



Uniwersytet Opolski

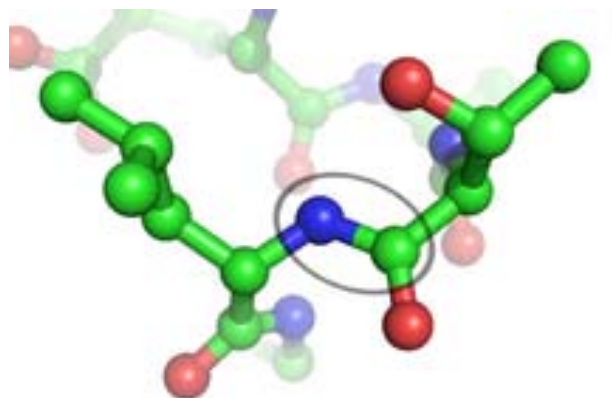
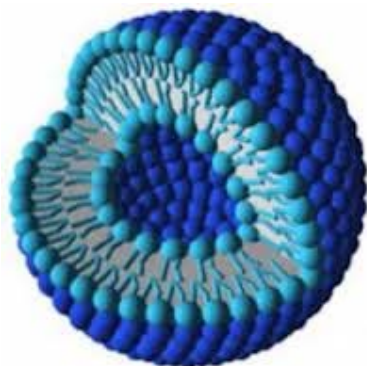
Zakład Chemii Fizycznej i  
Modelowania Molekularnego



