

СОПОСТАВЛЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ СВОЙСТВ АНГИГИПЕРТЕНЗИВНОГО ПЕПТИДА IRW И ЕГО ИЗОМЕРА LRW

Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.

Бакинский государственный университет

ул. З. Халилова, 23, г. Баку, AZ-1148, Азербайджан; e-mail: gulshen@mail.ru

Поступила в редакцию: 05.07.2021

Аннотация. Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) играет важную роль в системах контроля артериального давления (ренин-ангиотензиновая система), поскольку он превращает ангиотензин I в ангиотензин II (Ang II), что приводит к развитию гипертонии. Следовательно, очень важно изучить ингибирование АПФ для предотвращения и лечения гипертонии. Ингибиторы АПФ широко назначают при сердечно-сосудистых заболеваниях, включая высокое кровяное давление, сердечную недостаточность и почечную недостаточность. Пептиды, ингибирующие АПФ, являются более безопасными, чем синтетические ингибиторы АПФ, и могут быть полезными в качестве гипотензивных средств. В настоящей работе методами молекулярной механики исследовано пространственное строение и конформационное поведение антигипертензивного трипептида IRW и его изомера LRW, выделенных из пищевых белков. В результате расчетов было показано, что в слабополярной среде пептиды предпочтительно формируют похожие стабильные полностью свернутые структуры. Было показано, что предпочтительная конформация этих пептидов стабилизируется эффективными дисперсионными взаимодействиями с образованием водородной связи между атомами карбоксильной группы C-терминальной части и гуанидиновой группы боковой цепи аргинина. В результате сравнительного исследования двух структурно гомологичных трипептидов IRW и LRW были определены энергетически предпочтительные области величин двугранных углов и взаимное расположение остатков в низкоэнергетических конформациях молекул. На основе полученных параметров были составлены молекулярные модели энергетически предпочтительных конформаций трипептидов. Данное исследование позволило сопоставить все стабильные конформационные состояния двух трипептидных пептидов, что дает возможность выделить структурные критерии, возможно необходимые для создания ингибирующих свойств лекарственных препаратов для клинического использования.

Ключевые слова: трипептиды, ингибиторы АПФ, изомеры, конформация, метод молекулярной механики.

Как известно, гипертония – главный фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) играет важную роль в системах контроля артериального давления, поскольку он превращает ангиотензин I в ангиотензин II, что приводит к развитию гипертонии. Для лечения артериальной гипертонии использовался ряд фармакологических препаратов, и многие из этих препаратов требуют пожизненного соблюдения режима терапии. В то же время окислительный стресс сосудов, воспалительная реакция и пролиферация являются решающими медиаторами сосудистой дисфункции, которые вносят вклад в патологию гипертонии. Некоторые функциональные продукты питания получены из природных источников и обычно считаются безопасными, поэтому они стали потенциальной альтернативой синтетическим фармакологическим препаратам.

В настоящей работе методом молекулярной механики исследовано конформационные свойства антигипертензивного трипептида IRW и его изомера LRW, выделенные из продуктов питания [1,2]. Эти трипептиды структурно похожи. Трипептид IRW (Ile-Arg-Trp) с потенциальной АПФ ингибиторной активностью был выделен из яичного белка. Трипептид LRW (Leu-Arg-Trp), был охарактеризован из белка боба гороха, и его ранее изученный изомер IRW (Ile-Arg-Trp), как сообщалось [1,2], проявлял антигипертензивную активность за счет активации ангиотензин-превращающего фермента II. Как было показано, трипептид LRW оказывает влияние на сосудистый стресс в гладкомышечных клетках сосудов (VSMC) в условиях клеточного стресса, вызванного ангиотензином II (Ang II) [2]. Введение LRW может снизить вызванную Ang II продукцию супероксида, воспаление и пролиферацию в гладкомышечных клетках сосудов (VSMC). Вышеупомянутые благоприятные эффекты, по-видимому, включают активацию оси ACE2-Ang-(1-7)-MasR и модуляция пути ядерного фактора-κB. Эти данные указывают на перспективную роль LRW в качестве функционального пищевого ингредиента или нутрицевтика в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, особенно гипертонии и сосудистых повреждений.

Потому как осуществление и эффективность биологического действия молекулы пептида, так или иначе, связаны с его структурной комплементарностью с взаимодействующими молекулами, то для выяснения механизма функционального действия пептидной молекулы необходимо знание ее конформационно-динамических свойств.

