

Peptidstrukturen

Gemischte Helices – ein allgemeines Faltungsmuster in homologen Peptiden?

Carsten Baldauf, Robert Günther und
Hans-Jörg Hofmann*

Der Verknüpfung nichtnatürlicher Monomere zu Oligomeren mit charakteristischen Sekundärstrukturen wird derzeit beträchtliche Aufmerksamkeit gewidmet.^[1] Die Motivation hierfür reicht vom Wunsch, die Struktur und Funktion von Biopolymeren besser verstehen zu können, über die Möglichkeit, Biopolymere zu imitieren, bis hin zur Entwicklung von Polymeren mit neuen Funktionen. Wesentliche Impulse hat die Erforschung solcher Foldamere^[2] durch Untersuchungen von β -Peptiden erhalten.^[3] In diesen β -Peptiden, aber auch in γ - und δ -Peptiden,^[1,4] konnten zahlreiche Sekundärstrukturelemente nachgewiesen werden.

Bei Untersuchungen von β -Peptiden haben Seebach et al. einen Sekundärstrukturtyp gefunden, den sie als „gemischte Helix“ bezeichnen.^[5] Hinweise auf gemischte Helices wurden auch von anderen Autoren beschrieben.^[6] In periodischen Helices sind alle sich wiederholenden Rückgrat-Torsionswinkel der Monomerbausteine gleich, und die Peptidbindungen sind durch Wasserstoffbrücken nach dem gleichen Muster stabilisiert. Dagegen sind gemischte Helices auf der Stufe dimerer Einheiten periodisch, da die Monomerbausteine alternierende Rückgrat-Torsionswinkel aufweisen und die Peptidbindungen abwechselnd nach unterschiedlichen Mustern in Wasserstoffbrückenbildung involviert sind. Die CO- und NH-Gruppen aufeinander folgender Peptidbindungen sind abwechselnd an Wasserstoffbrücken beteiligt, die in Vorwärts- oder Rückwärtsrichtung der Sequenz geknüpft werden. Dadurch kommt es zur Bildung sich abwechselnder, durch Wasserstoffbrücken geschlossener Ringe unterschiedlicher Größe (Abbildung 1). Bei den gemischten Helices der β -Peptide entstehen auf diese Weise 10- und 12-gliedrige Ringe, bei denen die Aminosäuren i und $(i+1)$ in Vorwärtsrichtung und die Aminosäuren i und $(i+3)$ in Rückwärtsrichtung entlang der Sequenz miteinander verknüpft sind.

Die Existenz gemischter Helices bei den β -Peptiden wirft die Frage auf, ob es sich dabei um ein allgemeines Strukturprinzip handelt, dem auch homologe γ - und δ -Peptide und sogar α -Peptide Folge leisten. Die Übertragung der bei β -

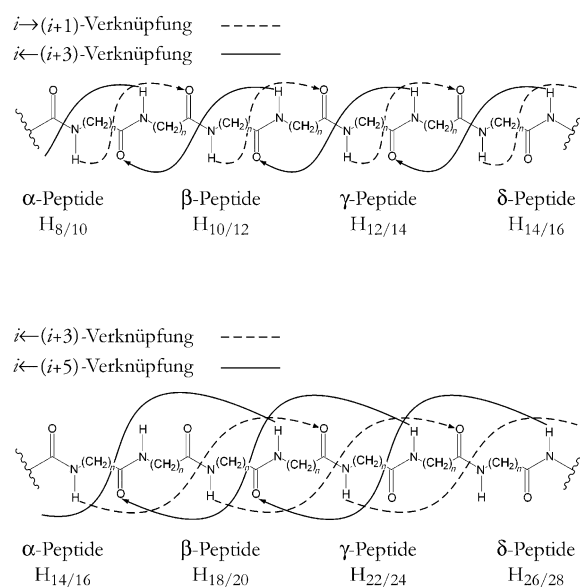


Abbildung 1. Alternative Wasserstoffbrückenmuster in gemischten Helices $H_{x/y}$ homologer α - ($n=1$), β - ($n=2$), γ - ($n=3$) und δ -Peptide ($n=4$). Der Index x/y gibt die Zahl der Atome in den alternierenden, durch Wasserstoffbrücken geschlossenen Ringen an.

