

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

БИОФИЗИКА

(ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК)

МОСКВА

3. Сапежинский И.И., Лозовская Е.Л. // Радиация. Биология. Радиоэкология. 1993. Т.33, вып.1. С.591.
4. Hendriksen T., Dahlback A., Larsen S.H.H., Moan J. // Photochem. Photobiol. 1990. V.51. P.579.
5. Castell J.V., Gomezlechón M.J., Hernandez D. et al. // Photochem. Photobiol. 1994. V.60, № 6. P.586.
6. Kristensen S., Wang R.H., Tonnesen H.H. et al. // Photochem. Photobiol. 1995. V.61, № 2. P.124.
7. Ferguson J. // 6th Congress ESP. Book of abstracts. 1995. P. 42.
8. Urbach F. // Ibid. P.43.
9. Canudas N., Vargas F. // Ibid. P.72.
10. Selvaag E., Anholt H., Moan J. // Там же. P.74.
11. Navaratnam S., Gibbs N.K. // Там же. P.95.
12. Жамъянсүрен Д., Бүргэдбаатар Б., Сэлэнгэ Д. и др. // Биофизика. 1993. Т.38, вып. 6. С.1094.
13. Van den Broeke L.T., Beijersbergen van Henegouwen G.M.J. // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 1993. V.17. P.279.
14. Van den Broeke L.T., Beijersbergen van Henegouwen G.M.J. // Int. J. Radiat. Biol. 1993. V.63. P.493.
15. Ibbotson S.H., Diffey B.L., Farr P.M. // 6th Congress ESP. Book of abstracts. 1995. P.7.
16. Сапежинский И.И. // Биополимеры: кинетика радиационных и фотохимических превращений. М.: Наука, 1988. С.216.
17. Лозовская Е.Л., Каплунский Г.Д., Сапежинский И.И. // Биофизика. 1990. Т.35, вып.6. С.912.
18. Сапежинский И.И., Лозовская Е.Л. // Хим. физика. 1995. Т.14, № 10. С.126.
19. Lozovskaya E.L., Makareeva E.N., Sapezhinskii I.I. // 6th Congress ESP. Book of abstracts. 1995. P.104.
20. Lozovskaya E.L., Sapezhinskii I.I. // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. (In press).
21. Лозовская Е.Л., Сапежинский И.И. // Журн. физ. химии. 1990. Т.64, №4. С.1012.
22. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 1988. Т.1,2.
23. Лозовская Е.Л., Сапежинский И.И. // Биофизика. 1993. Т.38, №1. С. 31.

Институт биохимической физики РАН, Москва

Поступила в редакцию
22.12.1995,
после доработки
19.09.1996

PHOTOSENSITIZATION AND PHOTOPROTECTION BY SOME DRUGS, METABOLITES AND OTHER COMPOUNDS

E.L. LOZOVSKAYA, E.N. MAKAREEVA, Yu.V. MAKEDONOV, I.I. SAPEZHINSKY

Institute of Biochemical Physics, Russian Acad.Sci., Moscow

Photosensitizing and photoprotecting efficiency of about a hundred of compounds, mainly drugs, was studied. The method based on chemiluminescence occurred along with photooxidation of glycyltryptophan under irradiation in UVB range in solution was used for testing. As a measure of photosensitizing efficiency the concentration of photosensitizer which induced two-fold increase of chemiluminescence intensity was chosen. The most effective photosensitizers are riboflavin, FAD, furagin, psoralene, vicasol, benzobarbital, mydocalm, angelicin, furadonin, ethacridin, diazolin, folic acid. With regard to pharmacological doses of drugs in organism more dangerous sensitizers (in descending order) are p-aminosalicylic acid, furagin, riboflavin, benzobarbital, thiopental, chloramphenicol, nicodin, mydocalm, furadonin, oxolonic acid, furazolidone, psoralene, nicotinamide and diazolin. Photoprotecting effect was described by the concentration at which chemiluminescence intensity decreased twice. The most effective photoprotectors are etamsilat, quercetin, fluvazid, chlorpromazine, diprazine, thioridazine, aminophenazone, oxaphenamide. Concentration dependence for some of these drugs (etamsilat, chlorpromazine, diprazine, thioridazine) is non-monotonous: they inhibit photooxidation in low concentration (about 10^{-7} – 10^{-6} M), but at higher concentrations (10^{-5} – 10^{-4} M) photosensitization dominates over photoprotection.