Politechnika  
Wrocławska

## Interaction between model peptides and lecithin

Roksana Wałęsa, Dawid Siodłak, Teobald Kupka, Małgorzata Broda

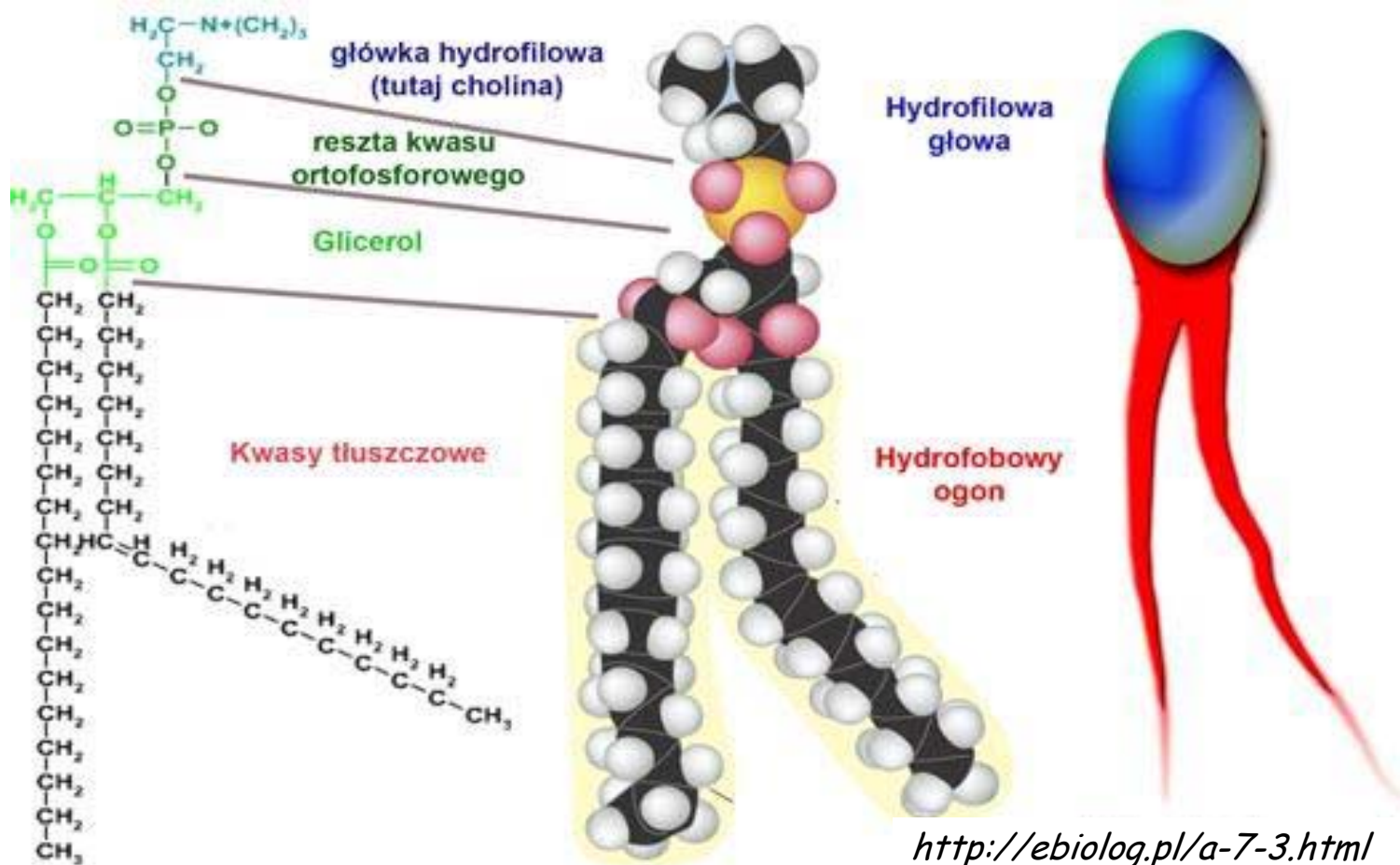


**Konferencja Użytkowników  
Komputerów Dużej Mocy**

Zakopane, 12 - 14 marca 2014 r.

# Lecytyny

- grupa organicznych związków chemicznych zaliczanych do **fosfolipidów**, w których **reszta fosforanowa** zestryfikowana jest **choliną**.
- lecytyny zwykle otrzymuje się z **żółtek jajek kurzych, rzepaku lub ziaren soi**.



# Liposomy

z gr. ciątka lipidowe powstające samoistnie postać **pęcherzyków** z kilkunastu przestrzeni od siebie zamkniętymi dwuwarstwami fosfolipidowymi

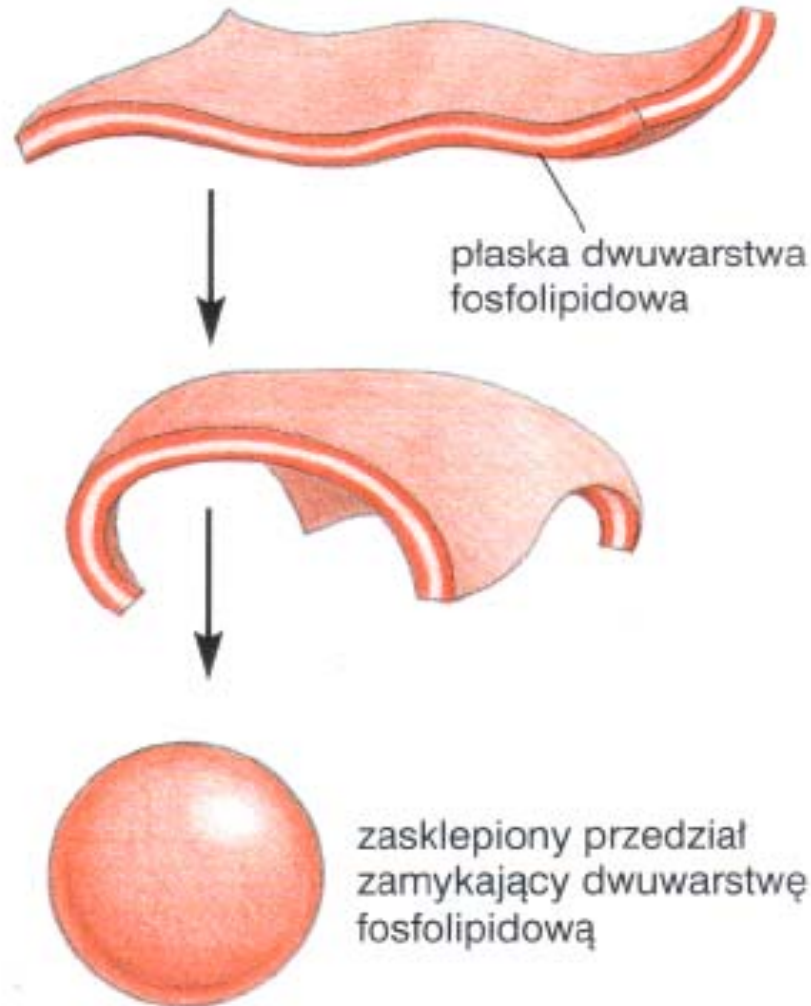
## Podział liposomów:

**Liposomy z więcej niż jedną warstwą**  
**Liposomy wielowarstwowe**  
**Pęcherzyki oligolamelarne**

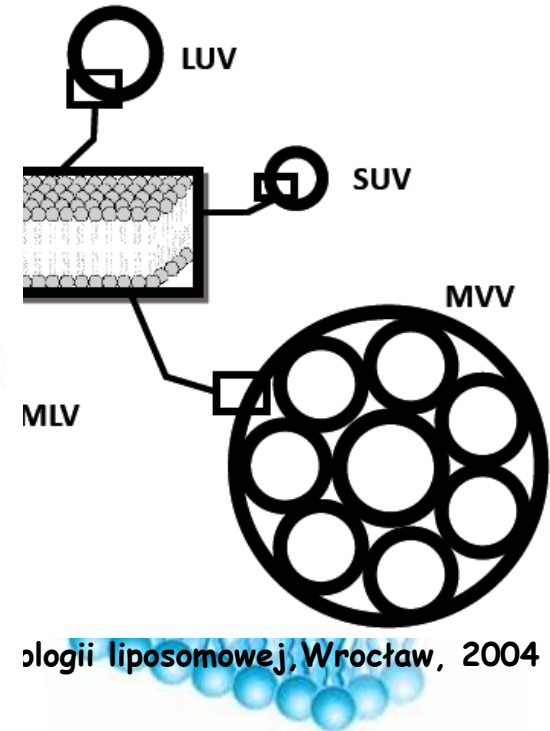
**Liposomy jednowarstwowe**  
**Małe liposomy jednowarstwowe**  
 - 0,03 μm)

**Duże liposomy jednowarstwowe**  
**Olbrzymie jednowarstwowe**  
**Wielopęcherzykowe liposomy**

ENERGETYCZNIE NIEKORZYSTNE



ENERGETYCZNIE KORZYSTNE



Biologia liposomowej, Wrocław, 2004

- 10 μm)
- 1 μm)
- 1 μm)
- small vesicles*) - SUV (0,02 - 1 μm)
- LUV (0,05 - 1 μm)
- GUV > 1 μm
- > 1 μm

# Liposomy jako nośniki substancji aktywnych

Przykład ulokowania leku w liposomie

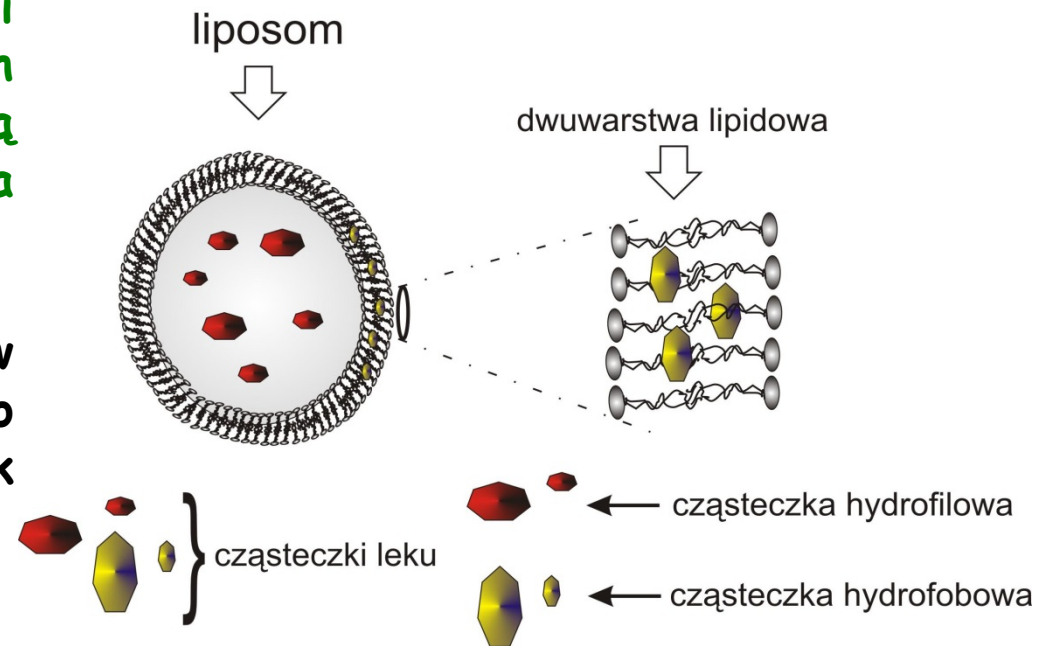
Liposomy:

- ułatwiają penetrację substancji aktywnych w kolejnych warstwach naskórka, przez co umożliwiają uzyskanie odpowiedniego stężenia terapeutycznego w skórze,

- dają możliwość umieszczania w nich związków zarówno o charakterze lipofilowym jak i hydrofilowym

- minimalizują wystąpienie efektów ubocznych

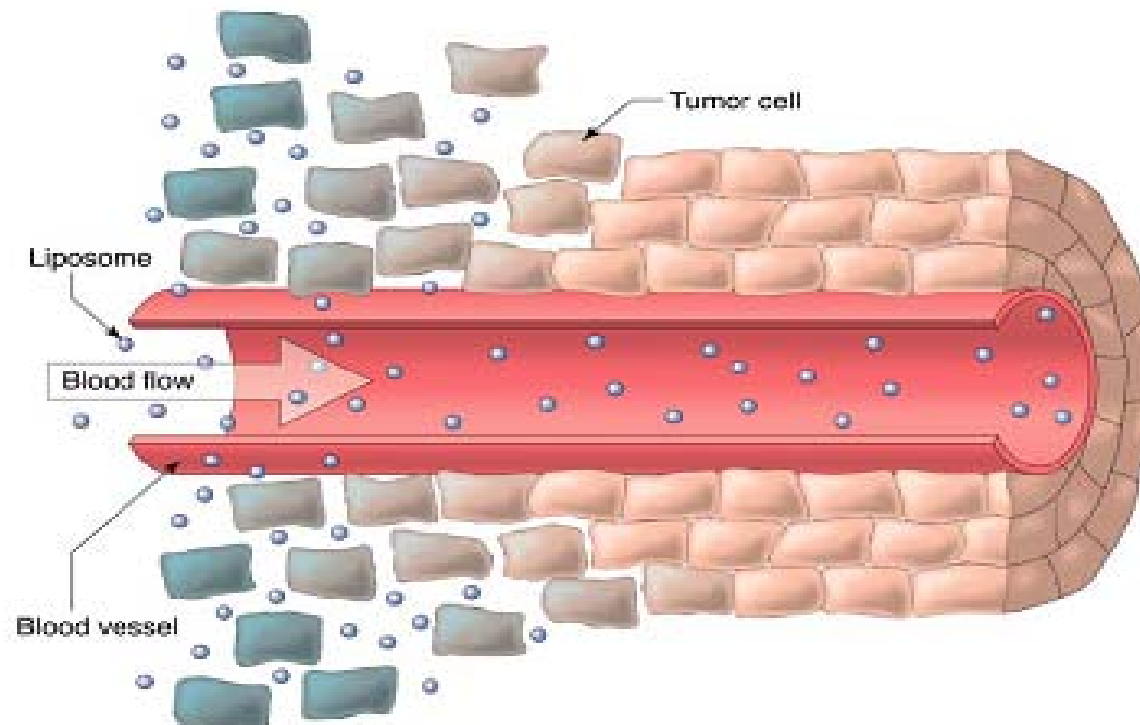
- izolują substancję leczniczą w swoim wnętrzu np. przed działaniem enzymów proteolitycznych



Pierwszy przeciwzmarszczkowy krem z liposomami powstał w 1986 r. w laboratorium Diora.

# Liposomy w leczeniu choroby nowotworowej

Substancje chemiczne stosowane **w chemioterapii** niszczą komórki nowotworowe, jednak jednocześnie, niszczone są również komórki zdrowe. Zatem precyzyjne skierowanie leku pod wskazany adres powoduje znaczne **obniżenie toksyczności oraz zmniejsza działania niepożądane.**