В данной работе расчет стабильных конформаций трипептидов проводился с помощью программы и системы потенциальных функций, ранее описанных и примененных в работе [4]. При обсуждении результатов расчета была использована принятая классификация пептидных структур [4]. Конформационное состояние

каждого остатка определялось значениями двугранных углов φ , ψ и ω основной цепи и χ^1 , боковых цепей. Введено понятие формы остатка, которое характеризует область (R,B,L или P) значений углов φ и ψ . Углы φ и ψ основной цепи в конформациях находятся из низкоэнергетических областей стерической карты: R ($\varphi, \psi = -180^\circ \div 0^\circ$), B ($\varphi = -180^\circ \div 0^\circ, \psi = 0^\circ \div 180^\circ$), L ($\varphi, \psi = 0^\circ \div 180^\circ$) и P ($\varphi = 0^\circ \div 180^\circ, \psi = -180^\circ \div 0^\circ$). Выбор структурных вариантов при расчете конформаций отдельных трипептидов осуществлялся на основе известных значений двугранных углов (φ и ψ) соответствующих низкоэнергетическим областям конформационной карты R, B и L для каждого монопептида, а для монопептида пролина конформации выбирались из двух B и R областей [4]. Отсчет двугранных углов вращения φ , ψ , ω и χ^1 проведен согласно общепринятой номенклатуре IUPAC-IUB [5]. Расчет стабильных конформаций пептидов проводился с помощью программы [6]. Поиск минимумов потенциальной энергии осуществлялся методом сопряженных градиентов [6]. Оптимизация геометрических параметров проминимизированных структур пептидов проводилась с использованием комплекса сервисных программ NucleChem v. 8.0 [7], позволяющего проводить расчеты молекул методом AM1.

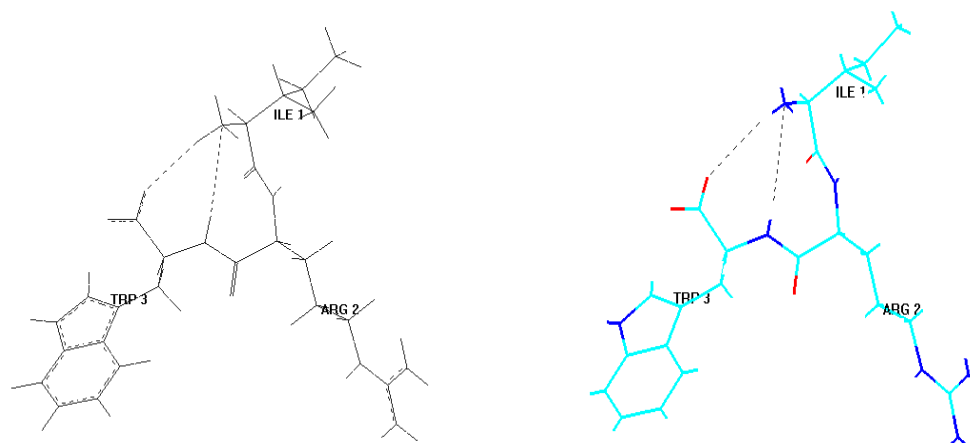
Определение конформационных свойств трипептидных молекул IRW и LRW проводилось путем минимизации потенциальной энергии выбранных конформационных состояний, исходя из особенностей, составляющих их аминокислотных остатков. При составлении структурных вариантов трипептидов ориентации боковых цепей остатков брались с учетом возможных межостаточных взаимодействий, образуемых данными остатками в конформационных состояниях.