© 1997 г. К.В. ШАЙТАН, М.Д. ЕРМОЛАЕВА, Н.К. БАЛАБАЕВ, А.С. ЛЕМАК, М.В. ОРЛОВ

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА ОЛИГОПЕПТИДОВ. 2. КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ФУНКЦИИ ВНУТРЕННИХ СТЕПЕНЕЙ СВОБОДЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ДИПЕПТИДОВ

Предлагается молекулярно-динамический метод изучения корреляции флуктуаций в молекулах с конформационной подвижностью на примере модифицированных дипептидов. Проводится сравнение результатов для разных типов торсионных углов и межатомных расстояний. Устанавливается связь между химической структурой пептида и особенностями внутренней динамической корреляции. Обсуждается вопрос о динамическом изоморфизме аминокислотных остатков.

В настоящее время имеется весьма ограниченное число работ по сравнительному изучению динамических свойств относительно простых биополимеров с целью установления основных физико-химических закономерностей или правил, определяющих динамическое поведение аминокислотных остатков и других элементарных «кирпичиков», составляющих макромолекулу. Данная статья продолжает начатую в [1] серию работ, восполняющую этот пробел. Изучение внутренней динамической корреляции в системах с конформационной подвижностью важно также и с точки зрения развития общих представлений молекулярной физики. В конформационно лабильных системах неприменимо приближение нормальных мод [2], которое хорошо себя зарекомендовало в динамике жестких молекул и кристаллов. Глубокая причина этого состоит в принципиально различном топологическом устройстве гиперповерхностей уровней потенциальной энергии для этих систем [3,4]. Обсуждение вопроса о конкретном строении гиперповерхностей уровней потенциальной энергии пептидов будет проведено в следующей статье. Ниже мы рассмотрим лишь конкретные динамические эффекты, обусловленные, в конечном счете, особенностями химической структуры пептидов.

Метод расчета и требования, предъявляемые к траекториям, были подробно обсуждены в [1]. Отметим здесь, что нами использовался метод столкновительной динамики [5], причем считалось, что при поворотах вокруг одинарных связей в параметры торсионных потенциалов включены и ван-дер-ваальсовы взаимодействия атомов, соединенных непосредственно с образующими эту связь атомами. Длина траекторий составляла 5000 пс и использовалась эффективная температура 1000 К. Это позволяло достаточное число раз (для получения статистически надежного результата) просканировать доступные области конфигурационного пространства. Траектории при этом обладают свойствами эргодичности в том смысле, что относительные вероятности пребывания фигуративной точки в разных областях практически следуют каноническому распределению, а переход к более низким температурам может быть осуществлен стандартным образом [6].

В данной работе основное внимание уделено серии модифицированных дипептидов Gly-Asp, Gly-Lys, Asp-Asp, Asp-Lys и Tyr-Trp. С целью уменьшения влияния на динамику краевых эффектов от сильно полярных концевых групп N—конец дипептидов закрывался ацетилом, а C—конец — N-метиламином с образованием двух дополнительных пептидных связей (рис.1). Эффекты влияния этих замен на эффективные атомные заряды определены в [7]. Общая структура молекул и обозначения торсионных углов показаны на рис.1. В численных