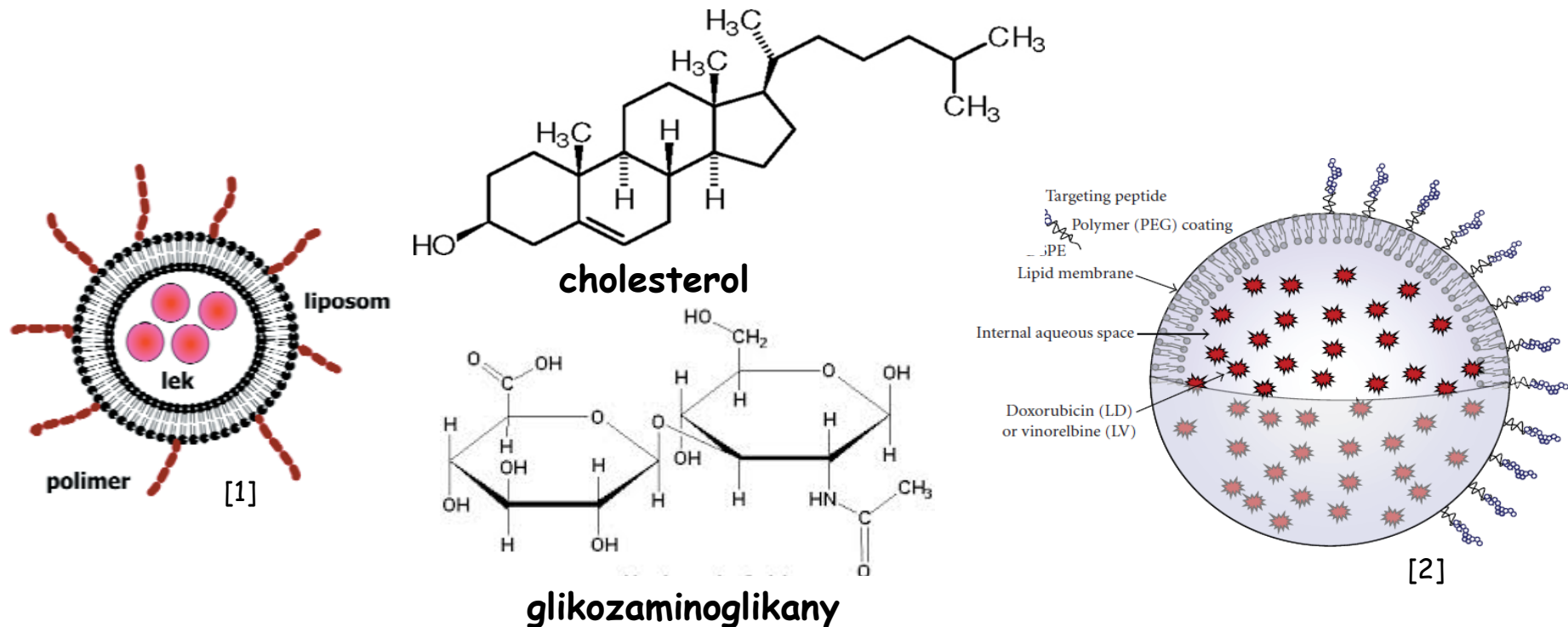
# Leki zamknięte w formulacjach liposomowych

Nazwa produktu	Rok zatwierdzenia	Substancja czynna Stosunek lipid:lek	Skład liposomów	Zastosowanie
AmBisome	1990	Amfoterycyna B 7:1	HSPC/Chol/DSPG -Alfa-tokoferol 4.26:1.04:1.68:0. 13	Poważne infekcje grzybicze
Doxil	1995	Doksyrybicyna 8:1	HSPC/Chol/DSPE -PEG 2000 6.5:3.5:0.5	Leczenie mięsaka Kaposiego u pacjentów z AIDS
ABELCET	1995	Amfoterycyna B 1:1	DMPC/DMPG 7:3	Poważne infekcje grzybicze
DaunoXome	1996	Daunorubicyna 15:1	DSPC/Chol 2:1	Leczenie mięsaka Kaposiego u pacjentów z AIDS
Visudyne	2000	Werteporfiryna	-	Zwyrodnienie plamki żółtej
Myocet	2001	Chlorowodorek doksorubicyna 19:1	EPC/Chol 2.5:1	Leczenie kobiet z rakiem piersi z przerzutami
DepoCyte	2002	cytarabina	-	Zapalenie opon mózgowych w wyniku przebiegu chłoniaka
DepoDur	2004	Morfina	-	Ból po operacji

# Stabilność liposomów

W lipidową dwuwarstwę pęcherzyków liposomowych mogą być wbudowywane inne cząsteczki np. **cholesterol**, **sfingomielin**, **glikolipidy**, **glikozoaminoglikany**, **lipidowe pochodne polimerów**. Cząsteczki te podnoszą stabilność liposomów in vivo.