В результате минимизации энергии составленных структурных вариантов были найдены низкоэнергетические конформации трипептидных молекул IRW и LRW. Для каждой из рассчитанных конформаций трипептидов определены вклады всех видов энергий внутримолекулярных взаимодействий. В таблице 1 приведены энергетические параметры наиболее стабильных конформаций для каждого из трипептидов. Как следует из таблицы 1 энергетически наиболее предпочтительными для каждого трипептида оказались конформации одного структурного типа с формой основной цепи RRR. Все низкоэнергетические конформации трипептидов формируют свернутые формы. Эти конформации отличаются в основном энергетическим вкладом электростатических и дисперсионных взаимодействий, т.е. в конечном счете, плотностью упаковки пептидной цепи. Самые низкоэнергетические конформации трипептидов отличаются структурной особенностью и ориентацией боковой цепи второго аминокислотного остатка- аргинина. Благодаря свернутой форме основной цепи, стабильные конформации трипептидов LPP, IRW и LRW характеризуется образованием эффективных ди-, и трипептидных межостаточных взаимодействий. Для трипептида IRW самой низкоэнергетической оказалась $R_{32}R_{22}R_{31}$ конформация. В предпочтительной конформации этого трипептида все остатки вовлечены в эффективные взаимодействия. Самой низкоэнергетической структурой трипептида LRW является $R_{21}R_{32}R_{11}$ конформация. Эта конформация превосходит следующую по стабильности конформацию $B_{22}B_{21}$ лишь на 0,5 ккал/моль. Образование системы дисперсионных и электростатических взаимодействий между пептидными звеньями цепи, а также наличие водородной связи между противоположно заряженными концами молекул придает свернутой структуре особую прочность. Молекулярные модели энергетически предпочтительных конформации молекул трипептидов IRW и LRW, построенные на основе рассчитанных величин двугранных углов, представлены на рисунке 1. Практически самые низкоэнергетические конформации трипептидов отличаются друг от друга структурой N-концевого остатка. Расчет конформаций антигипертензивных трипептидов позволяет сделать заключение, что молекулы обладают существенной конформационной ограниченностью. В таблице 2. представлены величины двугранных углов (град) аминокислотных остатков молекул IRW и LRW в низкоэнергетических конформациях. На рисунке 2 приведены молекулярные модели энергетически другой предпочтительной конформации молекул трипептидов IRW и LRW с формой основной цепи RRL, реализующую водородную связь между атомом гуанидиной группы боковой цепи аргинина и карбоксильной группой C-конца пептида.

Таблица 1. Энергетические параметры внутримолекулярных взаимодействий в энергетически предпочтительных конформациях молекул IRW и LRW

№	Пептид	Конформация	Энергетические вклады, ккал/моль				
			$E_{нев}$	$E_{эл}$	$E_{торс}$	$E_{полн}$	$E_{отн}$
1.	IRW	$R_{32}R_{22}R_{31}$	-16,5	-1,5	4,0	-14,0	0
2.	IRW	$R_{33}R_{23}L_{31}$	-15,3	-1,8	3,6	-13,5	0,5
3.	IRW	$B_{22}B_{21}B_{11}$	-12,7	-0,6	2,3	-11,0	4,0
1.	LRW	$R_{21}R_{32}R_{11}$	-18,4	-0,8	4,0	-15,2	0
2.	LRW	$R_{21}R_{23}L_{31}$	-16,8	-1,5	3,8	-14,5	0,7
3.	LRW	$B_{21}B_{22}B_{31}$	-10,7	-1,6	1,6	-10,7	4,5

a)



б)

