

Influencia de las diferentes cadenas laterales de aminoácidos en la estabilidad de las formas α -hélices.

Rodríguez, A. M.¹ - Zamora, M. A.¹ - Rojas, D.² - Peruchena, N. M.² - Enriz, R. D.¹

1. Depto. de Química - Fac. de Qca, Bioqca. y Fcia. - UNSL.
Chacabuco 915 - (5700) San Luis.

2. Laboratorio de Estructura Molecular y Propiedades - Area de Qca. Fca. - Depto. de Qca.
Facultad de Cs. Exactas y Naturales y Agrimensura - UNNE.
Av. Libertad 5450 - (3400) Corrientes - Argentina.
E-mail: peruchen@exa.unne.edu.ar

INTRODUCCION

En el análisis de la topología de las superficies de Ramachandran ($E=E(\phi,\psi)$) de numerosos aminoácidos en la aproximación diamida, obtenidas por cálculos ab-initio se observa la desaparición de las conformaciones del tipo α_L y ϵ_L . Esto ocurre, por ejemplo en Gly, Ala, Val, Cys y Phe. Sin embargo, los datos cristalográficos de Rayos X muestran que una gran cantidad de proteínas tienen elementos estructurales secundarios del tipo α hélice($(\alpha_L)_n$) y/o poli-prolina II($(\epsilon_L)_n$). Tal situación nos lleva a estudiar la influencia de las distintas cadenas laterales en la estabilidad de las formas α hélices de los aminoácidos.

En recientes estudios hemos mostrado que las diferentes interacciones moleculares que se producen entre la cadena lateral y el esqueleto pueden ejercer una fuerte influencia en la estabilización o desestabilización de las distintas conformaciones de la cadena principal [1,2,3].

En el presente trabajo se realizó un estudio de las interacciones moleculares que estabilizaban las formas α_L de aminoácidos que poseen distintos tipos de cadenas laterales: neutras no polares (Ile), neutras polares (Trp, Gln, Asn, Phe) y cargadas (Glu, Asp). El estudio de las interacciones moleculares se realizó mediante el análisis topológico de la distribución de la densidad de carga electrónica (análisis de Bader)[4]. Nuestros resultados muestran que la presencia de una cadena lateral cargada (como Glu) produce profundos cambios en la estructura peptídica. En cambio, los efectos en una cadena relativamente larga, ya sea polar o no polar (tales como en Gln o Ile) son significativos, pero menos cruciales para determinar las preferencias conformacionales.

METODO DE CALCULO

Las geometrías moleculares fueron obtenidas a nivel DFT (B3LYP/6-31G*), con el programa Gaussian98 [5]. Los cálculos topológicos de la distribución de la densidad electrónica se realizaron empleando 6-311++G**, como conjunto de funciones base. Las propiedades topológicas locales de la densidad de carga electrónica en los puntos críticos de enlace fueron obtenidas con el paquete de programas AIMPACK [6]. Los puntos críticos, p.c., de la distribución de carga -puntos de la distribución donde $\nabla\rho = 0$ - se clasifican por su rango y signatura analizando la matriz hessiana de ρ , -matriz de las segundas derivadas de ρ -. Pueden caracterizarse cuatro tipos de p.c. Los puntos críticos que presentan tres autovalores no nulos, siendo dos de estos autovalores negativos (λ_1 y λ_2) y uno positivo, (λ_3), corresponden a puntos críticos de enlace (3,-1) y son los que se analizarán en este estudio. El estudio electrónico de los compuestos mediante el cálculo de los Potenciales Electrostáticos Moleculares, PEMs, se realizó a nivel RHF/6-31G* utilizando el Programa SPARTAN [7].

RESULTADOS Y DISCUSION

En el análisis conformacional de aminoácidos se han encontrado interacciones puente de hidrógeno, fuertes y débiles, que estabilizan las distintas conformaciones de los mismos; para realizar una evaluación cuantitativa de este tipo de interacciones se requiere de un análisis electrónico profundo basado en la topología de la distribución de la densidad electrónica. Para el análisis topológico de la densidad electrónica se utilizó el particionado de Átomos en Moléculas (AIM) de Bader [4]. Los valores de la densidad electrónica, ρ_b , y del Laplaciano, $\nabla^2\rho_b$, juegan importantes roles en este estudio. Esta metodología es ampliamente utilizada para corroborar la existencia de puentes de hidrógeno [1-4].

