

КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПРОФИЛИ D-ЗАМЕЩЕННЫХ АНАЛОГОВ ПЕПТИДА Т

Г.А. АХВЕРДИЕВА

Институт физических проблем,
Бакинский Государственный Университет

Баку / АЗЕРБАЙДЖАН

hagverdiguynara@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Определены конформационные профили биологически испытанных D-модифицированных аналогов пептида Т. Полученные данные позволили оценить активную конформацию данного пептида и могут быть использованы при проектировании устойчивых препаратов против ВИЧ

Ключевые слова: D-модифицированные аналоги пептида Т, конформационный анализ, активность

CONFORMATIONAL PROFILES OF THE D-MODIFIED ANALOGS OF PEPTIDE T

ABSTRACT

The conformational profiles of biologically tested D-modified analogs of peptide T were determined. The received data permit to assess the active conformation of this peptide and may be used at design of a rigid-molecule drug against HIV.

Key words: D-modified analogs of peptide T, conformational analysis, activity

ВВЕДЕНИЕ

В представленной работе продолжено систематическое исследование пептида Т (*Ala1-Ser2-Thr3-Thr4-Thr5-Asn6-Tyr7-Thr8*), оказывающего эффективное терапевтическое действие на пациентов, пораженных вирусом СПИД [1]. Он соответствует небольшому сегменту гликопротеида gp120, который окружает ВИЧ и идентифицирован как медиатор для присоединения целого вируса к CD4 антигенным рецепторам, существующим в высоких концентрациях в лимфоцитах и мозге [2,3]. Молекулярная модель пептида Т изображена на рисунке 1. В наших предыдущих работах [4-6] были изучены конформационные возможности и кон-

формационная динамика пептида Т и его C-концевого физиологически активного пентапептида. Чтобы оценить биоактивную конформацию в представленной работе в рамках механической модели были определены конформационные профили некоторых биологически испытанных D-замещенных аналогов пептида Т. Четыре аналога данной молекулы, а именно, [*D-Ala1*]-, [*D-Ala1, D-Thr8*]-, [*D-Asn6*]-, [*D-Ala1, D-Tyr7*]-пептид Т амиды были отобраны для исследования.

Аналог [*D-Ala1*]-пептид Т амид является таким же эффективным, как и нативный пептид при ингибировании гликопротеида gp120 [2] и в опытах по хемотактической активности в организме чело-

века он демонстрирует чуть большую активность, чем природный пептид [3] (Таблица 1). Данный аналог находится в клинических испытаниях как терапевтическое средство против СПИД [7,8]. Аналоги [D-Ala1, D-Thr8]-, [D-Asn6]- и [D-Ala1, D-Tyr7]- пептид Т амиды демонстрируют низкую хемотактическую активность [3,9]. Знание конформационных особенностей пептида Т и его биологически испытанных аналогов позволило провести их сравнительный конформа-

ционный анализ, что было необходимым для оценки характеристик биоактивной конформации. Конформации для расчета всех D-модифицированных молекул были отобраны согласно той же процедуре, что и для нативного пептида Т [5] (Таблица 2) с учетом специфических особенностей D-изомеров замененных остатков. На основе полученных данных было проведено компьютерное моделирование биологически активной конформации нативного пептида Т.



Рисунок 1. Молекулярная модель пептида Т

Таблица 1. Хемотактическая активность пептида Т и его аналогов

№	Молекула	EC50 (моль/л)
1	H-Thr4-Thr5-Asn6-Tyr7-Thr8-OH	7×10^{-12}
2	Пептид Т	1×10^{-11}
3	[D-Ala1]- пептид Т амид	8×10^{-11}
4	[D-Ala1, D-Thr8]-пептид Т амид	2×10^{-10}

Таблица 2. Энергетические вклады (в кДж/моль) в предпочтительных конформациях пептида Т