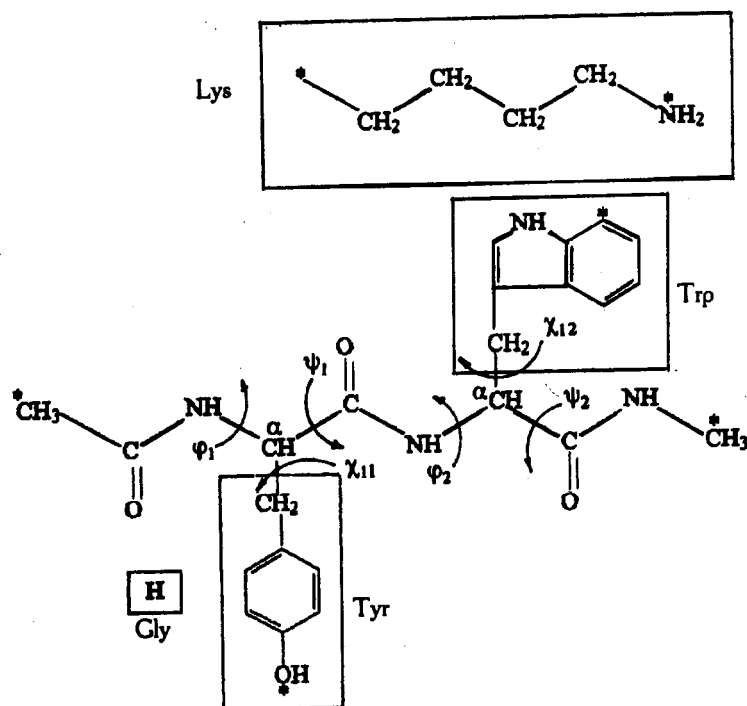


Рис.1. Структура молекул модифицированных дипептидов. Показан случай Tyr-Trp. Рамками обведены боковые группы, замещаемые при варьировании типа аминокислотного остатка. Звездочки – выделены атомы, положения которых обсуждаются в тексте. Рядом в рамках показаны боковые группы, для молекулы Gly-Lys

экспериментах использовалась тяжелоатомная модель молекулы. Потенциальная энергия молекулы $U(r)$ имеет составляющие, отвечающие деформациям валентных длин и валентных углов, торсионных углов, ван-дер-ваальсовым и кулоновским не валентным взаимодействиям, а также водородным связям. Параметры силовых взаимодействий и парциальные заряды на атомах полипептидной цепи были взяты из работы [8], причем учитывались все парные взаимодействия. Диэлектрическая проницаемость среды отвечала условиям вакуума. Использовалась также процедура фиксации псевдоторсионных углов для блокирования переходов, приводящих к изменению хиральности аминокислотных остатков. В рамках метода столкновительной динамики [1,5] использовалась виртуальная столкновительная среда, причем поддержание заданной эффективной температуры осуществлялось за счет импульсов случайной силы, действующей на каждый тяжелый атом. Средняя частота столкновений с каждым атомом выбиралась равной 100 ps^{-1} , что отвечает ситуации растворителя с относительно небольшой вязкостью. Виртуальные столкновения происходили по закону упругих шаров. Распределение импульсов частиц «среды» с массой $m=18$ (масса H_2O) соответствовало заданной температуре. Интегрирование системы уравнений движения проводилось с шагом 1 фс, а запись траекторного файла осуществлялась через 0,1 пс.

Полученные траектории анализировались с помощью корреляционных функций нескольких типов. В данной работе рассматриваются авто- и кросскорреляционные функции отклонений положений атомов от их средних значений:

$$F_{ijkl}(\tau) = \langle \delta R_{ij}(t + \tau) \delta R_{kl}(t) \rangle, \quad (1)$$