Inkorporacja **peptydów** pozwala na kierowanie liposomów do docelowej tkanki.



[1] Nevozhay D, Kańska U, Budzyńska R, Boratyński J, Current status of research on conjugates and related drug delivery systems in the treatment of cancer and other diseases. Postepy Hig Med Dosw, 2007; 61: 350-360

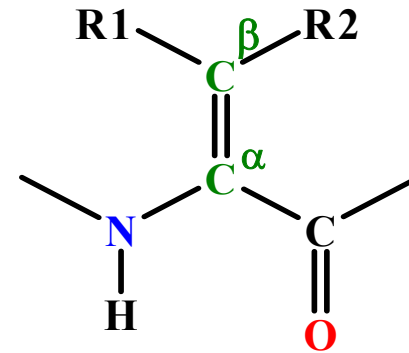
[2] Wu HC, Chang DK. Peptide-Mediated Liposomal Drug Delivery System Targeting Tumor Blood Vessels in Anticancer Therapy, J Oncol, 2010, 1-8.

# Modyfikacje strukturalne peptydów

## (1) N-metylowanie

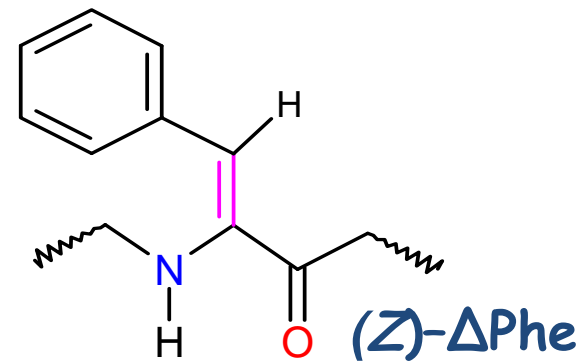


## (2) wprowadzenie reszty $\alpha,\beta$ -dehydroaminokwasowej



## Zalety:

- wzrost **stabilności enzymatycznej**
- wzrost **selektywności działania**
- **lepsza przenikalność przez błony biologiczne**



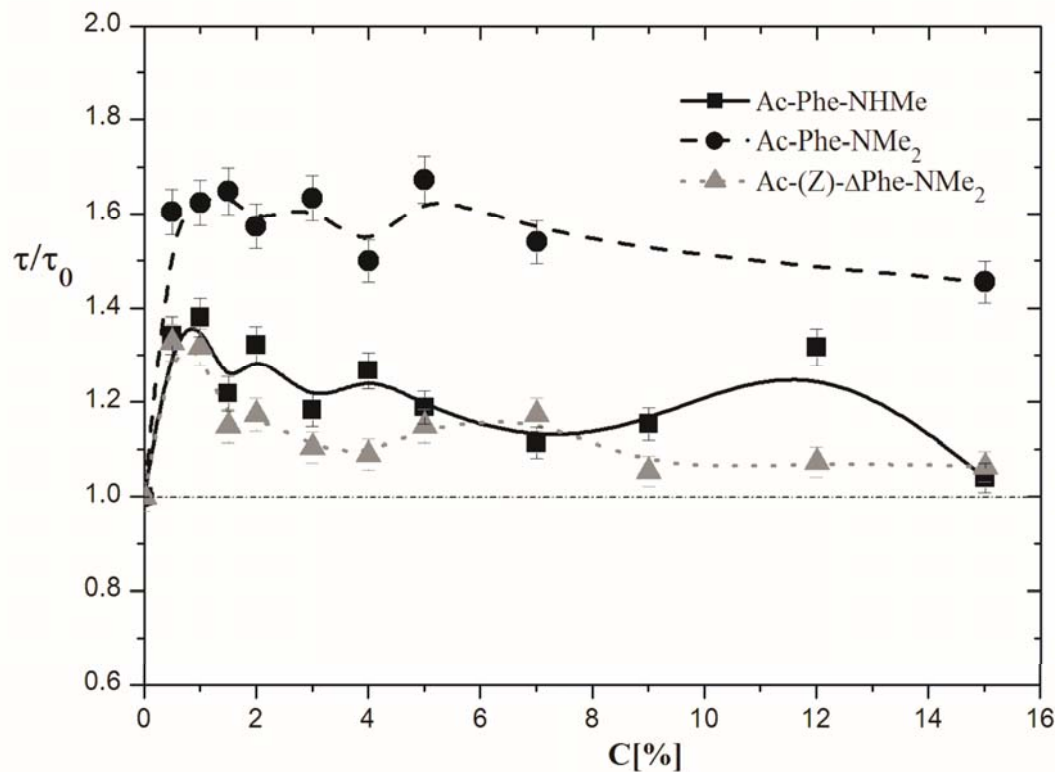
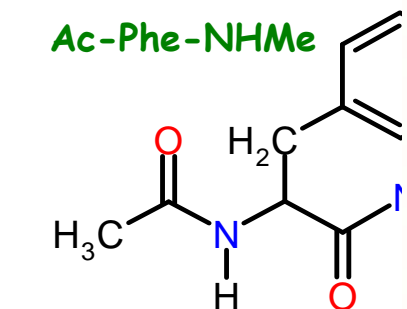