№	Шейп	Конформация	Энергетические вклады			E _{отн}
1	efeeffe	B ₂ R ₁₂ B ₁₂₂ B ₂₂₂ R ₁₂₂ R ₂₁ B ₃₁₂ B ₁₂₂	-140.6	-1.3	19.7	0.0
2	eeeffef	B ₂ B ₁₂ B ₂₂₂ R ₁₂₂ R ₁₂₂ B ₂₁ R ₃₁₂ R ₃₂₂	-154.0	20.1	16.7	5.4
3	feffef	R ₂ B ₁₂ R ₁₂₂ R ₃₂₂ B ₂₁ R ₃₁₂ R ₃₂₂	-142.7	11.3	20.9	12.1
4	fffffff	R ₂ R ₁₂ R ₁₂₂ R ₁₂₂ R ₁₂₂ R ₂₁ R ₂₁₂ R ₃₂₂	-168.7	40.2	20.5	14.2
5	fffffef	R ₂ R ₁₂ R ₁₂₂ R ₁₂₂ R ₁₂₂ B ₂₁ R ₃₁₂ R ₃₂₂	-159.5	35.6	18.0	15.9

МЕТОД РАСЧЕТА

Расчеты пространственной структуры исследуемых молекул были проведены минимизацией потенциальной энергии с использованием написанной на алгоритмическом языке ФОРТРАН программы [10] методом теоретического конформационного анализа, в рамках механической модели, как описано в работах [11,12]. Энергия вычислялась как сумма независимых вкладов энергий невалентных ($E_{нев}$), электростатических взаимодействий ($E_{эл}$), а также энергий торсионных барьеров ($E_{торс}$) и водородных связей ($E_{вс}$). Величина вклада энергии невалентных взаимодействий определялась при помощи потенциалов Ленарда-Джонсона с параметрами Скотта и Шераги [13]. Энергия электростатических контактов вычислялась в монопольном приближении по закону Кулона с использованием зарядов, предложенных Шерагой [13]. Величины торсионных барьеров для различных химических связей взяты из работы Момани и др. [14]. Энергия водородных связей оценивалась с помощью потенциала Морзе при значении энергии диссоциации водородной связи, равной 1,5 ккал/моль, соответствующей расстоянию связи $NH...OC$ $r=1.8\text{Å}$ для водных растворов.

При изложении результатов расчета этих молекул использована предложенная в работе [15] классификация пептидных структур на конформации, формы основной цепи и шейки пептидного скелета. Конформационное состояние каждого остатка полностью определяется двугранными углами (ϕ, ψ) основной цепи и (χ_1, χ_2, \dots) боковой цепи при фиксированных длинах связи и валентных углах, что позволяет представлять конформационное состояние каждого остатка в системе идентификаторов вида X_{ij} , где X -форма

основной цепи остатка: R ($\phi, \psi = -180-0^\circ$), B ($\phi = -180-0^\circ, \psi = 0-180^\circ$), L ($\phi, \psi = 0-180^\circ$), P ($\phi = 0-180, \psi = -180-0^\circ$), а индексы i, j соответствуют характерным положениям боковой цепи: 1-значению углов χ в области от 0 до 120° , 2- от 120 до -120° , 3- от -120 до 0° . Все формы основной цепи дипептида могут быть классифицированы на два типа: свернутые и развернутые, которые мы будем обозначать, соответственно, как f и e .

Используемые в расчете отсчеты углов вращения соответствуют номенклатуре IUPAC-IUB [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования [D-Ala1]-пептид T амида показали, что D-изомеризация аланина в первой позиции не исключает две характерные конформации пептида T-циклическую, благоприятную для электростатических взаимодействий концевых заряженных групп молекулы, и спиральную, обеспечивающую оптимальные невалентные взаимодействия между атомами полипептидного скелета (Таблица 3).

