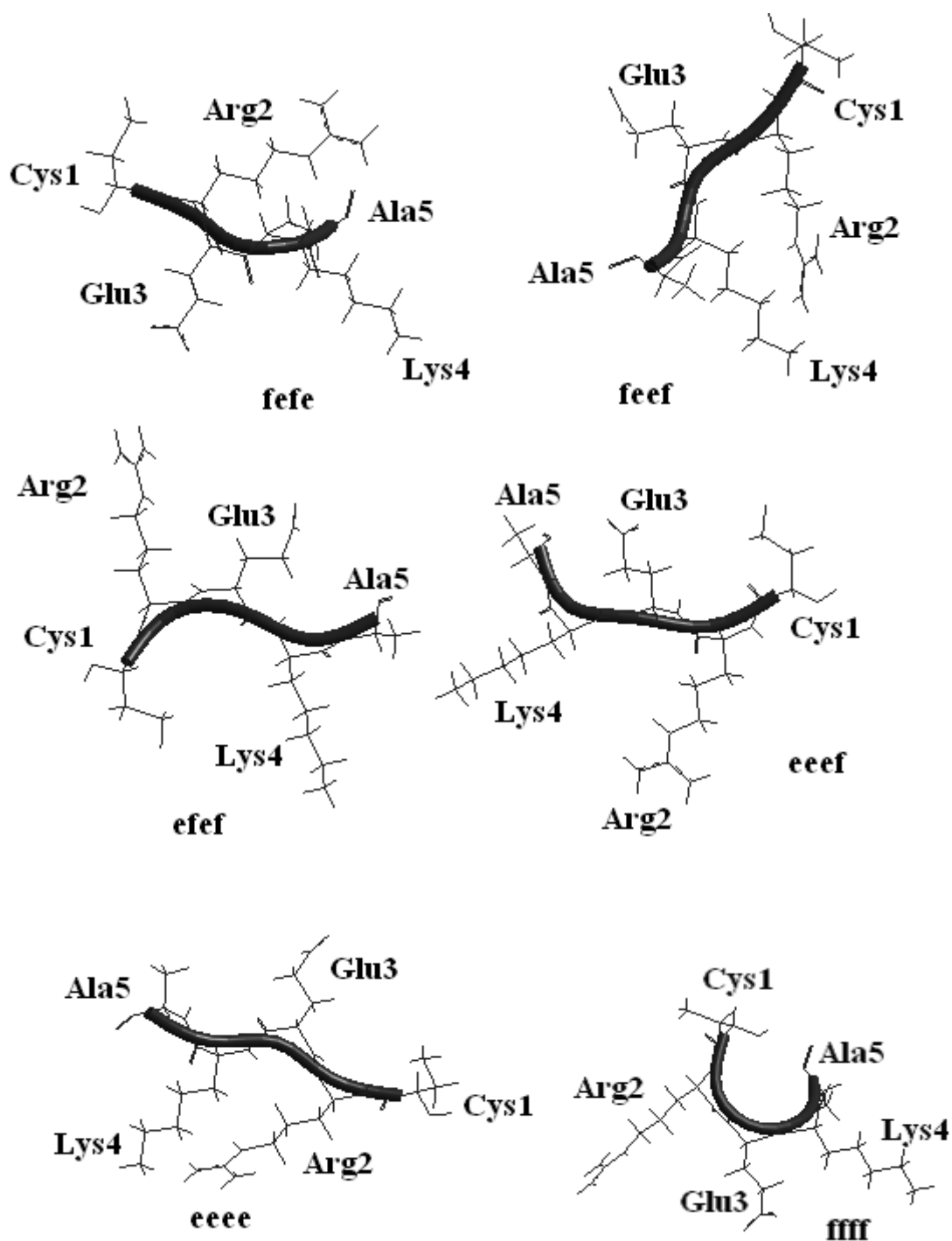


Рис.3 Низкоэнергетические конформационные состояния молекулы CREKA по данным теоретического конформационного анализа

Полученные результаты будут использованы для молекулярного моделирования аналогов молекулы CREKA и изучения их структурно-функциональной взаимосвязи с целью выявления общих элементов пространственной структуры, ответственных за фармакологические эффекты исследуемого соединения. Такие исследования могут быть основой для

последующего синтеза новых лекарственных препаратов с управляемым терапевтическим эффектом.

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 (116), 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. Попов Е.М. // *Int.J.Quantum Chem.*, 1979, v.16, p.707-737.
9. Попов Е.М. Структурная организация белков. // М. Наука, 1989, 352 с.
10. Momany F.A., McGuire R.F, Burgess A.W., Scheraga H.A. // *J.Phys.Chem.*, 1975, v.79, p. 2361-2381.
11. Липкинд Г.М., Архипова С.Ф., Попов Е.М. // *Журнал структурной химии*. 1970, т. 11, с. 121-126.
12. IUPAC-IUB, *Quantity, Units and Symbols in Physical Chemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, v.39, 1988.