Peptiden gefundenen Strukturprinzipien auf die homologen Peptide führt zu den in Abbildung 1 gezeigten Wasserstoffbrückenmustern mit $i \rightarrow (i+1)/i \leftarrow (i+3)$ -Verknüpfung der Aminosäuren. Darüber hinaus ist denkbar, das Prinzip auf gemischte Helices mit noch größeren alternierenden Ringssystemen zu erweitern. Die sich ergebenden Möglichkeiten für die Bildung der nächstgrößeren alternierenden Ringssysteme mit einer $i \rightarrow (i+3)/i \leftarrow (i+5)$ -Verknüpfung der Aminosäuren sind ebenfalls in Abbildung 1 dargestellt. Schließlich ist zu klären, ob für ein Wasserstoffbrückenmuster mehrere Strukturalternativen möglich sind.

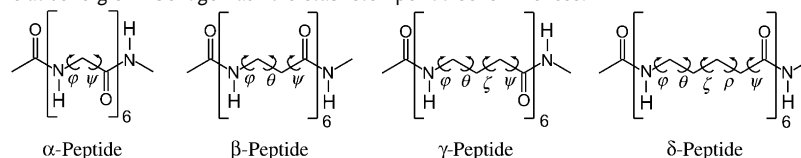
Mithilfe theoretischer Methoden lassen sich derartige Fragen beantworten. Der gesamte Konformationsraum von Hexameren der α -, β -, γ - und δ -Peptide wurde systematisch nach gemischten Helices mit den in Abbildung 1 gezeigten Wasserstoffbrückenmustern durchsucht. Dazu wurden die Rückgrat-Torsionswinkel φ , θ , ζ , ρ und ψ in den jeweiligen Oligomeren (Formelbilder in Tabelle 1) in angemessenen Intervallen variiert,^[7] und es ergaben sich etwa 1.1×10^5 , 1.7×10^6 , 1.1×10^6 bzw. 6.3×10^5 Konformationen bei α -, β -, γ - und δ -Peptiden. Bei letzteren wurde nur nach gemischten Helices mit der Kombination der kleineren Ringe gemäß Abbildung 1 gesucht. Da in Oligomeren von sechs Aminosäuren mit Randeffekten gerechnet werden muss, wurden sowohl die Hexamere in Betracht gezogen, bei denen der kleinere Ring dem größeren vorausgeht, als auch die mit der umgekehrten Abfolge der Ringe. In den jeweiligen Pools der Konformationen wurden dann die Kandidaten für gemischte Helices auf der Basis allgemeiner Geometriekriterien für die Bildung von Wasserstoffbrücken ermittelt. Je nach Peptid- und Helixtyp waren das zwischen 5 und 30 Konformationen, die den Wasserstoffbrückenmustern der Abbildung 1 entsprachen. Diese Strukturen waren die Basis für Geometrieoptimierungen^[8a] auf verschiedenen Näherungsniveaus der Ab-initio-

[*] Dipl.-Biochem. C. Baldauf, Dr. R. Günther, Prof. H.-J. Hofmann
Institut für Biochemie, Universität Leipzig
Brüderstraße 34, 04103 Leipzig (Deutschland)
Fax: (+49) 341-973-6998
E-mail: hofmann@uni-leipzig.de

[**] Diese Arbeit wurde unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Projekt HO2346/1 „Sekundärstrukturbildung in Peptiden mit nichtproteinogenen Aminosäuren“ und SFB 610 „Proteinzustände mit zellbiologischer und medizinischer Relevanz“) und den Fonds der Chemischen Industrie.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Tabelle 1: Grundmuster gemischter Helices in Hexameren von α -, β -, γ - und δ -Peptiden charakterisiert durch die jeweiligen Rückgrat-Torsionswinkel^[a] φ , θ , ξ , ρ und ψ sowie die Relativenergien^[b] bezogen auf die stabilsten periodischen Helices.