Таблица 3. Энергетические вклады (в кДж/моль) в конформациях [D-Ala1]- пептида T амида

Конформация	Энергетические вклады			$E_{отн}$
	$E_{нев}$	$E_{элст}$	$E_{торсг}$	
1	-59.2	-23.9	19.3	8.8
2	-68.9	1.3	17.2	22.7
3	-73.1	7.1	2.1	13.4
4	-102.1	8.8	20.6	0.0
5	-82.3	16.0	18.5	25.2

Однако, при такой замене электростатические контакты усиливаются. Это может быть объяснено тем, что концевые группы аналога оказываются в пространстве более сближенными, и его молекула становится более компактной, чем молекула нативного пептида. Воз-

можно, такая компактная структура (рисунки 2) моделирует физиологически активное состояние пептида, хотя и не исключает возможность конформационного перехода циклической структуры в спиральную.

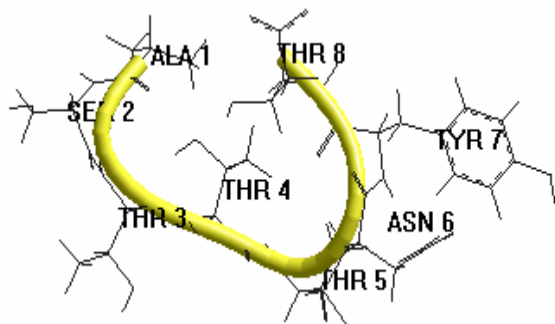


Рисунок 2. Оптимальная конформация аналога [D-Ala1]-пептида Т амида, симулирующая пространственную структуру нативного пептида.

Результаты расчета показали, что циклическая структура пептида Т не реализуется для его аналога [D-Ala1, D-Thr8]-пептид Т амида с пониженной биоэнергетической способностью (Таблица 4). Модификации пептидной цепи привели к разрушению регулярной структуры - β -цепи на С-концевом физиологически активном пентапептидном участке. Такая замена привела к ограничению конформационной подвижности С-концевого остатка Thr8, что является очень важным для пространственного формирования биологически активной формы природного пептида.

Таблица 4. Энергетические вклады (в кДж/моль) в конформациях [D-Ala1,D-Thr8]-пептида Т амида

Конформация	Энергетические вклады			E _{отн}
	E _{нев}	E _{элст}	E _{тор}	
1	-37.8	-14.7	18.9	29.0
2	-70.6	-2.1	17.2	6.7
3	-72.2	-5.5	21.0	5.5
4	-95.3	12.2	21.0	0.0
5	-84.0	15.5	18.5	14.3

Сравнение результатов расчета двух выше рассмотренных аналогов пептида Т в сочетании с данными их биологической активности позволяют прийти к заключению, что лишь циклическая конформация, включающая β -поворот, коррелирует с физиологически активной формой пептидной молекулы. Данная модель стабилизируется водородной связью между Thr4 and Thr8 в дополнение к водородной связи между Thr4 и Tyr7, существующей в нативной молекуле. Двугранные углы оптимальной структуры аналога [D-Ala1]- пептид Т амида представлены в таблице 5.

Таблица 5. Двугранные углы (в градусах) оптимальной конформации [D-Ala1] - пептида Т амида

Аминокислотный остаток	Двугранные углы основной цепи	Значения	Аминокислотный остаток	Двугранные углы основной цепи	Значения
Ala1	ϕ	157	Thr5	ϕ	-46
	ψ	-152		ψ	-48
	ω	-180		ω	-175
Ser2	ϕ	-52	Asn6	ϕ	-178
	ψ	-44		ψ	-62
	ω	163		ω	153
Thr3	ϕ	-149	Tyr7	ϕ	-55
	ψ	145		ψ	143
	ω	-175		ω	-164
Thr4	ϕ	-161	Thr8	ϕ	-161
	ψ	164		ψ	150
	ω	-170		-	-