# Badania EPR: sonda 16-DOXYL

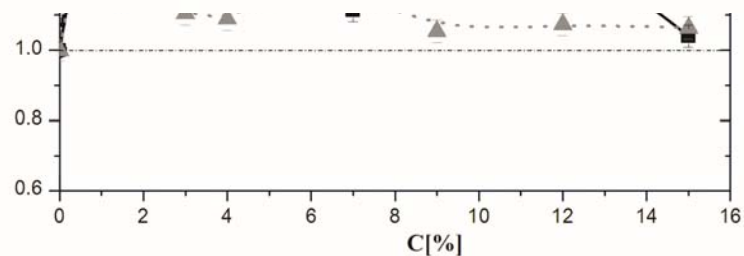
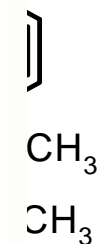
## Sondy spinowe

Liposomy są **diamagnetyczne** (bardzo słabo oddziałują z polem magnetycznym) w ich błonach umieszcza

Sondy umieszczone



namice



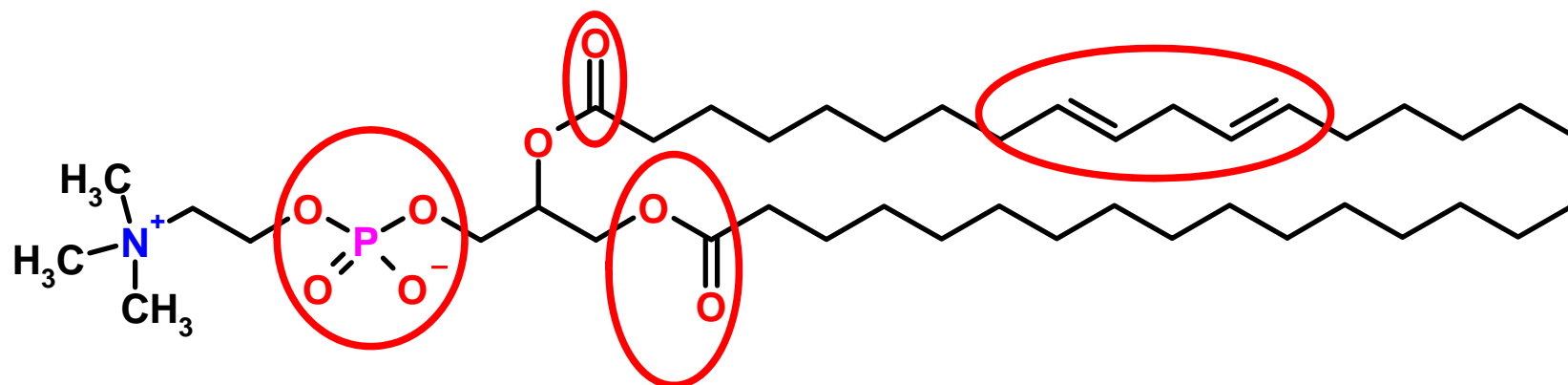
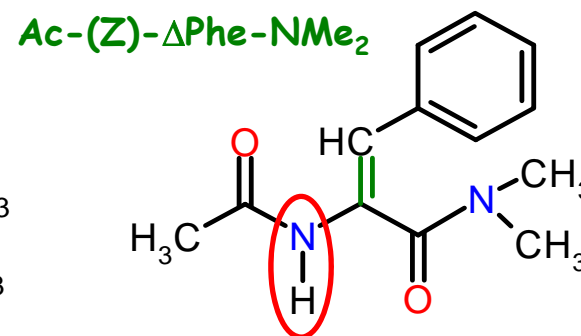
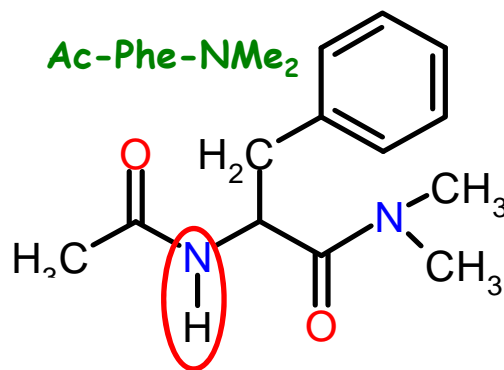
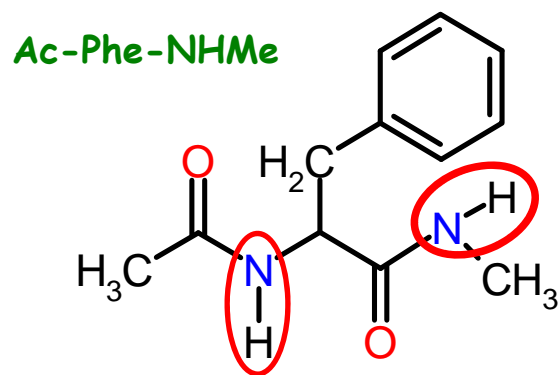
# Techniczne aspekty obliczeń: optymalizacja geometrii