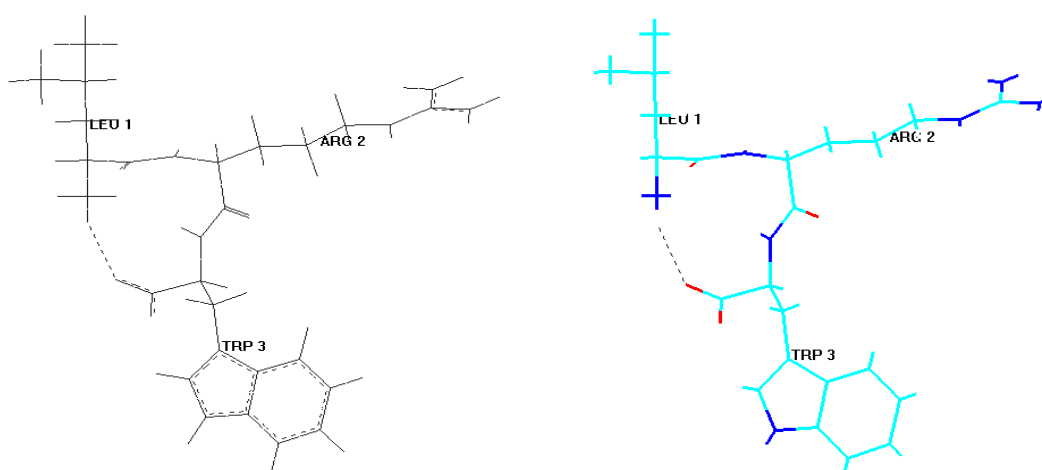
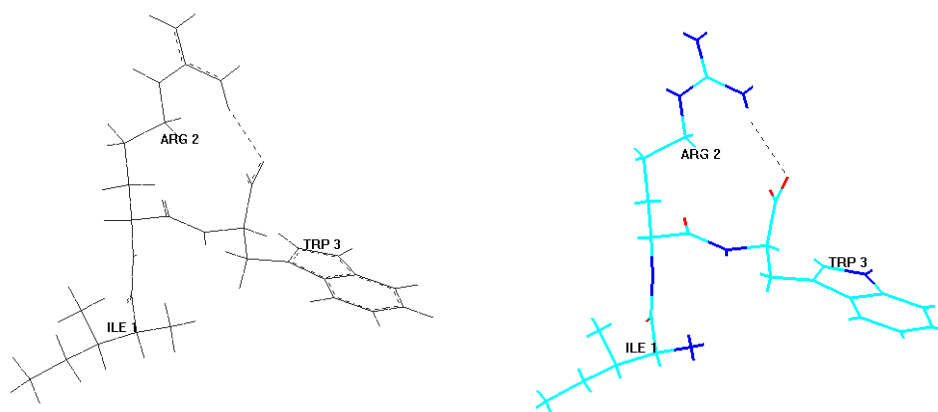
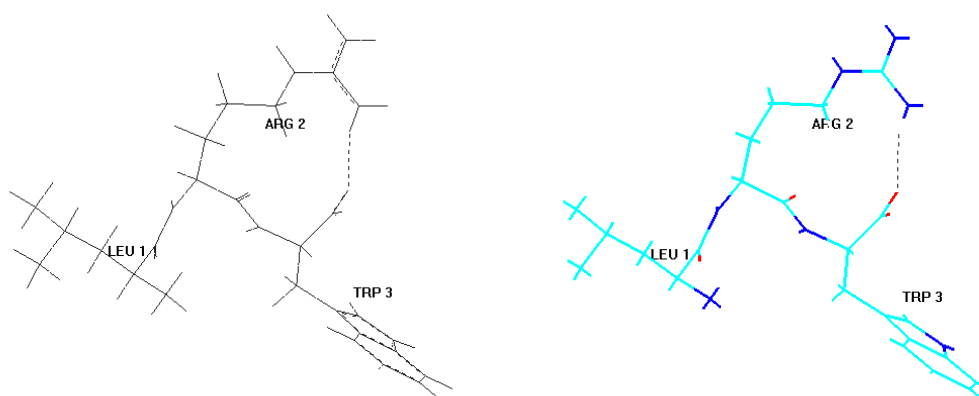


Рисунок 1. Молекулярные модели пространственных структур в форме RRR для трипептидов: IRW(a) и LRW (б) соответственно. Пунктирной линией указана водородная связь

Таким образом, результаты конформационного анализа антигипертензивных трипептидов IRW и LRW выявили для них одинаковую свернутую форму пептидного остова низкоэнергетических структур. Расчет показал, что данные структурно похожие трипептиды формируют практически идентичные пространственные конформации, различающиеся лишь ориентацией боковых цепей отдельных остатков. Полученные величины энергетических и геометрических параметров наиболее стабильных конформаций трипептидов дают представление о предпочтительной пространственной структуре молекул. В результате расчетов были определены и сопоставлены величины энергетических вкладов внутримолекулярных взаимодействий в низкоэнергетических конформационных состояниях молекул. Полученные характеристики пространственной и электронной структуры антигипертензивных трипептидных молекул могут способствовать целенаправленному поиску эффективных аналогов молекул в качестве лекарственных препаратов для стимулирования или блокирования конкретного физиологического воздействия в лечении ряда сердечно-сосудистых заболеваний. Предполагается, что среди рассчитанных низкоэнергетических структур находится биологически активная конформация трипептидов, способная участвовать в процессе ингибирования АПФ.



a)



б)

Рисунок 2. Молекулярные модели пространственных структур в форме RRL для трипептидов: IRW(a) и LRW (б) соответственно. Пунктирной линией указана водородная связь

Таблица 2. Величины двугранных углов (град) аминокислотных остатков молекул IRW и LRW.в двух низкоэнергетических конформациях I - $R_{32}R_{22}R_{31}$ ($E_{отн} = 0$ ккал/моль), II – $R_{33} R_{23}L_{31}$ ($E_{отн} = 0,5$ ккал/моль) , I – $R_{21} R_{32}R_{11}$ ($E_{отн} = 0$ ккал/моль), II - $R_{21} R_{23}L_{31}$ ($E_{отн} = 0,7$ ккал/моль)