Typ ^[c]	φ	θ	ψ	ΔE			Typ ^[c]	φ	θ	ζ	ΔE			B3LYP	PCM
				HF	B3LYP	PCM					ρ	ψ	HF		
α -Peptide							γ -Peptide								
H _{14/16}	81		−67	−36.2	−65.3	46.4	H _{14/12} ^I	−91	79	−80		162	19.9	13.7	49.3
	−81		85					94	84	−73		−29			
H ₁₀ ^[d]	−63		−20	0.0	0.0	0.0	H _{14/12} ^{II}	65	56	−126		−53	46.7	45.8	80.2
								−64	−37	−61	143				
β -Peptide															
H _{12/10} ^I	−102	61	89	−82.6	−79.5	−10.7	H _{24/22} ^I	74	−177	−80		−168	12.3	9.9	40.9
	90	66	−111					−125	62	−77		154			
H _{12/10} ^{II}	87	61	−96	−44.1	−54.6	31.0	H _{24/22} ^{II}	117	−68	−174		128	44.5	45.8	68.1
	−27	−50	160					−89	−72	83		58			
H _{10/12} ^{III}	179	−62	−21	−45.9	−56.0	26.6	H _{24/22} ^{III}	94	79	−66		−102	72.0	67.1	87.0
	−93	51	87					123	64	66		16			
H _{20/18} ^I	91	66	171	−69.5	−57.4	12.8	H ₁₄	138	−60	−65		141	0.0	0.0	0.0
	−79	−57	149												
							δ -Peptide								
H _{20/18} ^{II}	99	67	173	−35.3	−28.1	36.7	H _{14/16} ^I	−172	159	−77	−68	131	−1.9	−10.0	89.5
	−150	57	47					76	69	−167	82	−126			
H _{20/18} ^{III}	153	162	69	−27.9	−20.9	39.5	H _{16/14} ^{II}	113	−54	−62	167	159	2.4	−14.2	90.0
	73	52	−144					−126	82	−66	−67	164			
H _{18/20} ^{IV}	79	−171	100	−0.5	−1.4	67.7	H ₁₀	98	−62	−68	169	−85	0.0	0.0	40.2
	110	−48	−43												
H ₁₄	−148	61	−138	13.4	26.0	0.0	H ₈	180	66	−142	69	−173	19.1	28.2	0.0
H ₁₂	−87	92	−109	0.0	0.0	22.6									

[a] Winkel in Grad. Nur die Winkel der beiden zentralen Aminosäuren sind angegeben. Die Winkel aller Aminosäuren auf allen Nährungsniveaus sind als Hintergrundinformationen erhältlich. [b] Relativenergien auf HF/6-31G*, DFT/B3LYP/6-31G*- und PCM//HF/6-31G*-Niveau (Lösungsmittel Wasser) in kJ mol⁻¹. Die stabilsten Strukturen sind hervorgehoben. Die Totalenergien der als Bezugspunkt dienenden periodischen Helices sind als Hintergrundinformationen erhältlich. [c] H_{x/y} bezeichnet gemischte Helices mit alternierenden, durch Wasserstoffbrücken geschlossenen Ringen mit x und y Atomen. H₁ bezeichnet periodische Helices mit Ringen, die von x Atomen gebildet werden. [d] 3₁₀-Helix.

MO-Theorie, die sich bei der Konformationsanalyse von Peptiden bewährt haben (HF/6-31G*, B3LYP/6-31G*).^[9] Die erhaltenen stationären Punkte auf der Energiehyperfläche wurden über die Eigenwerte der Kraftkonstantenmatrix charakterisiert.

Unsere Berechnungen nach beiden Ab-initio-Modellen zeigen übereinstimmend, dass sich für alle homologen Peptide gemischte Helices als Energieminima lokalisieren lassen. In den β -, γ - und δ -Peptiden gibt es sogar mehrere Vertreter für die untersuchten Wasserstoffbrückenmuster, gekennzeichnet durch hochgestellte römische Zahlen am Helixsymbol in Tabelle 1. Die gemischte Helix der α -Peptide hat eine alternierende Abfolge von 14- und 16-gliedrigen Ringen. Die Modellstrukturen der α -Peptide mit den kleine-

ren 8- und 10-gliedrigen Ringen ließen sich nicht als Energieminima lokalisieren. Die Grundmuster der gemischten Helices in den verschiedenen homologen Peptiden werden durch die in Tabelle 1 angegebenen Rückgrat-Torsionswinkel in den Monomerbausteinen charakterisiert. Die jeweils stabilsten Helices sind in Abbildung 2 dargestellt. Durch Kraftfeld-Rechnungen (CHARMm23.1)^[10] zeigt sich, dass die für die Hexamere gefundenen Strukturen auch in Sequenzen mit 20 Monomerbausteinen erhalten bleiben.