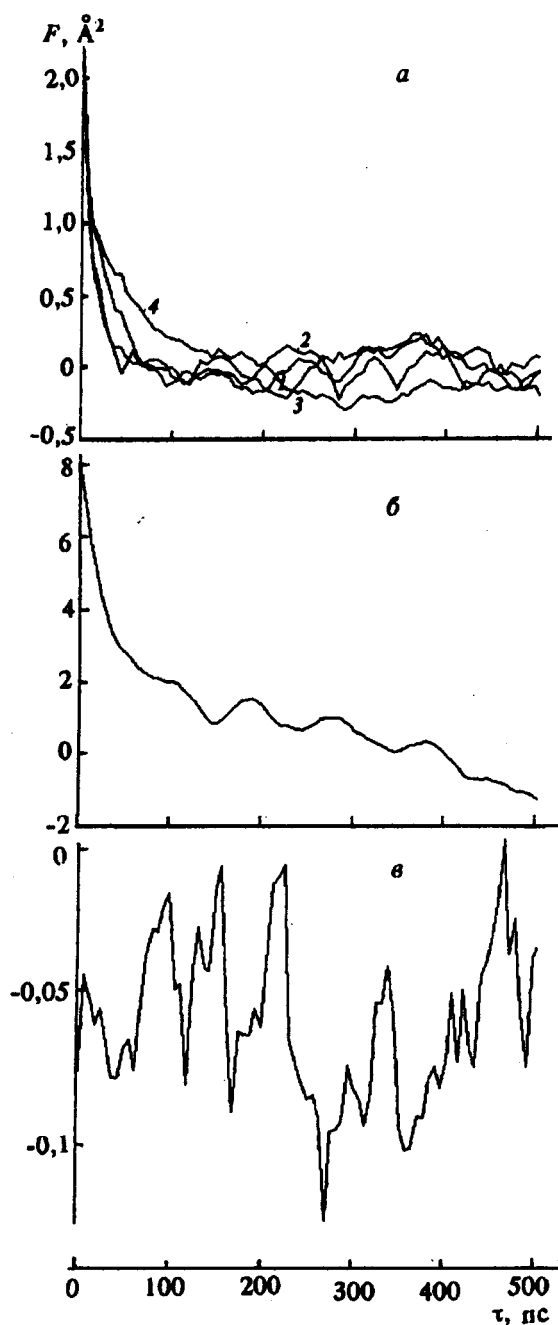


Рис.2. Корреляционные функции (1) для межатомных расстояний; а – автокорреляционные функции для отклонений от средних значений расстояния между крайними CH_3 -группами: 1 – Asp-Asp, 2 – Asp-Lys, 3 – Gly-Asp, 4 – Tyr-Tyr; б – то же для атомов, отмеченных звездочками в Tyr-Tyr; в – кросс-корреляционная функция (1) для отклонений расстояний между концами полипептидной цепи и концами боковой группы от их среднего значения в Gly-Lys

где $\delta R_{ij}(t)$ и $\delta R_{kl}(t)$ – отклонения расстояний между атомами i, j и k, l соответственно в момент времени t . Изучение корреляционных функций (1) позволяет определить характерные времена корреляции, а также амплитуды и взаимозависимость атомных смещений.

На рис.2,а приведены автокорреляционные функции для отклонения расстояния между концевыми CH_3 -группами в главной цепи от средних значений. Эффекты боковых заместителей при этом относительно невелики и лишь в случае наиболее массивных групп (Tyr-Tyr) время корреляции для флуктуаций расстояния между концами цепи возрастает примерно в 2,5 – 3 раза (до ~ 100 пс). Средний квадрат амплитуды флуктуаций этой величины вокруг средних значений составляет порядка $2 \text{ \AA}^2$. Однако амплитуда флуктуаций вокруг среднего расстояния между атомами, помеченными (*) в фенольной и индольной группировках в Tyr-Tyr (рис.1) существенно больше (порядка $8 \text{ \AA}^2$), что указывает на значительно большую подвижность боковых групп по сравнению с пептидной цепью (рис.2,б). Вид кросс-корреляционной функции (1) для флуктуаций расстояний (относительно средних значений) между концевыми CH_3 -группами основной пептидной цепи и C_α - и N-концами боковой группы лизина в Gly-Lys (рис.2,в) указывает на скоррелированность этих движений. Так как значения кросс-корреляционной функции в основном отрицательные, то можно сделать вывод, что растяжение боковой группы лизина происходит с большей вероятностью при относительном сжатии основной полипептидной цепи и, наоборот, уменьшение эффективной длины боковой группы более вероятно при увеличении расстояния между концами основной цепи. Это обусловлено стерическими эффектами

при взаимодействии атомов боковой группы лизина с атомами пептидной цепи. В рассматриваемых молекулах пространственные смещения атомов обусловлены, главным образом, конформационными степенями свободы или вращениями по торсионным углам. Более того, пространственное смещение атомов можно выразить в виде суммы вкладов от вращений по торсионным углам. Для характеристики конформации молекулы использовались величины торсионных углов главной цепи и боковых групп: $\varphi_1, \psi_1, \omega_1, \varphi_2, \psi_2, \omega_2, \chi_{11}, \chi_{21}$ и т.д. (см. рис.1), причем первая цифра в индексе χ обозначает номер остатка. Здесь и ниже обозначения даны в соответствии с рекомендациями [9].

Для изучения вкладов этих степеней свободы в динамику молекул предлагается ниже использовать нормированные авто- и кросскорреляционные функции торсионных углов следующего вида:

$$F_{\alpha\beta}(\tau) = \langle e^{i(\alpha(t) - \alpha(t+\tau))} e^{-i(\beta(t) - \beta(t+\tau))} \rangle - \langle e^{i(\alpha(t) - \alpha(t+\tau))} \rangle \langle e^{-i(\beta(t) - \beta(t+\tau))} \rangle, \quad (2)$$

где α и β – величины торсионных углов в соответствующие моменты времени (t и $t+\tau$).

