

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ В БЕЛКИ-МИШЕНИ АМИЛОИДОЗА СЕРДЦА

¹Снетков П.П.*, ²Петухов М.Г., ¹Морозкина С.Н., ¹Успенская М.В.

¹*Национальный исследовательский университет ИТМО*

²*Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова*

*ppsnetkov@itmo.ru

Показано, что амилоидоз сердца представляет собой заболевание, вызванное отложением нерастворимых фибрилл амилоида. Лекарственные препараты, направленные на лечение амилоидоза, имеют ряд недостатков, поэтому остро стоит проблема создания новых высокоэффективных лекарств. В работе проведено молекулярное моделирование и докинг ультракоротких пептидов в белки-мишени амилоидоза сердца для последующего пептидного синтеза и анализа на животных моделях амилоидоза.

Ключевые слова: амилоидоз сердца, амилоидные фибриллы, дифлунизал, докинг лигандов, пространственная структура, тафамидис, ультракороткие пептиды.

MOLECULAR DOCKING OF SHORT PEPTIDES IN TARGET PROTEINS OF CARDIAC AMYLOIDOSIS

¹Snetkov P.P., ²Petukhov M.G., ¹Morozkina S.N., ¹Uspenskaya M.V.

¹*National Research University ITMO*

²*B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute*

Cardiac amyloidosis has been shown to be a disease caused by the deposition of insoluble amyloid fibrils. Drugs aimed at treating amyloidosis have a number of disadvantages, so the problem of creating new highly effective drugs is acute. The work carried out molecular modeling and docking of ultrashort peptides into target proteins of cardiac amyloidosis for subsequent peptide synthesis and analysis in animal models of amyloidosis.

Keywords: cardiac amyloidosis, amyloid fibrils, diflunisal, ligand docking, spatial structure, tafamidis, ultrashort peptides.

Актуальность исследования

Амилоидоз представляет собой группу заболеваний, вызванных формированием и отложением нерастворимых фибрилл, состоящих из белков с нарушенной пространственной укладкой [1]. Отложения амилоидных фибрилл могут поражать различные органы и системы, в частности, нервную систему, кожу, глаза, сердце, сосуды, органы дыхательной системы и т. д. Одним из наиболее опасных «целей» амилоидоза является сердце, в частности, сердечная мышца и окружающие ткани. Данная патология вызывает серьезные нарушения структурных и функциональных характеристик сердца, что в конечном итоге может привести к летальному исходу [2].

Лекарственные препараты, применяемые в клинической практике при терапии амилоидоза, имеют ряд существенных недостатков. Дифлунизал (2',4'-Дифтор-4-гидрокси[1,1'-бифенил]-3-карбоновая кислота) представляет собой анальгетик и антипиретик, обладающий выраженным обезболивающим, жаропонижающим и противовоспалительным действием [3]. Благодаря высокому уровню побочного связывания с нецелевыми мишенями вызывает серьезные системные побочные эффекты [4].

Тафамидис, является селективным стабилизатором транстиретина и замедляет амилоидогенез [5], но не тормозит развитие амилоидоза. Несмотря на доказанную высокую эффективность и низкий уровень побочного связывания, тафамидис является чрезвычайно дорогим препаратом: стоимость одной упаковки 20 мг № 30 по данным на июнь 2023 года составляет 1 190 000 руб. Стоимость препарата делает его недоступным для длительной терапии, требующей ежедневного приема.

В связи с перечисленным, поиск новых и доступных лекарственных препаратов, имеющих низкий уровень побочного связывания с нецелевыми белками, и обладающих высокой ингибирующей активностью против отложения амилоидных фибрилл, на сегодняшний день является актуальной задачей. Короткие и ультракороткие пептиды – перспективные представители лекарственных препаратов, потенциально эффективных при лечении амилоидоза сердца. Для оценки эффективности коротких пептидов на первом этапе целесообразно провести молекулярное моделирование и докинг пептидных молекул в белки-мишени амилоидоза сердца с последующим пептидным синтезом и исследованием на животных моделях амилоидоза сердца. Такой метод позволяет сократить время, необходимое на апробацию синтезированных пептидных молекул *in vivo*.

Методы исследования

Построение регуляризованных моделей пространственных структур исследуемых амилоидных фибрилл различного размера, а также пространственные структуры библиотек всех возможных дипептидов (400 молекул) и трипептидов (8000 молекул) со свободными N- и C-концами было осуществлено с помощью пакета программ ICM-Pro (Molsoft LLC, США) [6].