Neben der Strukturvielfalt gemischter Helices in den homologen Peptiden beeindruckt ihre hohe Stabilität, die jene periodischer Helices, besonders bei den β -Peptiden, beträchtlich übertrifft (Tabelle 1). Bei den α -Peptiden wurde für den energetischen Vergleich die auf der Hexamerstufe

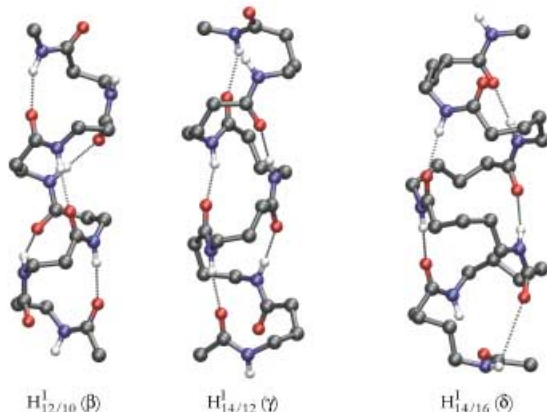
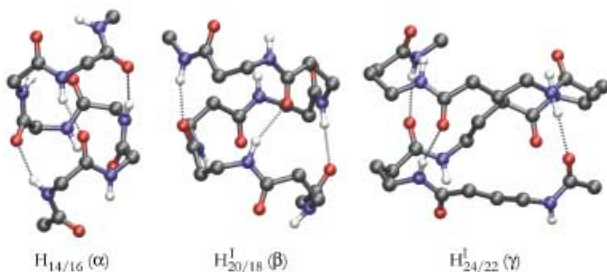
$i \rightarrow (i+1)/i \leftarrow (i+3)$ -Verknüpfung

 $i \rightarrow (i+3)/i \leftarrow (i+5)$ -Verknüpfung


Abbildung 2. Die stabilsten gemischten Helices in den Hexameren der homologen α -, β -, γ - und δ -Peptide für die untersuchten Wasserstoffbrückenmuster.

noch dominierende 3_{10} -Helix ausgewählt, in der sich durch Wasserstoffbrücken 10-gliedrige Ringe bilden. Im Fall der β -Peptide wurden die experimentell gefundenen und theoretisch als besonders stabil bestätigten periodischen Helices mit 14- bzw. 12-gliedrigen Ringen^[11] und bei den γ -Peptiden eine ebenfalls nachgewiesene, sehr stabile Helix mit 14-gliedrigen Ringen herangezogen.^[4a,12] Bei den δ -Peptiden dienten die von uns berechneten stabilsten periodischen Strukturen mit 8- bzw. 10-gliedrigen Ringen als Bezugspunkt. Die beiden verwendeten Ab-initio-Modelle stimmen in ihren Stabilitätsvoraussagen weitgehend überein. Lediglich bei den δ -Peptiden sind die beiden gemischten Helices und die periodische Bezugsstruktur auf Hartree-Fock-Niveau energetisch nahezu gleichwertig, während laut Dichtefunktionalrechnungen die gemischten Helices deutlich stabiler sind.

Vermutlich ist der Einfluss des Mediums die Ursache für die größere Zahl bekannter periodischer Helixstrukturen in den homologen Peptiden, während bisher nur eine einzige gemischte Helix bekannt ist. Durch die vorwärts- und rückwärtsgerichteten Wasserstoffbrücken alternierender Ringe kann im Gegensatz zu periodischen Helices kein sehr großer Helixdipol entstehen, wie der Vergleich der Dipolmomente zeigt ($\mu = 3.8$ D für die Hexamere der stabilsten gemischten Helix der β -Peptide, $\mu = 31.5$ D für die der stabilsten periodischen β -Peptidhelix mit 14-gliedrigen Ringen). Die Bildung

gemischter Helices ist somit in polaren Medien benachteiligt und eher in weniger polaren Medien zu erwarten. Um den Einfluss des Mediums abzuschätzen, wurden die Solvationsenergien für das Lösungsmittel Wasser nach dem polarisierbaren Kontinuumsmodell (PCM//HF/6-31G*)^[8b] berechnet. Nach den Ergebnissen sind die gemischten Helices, insbesondere bei den α -, γ - und δ -Peptiden, nun instabiler als die periodischen Faltungsalternativen. Lediglich bei den β -Peptiden bleiben gemischte Helices auch im stark polaren Milieu konkurrenzfähig (Tabelle 1).

Eine Lenkung der Strukturbildung hin zu gemischten Helices ist auch durch Einführung geeigneter Substituenten in die Monomerbausteine möglich.^[13] So zeigen unsere Berechnungen für alle möglichen Substitutionsmuster in Modellen gemischter Helices von β -Peptiden, über die an anderer Stelle berichtet wird, dass die von Seebach et al. gefundene gemischte Helix besonders stabil ist, bei der sich Monomere mit Substituenten am α - und β -Kohlenstoffatom abwechseln. Damit erweisen sich gemischte Helices als eine interessante Alternative der Sekundärstrukturbildung in homologen Peptiden von allgemeiner Bedeutung.