Для сравнения мы также приводим корреляционные функции вида

$$\Phi_{\alpha\beta}(\tau) = \langle e^{i(\alpha(t) - \alpha(t+\tau))} e^{-i(\beta(t) - \beta(t+\tau))} \rangle. \quad (3)$$

Функции (3) оказываются существенно менее удобными для анализа корреляции флуктуаций и основное внимание ниже уделяется функциям (2). Среднее вычисляется по всей длине траектории (по времени t). Необходимая информация содержится в зависимости от времени реальных частей корреляционных функций $\text{Re } F(\tau)$. По этим зависимостям и по их Фурье-спектру можно судить о характерных временах движения и типах динамического поведения торсионных углов. Выбор математической структуры корреляционных функций торсионных углов диктуется геометрическими соображениями о характере связи между значением угла и положением атомной группы в пространстве (рис.3). Формальное использование угловой переменной (см., например, [8]) для построения корреляционных функций оказывается совершенно неприемлемым для длинных траекторий, когда становятся возможными повороты на большие углы. Если углы, входящие в выражение (2) и разделенные соответствующими моментами времени, являются независимыми случайными величинами, то определенная выше функция обращается в нуль. Функция (2) построена таким образом, что при согласованном движении углов α и β значение ее вещественной части возрастает (рис.3).

Для каждого дипептида рассчитывался набор корреляционных функций на интервалах τ от 0 до 500 пс. Увеличение временного интервала для корреляционных функций при сохранении приемлемой точности вычислений требует пропорционального увеличения длины траекторий. Исследование корреляционных функций и их Фурье-преобразований выявило следующее. Наблюдается три типа поведения автокорреляционных функций: с относительно быстрым затуханием, медленным затуханием и сочетанием быстрой и медленной фаз. Во всех случаях максимальный вклад в движение дает мода с нулевой частотой, соответствующая ограниченной диффузии [3,10].

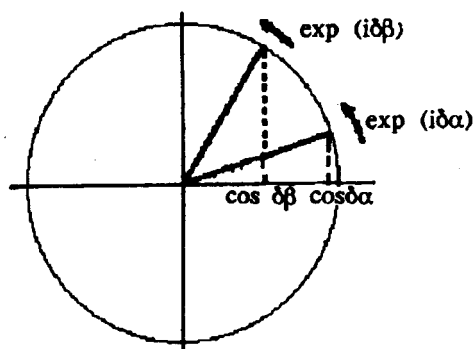


Рис.3. Связь между пространственным положением атомов и комплексной экспонентой от торсионного угла

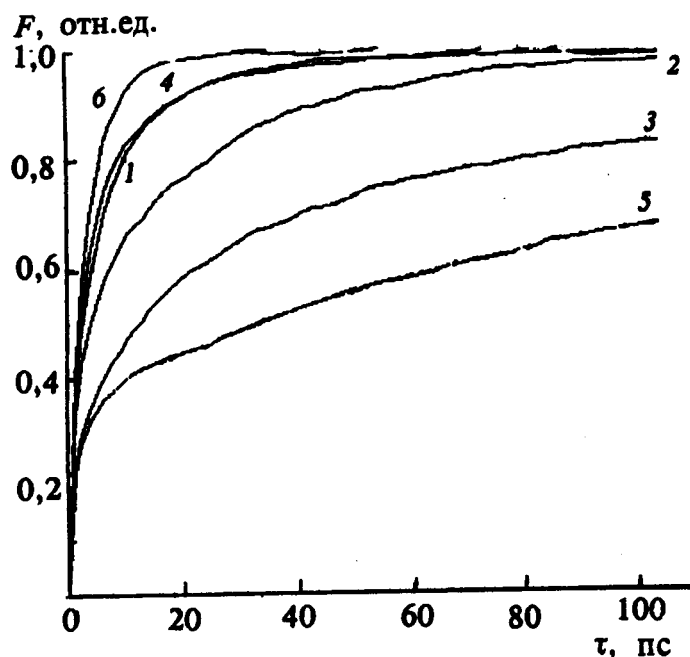


Рис.4. Автокорреляционные функции типа (2) для торсионных углов в Asp-Asp ϕ_1 (1) и в Tyr-Tyr ϕ_1 (2), ψ_1 (3), χ_{11} (4), ϕ_2 (5), ψ_2 (6). Кривые 1 и 4 иллюстрируют динамический изоморфизм для соответствующих степеней свободы