Jeffrey y Saenger establecen que "existe un enlace de hidrógeno si la interacción entre X-H...Y es a) enlazante y b) involucra estéricamente al átomo de hidrógeno" [8]. Se define como punto crítico de enlace (PCE) a un punto crítico de la densidad electrónica a lo largo de una línea de unión entre dos átomos interactuantes. La condición necesaria para que dos átomos estén unidos entre sí es que exista una "trayectoria de enlace" entre ellos. La existencia de una trayectoria de enlace es considerado un "indicador universal de interacción" [4].

En la tabla 1 se muestran las propiedades topológicas locales en los puntos críticos, p.c. (3,-1) o PCE, correspondientes a enlaces de hidrógeno C-H...O, N-H...O, N-H...N y C-H...N en los compuestos: Asparagina, Aspartato, Glutamato, Glutamina e Isoleucina, en una aproximación diamida. También se indican las distancia de enlace H...Y y los ángulos de enlace X-H...Y.

Tabla 1: Propiedades topológicas locales en los puntos críticos, p.c. (3,-1) o PCE, correspondientes a enlaces de hidrógeno en: Asparagina, Aspartato, Glutamato, Glutamina e Isoleucina. También se indican las distancia de enlace H...Y y los ángulos de enlace X-H...Y.

Compuesto	Conformación	Tipo de enlace puente de hidrógeno	Distancia H...Y	Angulo X-H...Y	ρ_b	$\nabla^2\rho_b$	λ_1	λ_2	λ_3	ϵ
Asn	$\alpha_L(g^-, g^-)$	N ₁ -H ₅ ...O ₂₄	2.024	133.1	0.0214	0.0865	-0.0261	-0.0230	0.1357	0.1348
		N ₁₈ -H ₂₁ ...N ₁	2.277	108.7	0.0175	0.0757	-0.0174	-0.0095	0.1026	0.8275
Asp	$\alpha_L(g^+, a)$	N ₁ -H ₅ ...O ₁₀	1.898	133.8	0.0305	0.1185	-0.0409	-0.0388	0.1982	0.0534
		N ₁₉ -H ₂₂ ...O ₁₀	1.805	155.7	0.0354	0.1278	-0.0526	-0.0504	0.2308	0.0443
	$\alpha_L(g^-, a)$	N ₁ -H ₅ ...O ₁₀	1.631	149.4	0.0554	0.1632	-0.1009	-0.0954	0.3595	0.0569
Glu	$\alpha_L(g^+, g^+)$	N ₁ -H ₅ ...O ₁₀	1.777	149.0	0.0390	0.1378	-0.0610	-0.0573	0.2561	0.0653
		N ₂₂ -H ₂₅ ...O ₁₀	1.782	161.5	0.0362	0.1319	-0.0539	-0.0524	0.2382	0.0281
	$\alpha_L(g^+, g^-)$	N ₁ -H ₅ ...O ₁₀	1.568	169.0	0.0632	0.1666	-0.1262	-0.1191	0.4119	0.0593
	$\alpha_L(a, a)$	C ₇ -H ₁₃ ...O ₁₁	2.228	106.1	0.0193	0.0817	-0.0190	-0.0105	0.1112	0.8028
	$\alpha_L(g^-, g^+)$	N ₁ -H ₅ ...O ₁₀	1.588	167.1	0.0603	0.1637	-0.1161	-0.1110	0.3908	0.0457
Gln	$\alpha_L(a, g^+)$	N ₁₁ -H ₁₇ ...O ₄	2.015	152.7	0.0210	0.0851	-0.0266	-0.0259	0.1376	0.0275
		N ₂₄ -H ₂₇ ...N ₁	2.275	108.0	0.0181	0.0780	-0.0179	-0.0095	0.1054	0.8863
	$\alpha_L(a, g^-)$	C ₈ -H ₁₅ ...O ₄	2.608	103.0	0.0102	0.0380	-0.0079	-0.0049	0.0508	0.6050
		N ₁₁ -H ₁₇ ...O ₄	2.131	134.2	0.0169	0.0682	-0.0180	-0.0169	0.1030	0.0671
Ile	$\alpha_L(a, g^-)$	C ₉ -H ₁₇ ...O ₄	2.279	136.8	0.0140	0.0505	-0.0137	-0.0133	0.0776	0.0311
		N ₂₆ -H ₂₉ ...N ₁	2.278	107.7	0.0181	0.0781	-0.0178	-0.0093	0.1053	0.9116
	$\alpha_L(g^-, g^+)$	N ₂₆ -H ₂₉ ...N ₁	2.291	107.5	0.0178	0.0767	-0.0173	-0.0085	0.1024	1.0379
		C ₉ -H ₁₀ ...N ₁	2.706	103.9	0.0093	0.0329	-0.0064	-0.0051	0.0443	0.2590