Eingegangen am 4. November 2003 [Z53249]

Stichwörter: Ab-initio-Rechnungen · Foldamere · Konformationsanalyse · Peptide · Sekundärstruktur

- [1] D. J. Hill, M. J. Mio, R. B. Prince, T. S. Hughes, J. S. Moore, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893.
- [2] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173.
- [3] a) R. P. Cheng, S. H. Gellman, W. F. DeGrado, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219; b) D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun.* **1997**, 2015; c) W. F. DeGrado, J. P. Schneider, Y. Hamuro, *J. Pept. Res.* **1999**, *54*, 206.
- [4] a) T. Hintermann, K. Gademann, B. Jaun, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 983; b) S. Hanessian, X. Luo, R. Schaum, S. Michnick, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569; c) D. D. Long, N. L. Hungerford, M. D. Smith, D. E. A. Brittain, D. G. Marquess, T. D. W. Claridge, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2195.
- [5] a) D. Seebach, K. Gademann, J. V. Schreiber, J. L. Matthews, T. Hintermann, B. Jaun, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 2033; b) M. Rueping, J. V. Schreiber, G. Lelais, B. Jaun, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 2577.
- [6] a) S. A. W. Gruner, B. Truffault, G. Voll, E. Locardi, M. Stöckle, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4366; b) G. V. M. Sharma, K. R. Reddy, P. R. Krishna, A. R. Sankar, K. Narsimulu, S. K. Kumar, P. Jayaprakash, B. Jagannadh, A. C. Kunwar, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13670.
- [7] Variation der Rückgrat-Torsionswinkel den Alternanzbedingungen gemischter Helices folgend: α -Peptide: φ , ψ in 30° -Schritten; β -Peptide: φ , θ , ψ in 30° -Schritten; γ -Peptide: φ , θ , ζ , ψ in 60° -Schritten; δ -Peptide: φ und ψ in 60° -, θ , ζ und ρ in 120° -Schritten; für die Torsionswinkel $\omega = 180^\circ$ der *trans*-Peptidbindungen wurden Veränderungen von $\pm 15^\circ$ zugelassen.
- [8] a) Gaussian98 (Revision A.11.3), M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, 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, 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. G. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **1998**;
- b) Gamess (Version: 20 JUN 2002 (R2)) M. W. Schmidt, K. K. Baldridge, J. A. Boatz, S. T. Elbert, M. S. Gordon, J. H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K. A. Nguyen, S. J. Su, T. L. Windus, M. Dupuis, J. A. Montgomery, *J. Comput. Chem.* **1993**, *14*, 1347.
- [9] a) T. Head-Gordon, M. Head-Gordon, M. J. Frisch, C. L. Brooks III, J. A. Pople, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5989; b) G. Endredi, A. Perczel, O. Farkas, M. A. McAllister, G. I. Csonka, J. Ladik, I. G. Csizmadia, *J. Mol. Struct.* **1997**, *391*, 15; c) K. Möhle, M. Gussmann, A. Rost, R. Cimiraglia, H.-J. Hofmann, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 8571.
- [10] a) F. A. Momany, R. Rone, *J. Comput. Chem.* **1992**, *13*, 888; b) F. A. Momany, R. Rone, H. Kunz, R. F. Frey, S. Q. Newton, L. Schäfer, *J. Mol. Struct.* **1993**, *286*, 1.
- [11] a) D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 913; b) D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, D. R. Powell, X. Huang, J. J. Barchi, Jr., S. H. Gellman, *Nature* **1997**, *387*, 381; c) K. Möhle, R. Günther, M. Thormann, N. Sewald, H.-J. Hofmann, *Biopolymers* **1999**, *50*, 167; d) Y.-D. Wu, D.-P. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13485; e) X. Daura, K. Gademann, B. Jaun, D. Seebach, W. F. van Gunsteren, A. E. Mark, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 249; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 236; f) R. Günther, H.-J. Hofmann, K. Kuczera, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 5559.
- [12] C. Baldauf, R. Günther, H.-J. Hofmann, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2573.
- [13] a) Y.-D. Wu, D. P. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9352; b) T. A. Martinek, F. Fülöp, *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 3657.