Предельный случай корреляции соответствует $\alpha = \beta$ (рис.4.). Изучение автокорреляционных функций этого типа показывает, что характерные времена корреляции для торсионных углов в рассматриваемых условиях составляют порядка 10 пс. Для отдельных степеней свободы массивных боковых групп в Tyr-Tyr эти времена достигают значений порядка 100 пс (рис.4). Чем ближе значение автокорреляционной функции типа (2) на рис.4 к 1, тем менее скоррелированы между собой значения торсионного угла в моменты времени, разделенные интервалом τ . Если за изучаемый отрезок времени происходит относительно свободное вращение по торсионному углу, то соответствующая автокорреляционная функция выходит на предельное значение порядка 1. Если по каким-либо причинам имеются области преимущественной локализации значений торсионного угла, то значение автокорреляционной функции типа (2) окажется существенно меньше 1, что имеет место, например, для углов ψ_1 и ϕ_2 в модифицированном Tyr-Tyr (рис.4). На этом же рисунке следует обратить внимание также и на определенное замедление флуктуаций, например, угла ϕ_1 при переходе от Asp-Lys к Tyr-Tyr, что обусловлено большей массой фенольного остатка по сравнению с карбоксильной группой. Было бы ошибкой считать, что степени свободы одного типа ведут себя подобным образом. Это подтверждает и сравнение автокорреляционных функций для торсионных углов ψ_1 и ψ_2 в Tyr-Tyr. С другой стороны, в дипептидах имеет место удивительное, на первый взгляд, явление (см. также [11]). Корреляционные функции для некоторых степеней свободы (в каждом конкретном случае разных) ведут себя одинаково с высокой точностью. Пример приведен на рис.4 для угла ϕ_1 в Asp-Lys и угла χ_1 тирозинового остатка в Tyr-Tyr.

Сравнительный анализ автокорреляционных функций торсионных углов показал, что в целом ряде случаев наблюдаемые зависимости подобны друг другу

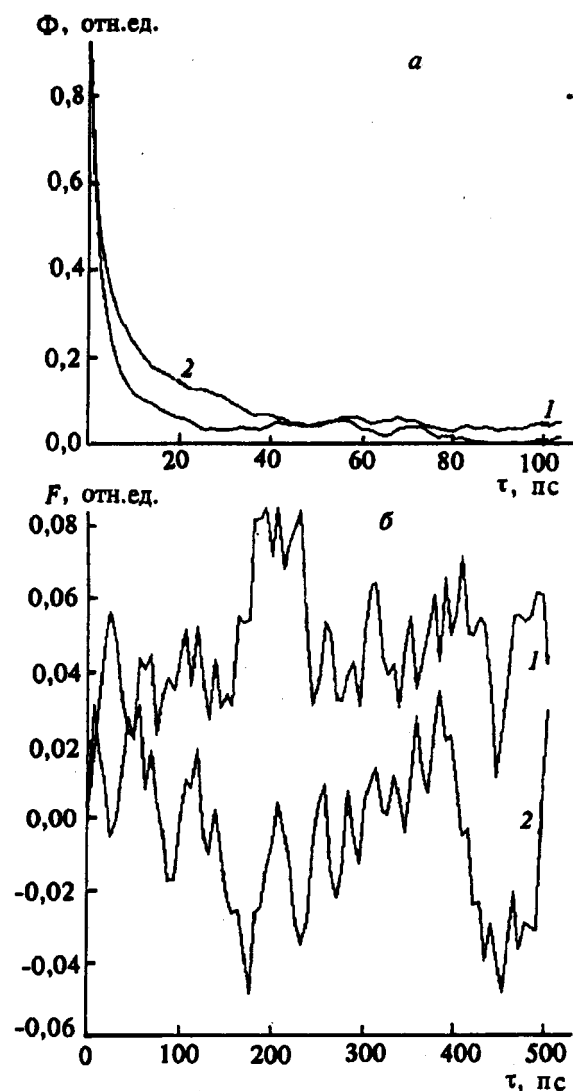


Рис.5. Сравнение кросскорреляционных функций a – типа (3) и b – типа (2) для пар торсионных углов $\varphi_2\chi_{21}$ – 1 и $\varphi_1\psi_1$ – 2 на примере дипептида Asp-Asp. В паре динамических переменных 1 имеется частичная корреляция. В паре 2 корреляция практически отсутствует

с высокой точностью. Это явление мы называем динамическим изоморфизмом. Динамический изоморфизм наблюдался как между торсионными углами внутри одной молекулы, так и между торсионными углами разных молекул. В настоящее время трудно сказать, имеет ли обнаруженное здесь явление динамического изоморфизма конкретный биологический смысл или же речь идет просто о подобии соответствующих областей гиперповерхностей потенциальной энергии [3,4].