Las distancias están expresadas en Amstrong y $\tilde{N}^2 r_b$ en u.a.

En general las interacciones N-H...O son las más importantes y se encuentran en todas las conformaciones α_L estudiadas, con excepción de las conformaciones Isoleucina. Éstas se establecen entre el N-H del esqueleto y un O de la cadena lateral. Los EH mas fuertes se encuentran en los aminoácidos que poseen cadenas laterales cargadas (Glu y Asp), con valores de r_b cercanos a 0.0632ua. En la conformación $\alpha_L(a, g^+)$ de Gln éstas posiciones se invierten, estableciéndose el EH entre el N-H del amino y un átomo de O del esqueleto, descendiendo el valor de r_b hasta 0.0210ua y con éste la fortaleza de la interacción.

En las conformaciones α_L analizadas se encontraron, también enlaces de hidrógeno débiles del tipo C-H...O y en menor proporción C-H...N. Los EH del tipo C-H...O se establecen, principalmente entre la cadena lateral y el esqueleto. También en las conformaciones $\alpha_L(g^-, g^-)$ de Asn; $\alpha_L(a, g^+)$ de Gln y $\alpha_L(a, g^-)$ y $\alpha_L(g^-, g^+)$ de Isoleucina se encuentran enlaces de hidrógeno donde un átomo de N actúa como dador y el otro N como aceptor. Estos enlaces son topológicamente inestables, estando caracterizados por bajos valores de la densidad electrónica r_b (0.0175ua-0.0181ua), valores de elipticidad cercanos a la unidad en concordancia con los valores de los ángulos de enlace de alrededor de 107-108 grados.

Comparando estos resultados con otros obtenidos previamente por nuestro grupo y por otros investigadores indican que la "aproximación diamida" desfavorece las conformaciones α del "backbone", favoreciendo otras formas poco probables en las proteínas, como por ejemplo las formas δ_D . Sin embargo, es interesante destacar que el efecto estabilizante y/o desestabilizante de la cadena lateral juega un rol clave para las preferencias conformacionales. En este sentido, cadenas cargadas como en Glu permiten "acomodar" las formas α_L del "backbone" como conformaciones preferidas. Este efecto es menor en cadenas polares (no cargadas) y menos aún en cadenas no polares; además el largo de la cadena también tiene una influencia importante.