Докинг лигандов в центральной полости амилоидных фибрилл TTR, имеющих 3, 4 и 5 белковых цепей проводился с помощью метода ICM-Dock в силовом поле ICMFF и с использованием стандартных протоколов ICM для докинга лигандов, реализованного в утилите DockScan пакета программ ICM-Pro (Molsoft LLC) [7].

Расчеты выполнены с использованием суперкомпьютерного кластера Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова (НИЦ «Курчатовский институт»).

Результаты исследования и выводы

На основании результатов проведенного молекулярного докинга найдены наиболее перспективные структуры пептидных молекул (восемь соединений) для создания высокоэффективных блокаторов системного амилоидоза. Несмотря на то, что некоторые дипептиды показали достаточно высокие значения Δ ICM-Score, благоприятствующие эффективному блокированию процесса присоединения следующей цепи белка TTR, их характеристики для первичного связывания на амилоидных фибриллах минимальной размерности, вероятно, недостаточно высокие.

В отличие от дипептидов, трипептиды (38 молекул) в среднем имеют гораздо более высокие характеристики связывания с зародышевой структурой амилоида, отличные характеристики для блокирования фазы роста амилоидов TTR и поэтому являются предпочтительными для создания лекарственных средств против системного амилоидоза ATTR с дипептидами.

Была также проанализирована взаимосвязь структура–активность блокирования амилоидных белков.

Одним из наиболее интересных объектов является трипептид WWK, занимающий 3-е место в списке наиболее перспективных ультракоротких пептидов, отвечающий параметру, ICM-Score при связывании с амилоидом минимального размера. Однако разница по сравнению с первыми двумя позициями (NWR и HRS) незначительна ($\sim 0,5$), при этом пептид WWK состоит из наиболее объемных аминокислот и имеет в полости амилоида симметричную конформацию (см. *рис. 1*), где гидрофобные боковые цепи остатков Trp направлены в противоположные стороны амилоида в области, богатые гидрофильными остатками белка TTR, что может затруднить присоединение к амилоиду новых цепей белка TTR с двух сторон амилоида.



Рис. 1. Пространственная структура трипептида WWK, связанного в центральной полости амилоидной фибриллы белка TTR

Как видно из рис. 1, даже в случае связывания наиболее крупных по размеру трипептидов, в центральной полости амилоида TTR еще остается достаточно много свободного места. Поэтому возможно некоторое увеличение размера пептида, например, за счёт «блокирующих» групп на N- и C-концах и/или содержащих необычные аминокислоты.

В результате исследования были отобраны четыре пептида, разработана методика синтеза и проведены их синтез, очистка и установление структуры на каждой стадии синтеза. Дизайн синтеза разработан с применением подходов, исключающих рацемизацию и сводящих к минимуму образование побочных продуктов реакции. Синтезированные пептиды после дополнительных исследований на животных моделях амилоидоза могут быть рекомендованы для терапии амилоидоза сердца.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, научный проект № 21-74-20093. Ссылка на информацию о проекте: <https://rscf.ru/en/project/21-74-20093/>

Библиография

1. Рамеева А.С., Рамеев В.В., Моисеев С.В., Тао П.П., Козловская Л.В. Амилоидная кардиопатия: патоморфология, методы диагностики и лечения // *Consilium Medicum*. 2018. Т. 20, № 12. С. 15–22.
2. Гудкова А.Я., Полякова А.А., Амелин А.В., Моисеева О.М., Крутиков А.Н., Тишкова В.М., Грозов Р.В., Рыжкова Д.В., Макурова Т.В., Костарева А.А., Семернин Е.Н., Шляхто Е.В. Не VAL30MET-транстретиновая амилоидная кардиомиопатия. Обзор сведений литературы и клиническое наблюдение // *Российский кардиологический журнал*. 2018. Т. 2. С. 121–128.
3. Электронный ресурс: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/diflunizal-548>.
4. Snetkov P., Morozkina S., Olekhovich R., Uspenskaya M. Diflunisal Targeted Delivery Systems: A Review // *Materials*. 2021. V. 14. P. 6687.
5. Электронный ресурс: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/tafamidis-3679>.
6. Abagyan R., Totrov M. Biased probability Monte Carlo conformational searches and electrostatic calculations for peptides and proteins // *J. Mol. Biol.* 1994. V. 235. P. 983–1002.
7. Khavinson V.K., Linkova N.S., Rudskoy A.I., Petukhov M.G. Feasibility of Transport of 26 Biologically Active Ultrashort Peptides via LAT and PEPT Family Transporters // *Biomolecules*. 2023. V. 13. P. 552.