Рассмотрим далее кросскорреляционные функции типа (3). При $\tau=0$ эта функция равна 1. При больших значениях τ для переменных α и β , не являющихся компонентами одной коллективной степени свободы, корреляционная функция будет стремиться к нулю, так как $\cos(\sin) \delta\alpha$ и $\delta\beta$ могут быть с одинаковой вероятностью как положительными, так и отрицательными. На рис.5,а приведены

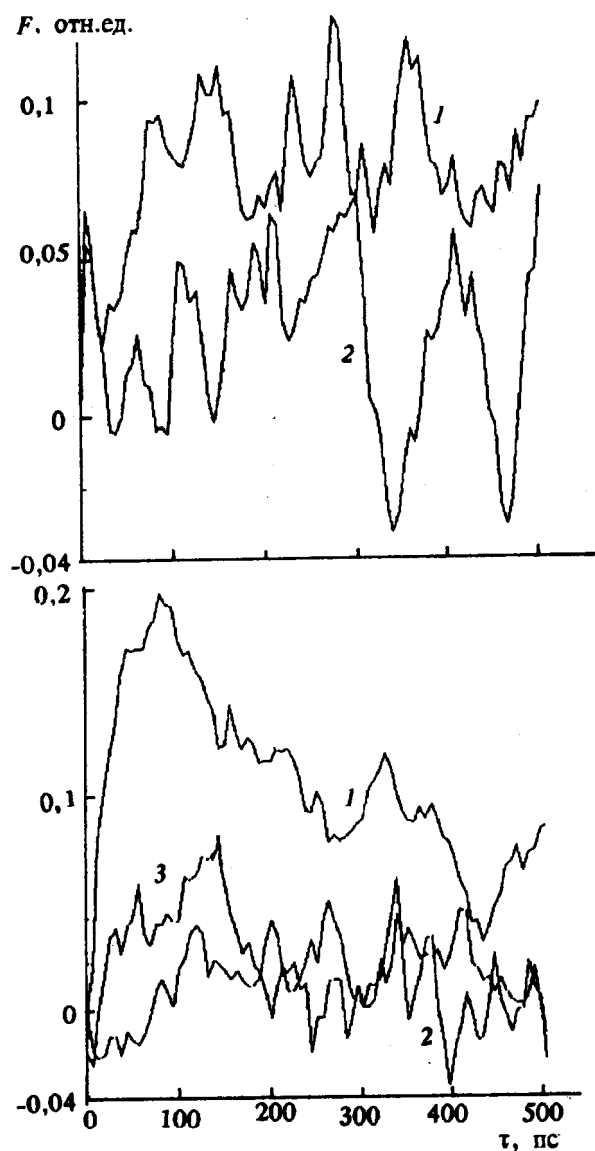


Рис.6. Особенности динамической корреляции торсионных углов в молекуле Туг-Тгр; а - пары динамических переменных $\varphi_1\chi_{11}$ - 1 и $\varphi_2\chi_{21}$ - 2; б - пары динамических переменных $\varphi_1\psi_1$ - 1, $\varphi_2\psi_2$ - 2 и $\psi_1\chi_{11}$ - 3

типичные зависимости вещественной части кросскорреляционных функций типа (3) для коррелирующих и некоррелирующих пар торсионных углов в димере Asp-Asp. Из приведенных графиков визуально трудно определить степень корреляции рассматриваемых степеней свободы. Однако этого недостатка лишены графики кросскорреляционных функций типа (2), приведенных для тех же пар динамических переменных на рис.5,б. В случае динамической корреляции торсионных углов вещественная часть функции (3) оказывается в среднем существенно положительной и тем в большей степени, чем сильнее корреляция.

(Предельный случай 100% корреляции мы рассмотрели выше (рис.4)). Следует отметить, что в большом числе рассмотренных нами дипептидов наблюдается значительная корреляция торсионных углов φ и χ_1 одного аминокислотного остатка. Из этого правила было обнаружено пока единственное исключение, касающееся пары этих углов в триптофановом остатке в модифицированном дипептиде Туг-Тгр. Отметим, что аналогичная пара торсионных углов тирозинового остатка в этом же димере ведет себя вполне типичным образом (рис.6,а). Нетипичное поведение торсионных углов в Туг-Тгр обусловлено, по-видимому, значительно большими эффектами объемных взаимодействий в этом дипептиде по сравнению с другими димерами. Так, в рассмотренных дипептидах отсутствует корреляция флуктуаций смежных углов φ и ψ . То же наблюдается и для этой пары углов триптофанового остатка в вышеназванном димере. Однако движения, соответствующие этой паре углов тирозина, четко скоррелированы (рис.6,б). Нетипичная корреляция также наблюдается и для углов ψ и χ_1 этого же остатка (рис.6,б). В других рассмотренных дипептидах флуктуации угла ψ , как правило, не коррелируют с флуктуациями по другим торсионным углам.