En las Figuras 1 y 2 se muestran las conformaciones, optimizadas a nivel DFT (B3LYP/6-31G*), analizadas en este estudio: Glu $\alpha_L(g^+, g^+)$; Glu $\alpha_L(g^+, g^-)$; Glu $\alpha_L(a, a)$; Asp $\alpha_L(g^+, a)$; Asp $\alpha_L(g^-, a)$; Ile $\alpha_L(g^-, g^+)$; Ile $\alpha_L(a, g^-)$; Glu $\alpha_L(a, a)$; Glu $\alpha_L(g^+, g^-)$; Glu $\alpha_L(g^+, g^+)$; Glu $\alpha_L(g^-, g^+)$; Gln $\alpha_L(a, g^+)$; Gln $\alpha_L(a, g^-)$; Asn $\alpha_L(g^-, g^-)$ y Gln $\alpha_L(a, g^-)$. En ellas se indican con líneas punteadas las interacciones fuertes y débiles encontradas mediante el análisis topológico. También se muestran algunos Mapas de Potencial Electroestático Molecular, obtenido mediante cálculos a nivel RHF/6-31G*, para Glu $\alpha_L(a, a)$, Glu $\alpha_L(g^+, g^-)$, Glu $\alpha_L(g^+, g^+)$, Gln $\alpha_L(a, g^+)$, Glu $\alpha_L(g^-, g^+)$. Los PEMs presentan la densidad de carga electrónica, r_b , como malla envolvente, e internamente la superficie de potencial electrostático con

un código de color. El rango de energía va desde -22.5kcal/mol (rojo intenso) a +44.5kcal/mol (azul profundo). La observación de los PEMs pone de manifiesto las interacciones, que se informan en la tabla 1, resaltando la separación de cargas que determinan los EH encontrados.

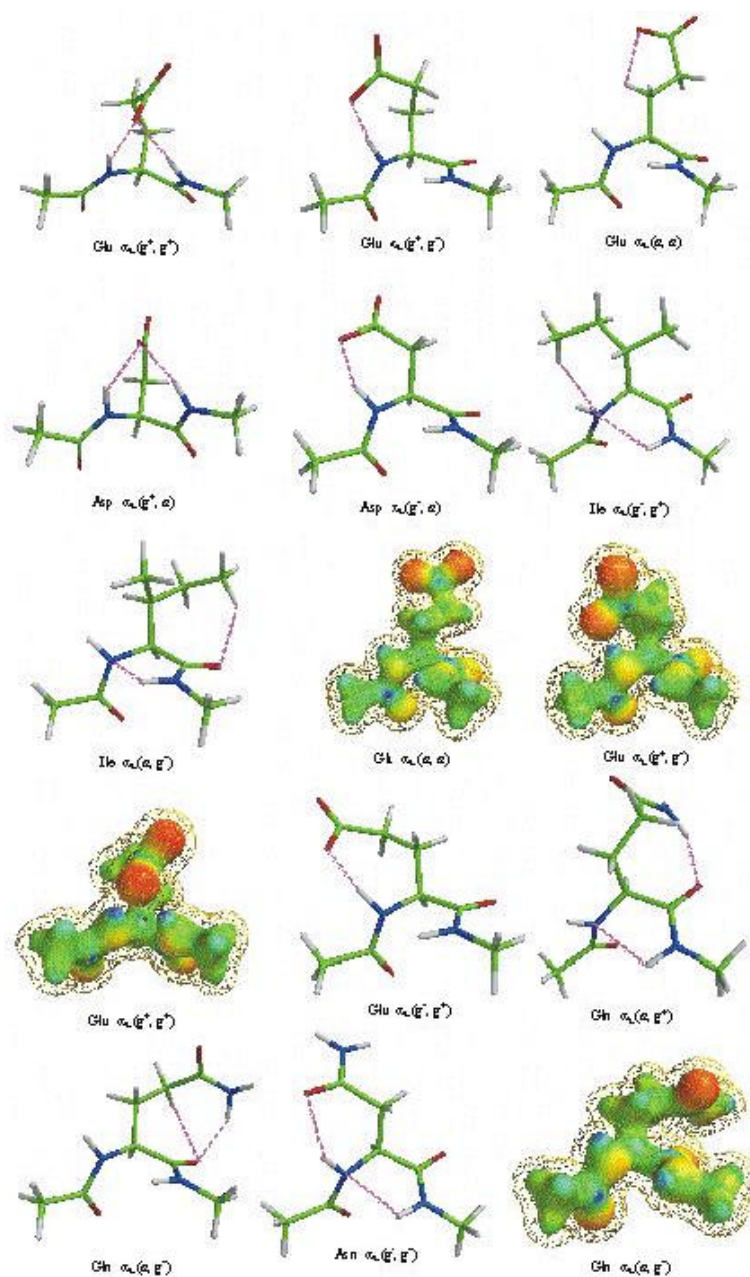


Figura 1:

Mínimos energeticos conformacionales para las formas α_L de Glu, Asp, Ile, Gln y Asn, optimizadas a nivel DFT (B3LYP/6-31G*). En ellas se indican con líneas punteadas los EH encontrados mediante el análisis topológico. También se muestran algunos Mapas de PEM, obtenidos mediante cálculos a nivel RHF/6-31G*. Los PEMs presentan la densidad de carga electrónica, r_b , como malla envolvente, e internamente la superficie de potencial electrostático con un código de color (ver texto).

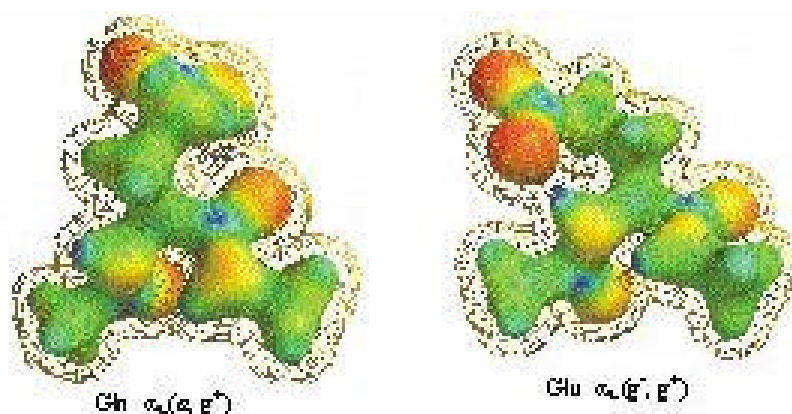


Figura 2: Mapas PEM para Gln $\alpha_L(a,g^+)$, Glu $\alpha_L(g^-,g^+)$.

CONCLUSIONES

El análisis topológico de la densidad electrónica en las distintas conformaciones α_L , en aminoácidos con cadenas laterales que presentan características diferenciadas, como ser: cadenas laterales cargadas como en Glutamato y Aspartato, cadenas laterales neutras no polares como en Isoleucina y neutras polares como en Glutamina y Asparagina, ponen de manifiesto la importancia de las interacciones de enlace de hidrógeno entre la cadena lateral y el "backbone" en la estabilización de las conformaciones α_L .

Este trabajo pone de manifiesto la importancia de analizar topológicamente en base a la densidad electrónica las interacciones fuertes y débiles que operan entre el esqueleto y la cadena lateral, para empezar a entender la estabilización de las formas α_L de los aminoácidos.

REFERENCIAS

- [1] M. F. Masman, M. A. Zamora, A. M. Rodríguez, N. G. Fidanza, N. M. Peruchena, R.D Enriz and I. G. Csizmadia. *European Physical Journal.D.* 20,531-542, 2002.
- [2] M. W. Klipfel, M. A. Zamora, A. M. Rodríguez, N. G. Fidanza, R.D. Enriz and I. G. Csizmadia. *J. Phys. Chem. A.*, 2002
- [3] F. C. Calaza, M. V. Rigo, A. N. Rinaldoni, M.F. Masman, J. C. P. Koo, A. M. Rodríguez and R. D. Enriz. *J. Mol. Struc.(Theochem)*. Aceptado para su publicación.
- [4] R.F.W. Bader. *Atoms in molecules. A Quantum Theory*, Oxford Science Publications/Clarendon press, London, 1990.
- [5] Gaussian 98, Revision A.7, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, Jr., R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, A. G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 1998.
- [6] Blieger-Konig, F. W.; Bader, R. F. W.; Tang, T. H.; *J. Comput. Chem.*, 1982, 3, 317.
- [7] PC Spartan PRO wavefunction, Inc., Pittsburgh PA(1996-2000).
- [8] G.A. Jeffrey and W. Saenger. *Hydrogen bonding in Biological Structures*. Berlin: Springer-Verlag, New York (1991).