Пептид	Конформация	Основная цепь			Боковая цепь			
		φ	ψ	ω	χ_1	χ_2	χ_3	χ_4
IRW	I	-33	-63	170	-60	186	179	190
IRW	II	-66	117	181	180	185	177	-
LRW	I	-76	98	173	174	58	178	174
LRW	II	-60	146	177	181	70	179	176
IRW	I	-71	-51	171	172	182	174	182
IRW	II	-66	117	181	180	185	177	-
LRW	I	-76	98	173	174	58	178	174
LRW	II	-60	146	177	181	70	179	176
IRW	I	-103	-35	180	-50	92	-	-
IRW	II	-66	117	181	180	185	177	-
LRW	I	-76	98	173	174	58	178	174
LRW	II	-60	146	177	181	70	179	176

Список литературы / References:

1. Yamamoto N. Antihypertensive peptides derived from food proteins. *Peptide Science*, 1997, vol. 43, pp. 129-134.
2. Liao W., Fan H., Wu J.J. Egg White-Derived Antihypertensive Peptide IRW (Ile-Arg-Trp) Inhibits Angiotensin II-Stimulated Migration of Vascular Smooth Muscle Cells via Angiotensin Type I Receptor. *J Agric Food Chem.*, 2018, vol. 66, no. 20, pp. 5133-5138.
3. Xiao Wang, Khushwant S. Bhullar, Hongbing Fan, Wang Liao, Yongjin Qiao, Di Su, Jianping Wu. Regulatory Effects of a Pea-Derived Peptide Leu-Arg-Trp (LRW) on Dysfunction of Rat Aortic Vascular Smooth Muscle Cells against Angiotensin II Stimulation. *J Agric Food Chem.*, 2020, vol. 68, no. 13, pp. 3947-3953.
4. Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М. Особенности пространственной организации молекул гемокинина-1 человека и гемокинина-1 мыши/крысы. *Биофизика*, 2015, т. 60, вып. 3, с. 457-470. [Agaeva G.A., Agaeva U.T., Godzhaev N.M. Features of the spatial organization of the molecules of human hemokinin-1 and mouse / rat hemokinin-1. *Biophysics*, 2015, vol. 60, no. 3, pp. 457-470. (In Russ.)]
5. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature Abbreviations and symbols for description of conformation of polypeptide chains. *Pure Appl. Chem.*, 1974, vol. 40, pp. 291-308.
6. 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. [Maksumov I.S., Ismailova L.I., Godzhaev N.M. Program for semi-empirical calculation of conformations of molecular complexes on a computer. *Journal of Structural Chemistry*, 1983, vol. 24, no. 4, pp. 147-148. (In Russ.)]
7. Chem 3D Pro, "Molecular Modeling and Analysis," Cambridge Soft Corporation, 2005, 875 Massachusetts, 02139 U.S.A.

COMPARISON OF CONFORMATIONAL PROPERTIES OF ANTIHYPERTENSIVE PEPTIDE IRW AND IT ISOMER LRW**Агаева Г.А., Агаева У.Т., Годжаев Н.М.**

Baku State University

Z. Khalilov str., 23, Baku, AZ-1148, Azerbaijan; e-mail: gulshen@mail.ru

Abstract. Angiotensin converting enzyme (ACE) plays an important role in blood pressure control systems (renin-angiotensin system) because it converts angiotensin I to angiotensin II (Ang II), which leads to the development of hypertension. Therefore, it is very important to study ACE inhibition for the prevention and treatment of hypertension. ACE inhibitors are widely prescribed for cardiovascular diseases, including high blood pressure, heart failure, and kidney failure. ACE inhibiting peptides are safer than synthetic ACE inhibitors and may be useful as antihypertensive agents. In this work, the spatial structure and conformational behavior of the antihypertensive tripeptide IRW and its isomer LRW, isolated from food proteins, have been studied using molecular mechanics methods. As a result of calculations, it was shown that, in a weakly polar environment, peptides preferentially form similar stable fully folded structures. It was shown that the preferred conformation of these peptides is stabilized by effective dispersion interactions with the formation of a hydrogen bond between the atoms of the carboxyl group of the C-terminal part and the guanidine group of the arginine side chain. As a result of a comparative study of two structurally homologous tripeptides IRW and LRW, the energetically preferred ranges of the dihedral angles and the mutual arrangement of residues in the low-energy conformations of molecules were determined. Based on the obtained parameters, molecular models of the energetically preferred conformations of the tripeptides were compiled. This study made it possible to compare all the stable conformational states of two tripeptide peptides, which makes it possible to identify structural criteria that may be necessary to create inhibitory properties of drugs for clinical use.

Key words: antihypertensive tripeptide, angiotensin converting enzyme (ACE), conformation, inhibitor, molecular mechanics method.