Таким образом, конформационные движения в рассмотренных небольших пептидах устроены следующим образом. Амплитуда флуктуаций концов полипептидной цепи составляет порядка 1Å, а характерное время в зависимости от массы боковых групп лежит в диапазоне 10–100 пс. Амплитуды флуктуаций расстояний между боковыми группами в несколько раз больше. В ряде случаев наблюдается корреляция флуктуаций между эффективным размером боковой группы и длиной основной полипептидной цепи. Характерные времена корреляции для движений по торсионным углам чувствительны к вариациям боковых групп и лежат в диапазоне от единиц до сотен пикосекунд. Имеются пары углов, флуктуации по которым, как правило, в значительной степени скоррелированы. Наиболее ярко этот эффект проявляется для торсионных углов φ и χ_1 одного и того же аминокислотного остатка. Угол ψ , а также угол χ_2 практически не коррелируют с другими углами. Однако имеются отдельные яркие исключения из этого правила, обусловленные объемными эффектами. В динамике пептидов имеет место также явление динамического изоморфизма или подобия с высокой степенью точности временного поведения корреляционных функций для разных торсионных углов в различных пептидах. По имеющимся у нас предварительным данным по большой группе дипептидов создается впечатление, что для аминокислот, в целом, динамический изоморфизм характерен в большей степени, чем структурное сходство.

В заключение авторы выражают благодарность Российскому фонду фундаментальных исследований и Сибирскому торговому банку (грант № 95-04-12197а), а также программе «Физмат» Госкомвуза РФ за частичную финансовую поддержку работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шайтан К.В., Балабаев Н.К., Лемак А.С., Ермолаева М.Д., Ивайкина А.Г., Орлов М.В., Гельфанд Е.В. // Биофизика. 1997. Т.42, вып.1. С.47.
2. Марадудин А. Дефекты и колебательный спектр кристаллов. М.: Мир, 1968. 432 с.
3. Шайтан К.В. // Биофизика. 1994. Т.39. С.949.
4. Shaitan K.V. // Macromolecular Symp. 1996. V.106. P.321.
5. Lemak A.S., Balabaev N.K. // Molecular Simulation. 1994. V.13. P.177.
6. Гиббс Дж.В. Основные принципы статистической механики. М.-Л.: ОГИЗ Гостехиздат, 1946. 203 с.
7. Шайтан К.В., Немухин А.В., Фирсов Д.А., Богдан Т.В., Тополь И.А. // Молекуляр. биология. (В печати).
8. Gelin B., Karplus M. // Biochemistry. 1979. V.18. P.1256.
9. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. Abbreviations and Symbols for the Description of the Conformation of Polypeptide Chains. // J. Mol. Biol. 1970. V.52. P.1.
10. Шайтан К.В., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1980. Т.14. С.1323.

11. Шайтан К.В., Ермолаева М.Д., Сарайкин С.С. // Изв. РАН. Сер. физ. (В печати).

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова;
Институт математических проблем биологии РАН,
Пушино (Московская область)

Поступила в редакцию
23.09.1996

MOLECULAR DYNAMIC SIMULATION OF OLYGOPEPTIDES. 2. DYNAMIC CORRELATION FUNCTIONS FOR THE CONFORMATIONAL MODES OF THE MODIFIED DYPEPTIDES

K.V. SHAITAN, M.D. ERMOLAEVA, N.K. BALABAEV, A.S. LEMAK, M.V. ORLOV

*M.V.Lomonosov Moscow State University; Institute of Mathematical Problems of Biology, Russian
Acad.Sci., Pushchino (Moscow region)*

The method of investigation of dynamic correlation functions in molecules with conformational mobility on an example of modified dypeptides by molecular dynamics is proposed. Comparison of results for different types torsion angles and internuclear distances are carried out. Connection between the chemical structure of peptides and the peculiarities of internal dynamic correlations is established. A question about dynamic isomorphism of aminoacids is discussed.