Результаты расчета неактивных аналогов [D-Asn6]- и [D-Ala1, D-Tyr7]-пептид Т амидов показывают, что D-изомеризация остатков в позициях 6 и 7 сопровождается большими изменениями двугранных углов основной цепи, что приводит к ее заметному искажению. Разрушается регулярная структура- β -поворот на фрагменте Thr4-Thr8 циклической структуры, вследствие чего повышается энергия соответствующей структуры аналога. Полученные результаты

указывают на важность двугранных углов основной цепи остатков Asn6 and Tyr7 в формировании характерных конформаций пептида Т. Как следует из представленных результатов конформационные профили активных и неактивных аналогов различаются, что согласуется с данными ЯМР исследований [17], согласно которым исследованным биологически активным и неактивным аналогам пептида Т присуща конформационная гетерогенность.

Сравнение конформационных особенностей пептида Т и его аналогов выявило следующие структурные критерии, важные для его биологической активности: остатки, входящие в физиологически активный пентапептидный участок Thr4-Thr8, играют важную роль в формировании регулярной структуры данного активного центра и укладке пептидной цепи всей молекулы; энергетически предпочтительное формирование β -поворота как элемента вторичной структуры на С-концевом участке пептида Т, является необходимым для связывания со специфическими рецепторами. Результаты проведенного исследования важны для исследования структурно-функциональной функциональной взаимосвязи пептида Т и могут быть использованы при проектировании устойчивого лекарственного препарата против ВИЧ.

ЛИТЕРАТУРА

1. L. Wetterberg, B. Alexius, J. Saaf, A. Sonnerborg, S. Button and S. Pert, *Lancet* **1**, 159 (1987)
2. C.B. Pert, J.M. Hill, M.R. Ruff, R.M. Berman, W.G. Robey, L.O. Arthur, F.W. Ruscetti, W.L. Farrar, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **83**, 9254 (1986)
3. M.R. Ruff, B.M. Martin, E.I. Ginns, W.L. Farrar, and C.B. Pert, *FEBS Lett.* **211**, 17 (1987)
4. G.A. Akverdieva, S. Akyuz and N.M. Gojayev, *ICTP, Preprint IC/96/103 Trieste* (1996)
5. N.M. Gojayev, S. Akyuz and G.A. Akverdieva, *J. Mol. Struct.* **403**, 95 (1997)
6. G.A. Akverdieva, N.M. Godjayev, S. Akyuz, *J. Mol. Struct.* **609**, 115 (2002)
7. M.R. Ruff et.al., *Current HIV research*, **1**, 51 (2003)
8. M.T. Polianova, F.W. Ruscetti, C.B. Pert, M.R. Ruff, *Antiviral Res.* **67**, 83 (2005)
9. M. Marastoni, S. Salvadori, G. Baloni, S. Spisani, R. Gavioli, S. Traniello and R. Tomatis, *Int. J. Pep. Prot. Res.* **35**, 81 (1990).
10. Н.М.Годжаев, И.Максумов, Л.Исмаилова *Журнал структурной химии* **24**,147 (1983)
11. E.M.Popov, *Int.J.Quantum Chem.*, **16**, 707(1979)
12. N.A.Akhmedov, G.A.Akverdieva, N.M.Godjayev and E.M.Popov, *J. Peptide Protein Res.* **27**, 95 (1986)
13. R.A.Scott and H.A.Scheraga, *J.Chem.Phys.*,**45**, 2091 (1966)
14. Г.М.Липкинд, С.Ф.Архипова, Е.М.Попов. *Журнал структурной химии* **11**, 121 (1970)
15. F.Momany, R.McGuire, A.Burgess and H.J. Sheraga. *J.Phys.Chem.*,**79**, 2361 (1975)
16. IUPAC-IUB. Commission on Biochemical Nomenclature//*Biochem J.*, **121**, 577 (1971)
17. A.C. De Dios, D.N. Sears, R. Tycko, *J. Peptide Science* **10**, 622 (2004)