Program: Gaussian 09

Czas obliczeń:

8 procesorów ~ 250 h

Metoda: M06-2X/6-31G(d)



# Oddziaływania stabilizujące kompleksy

wiązania wodorowe:



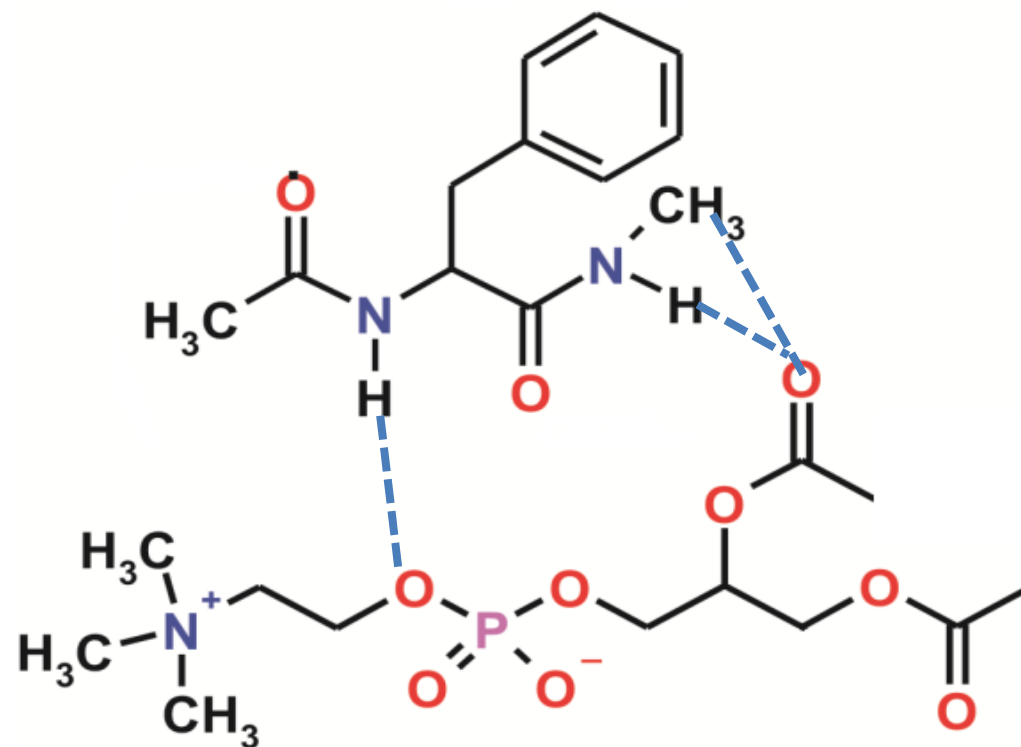
kryteria:

$$d(\text{A}^* \cdots \text{H}) < 3.2 \text{ \AA}$$

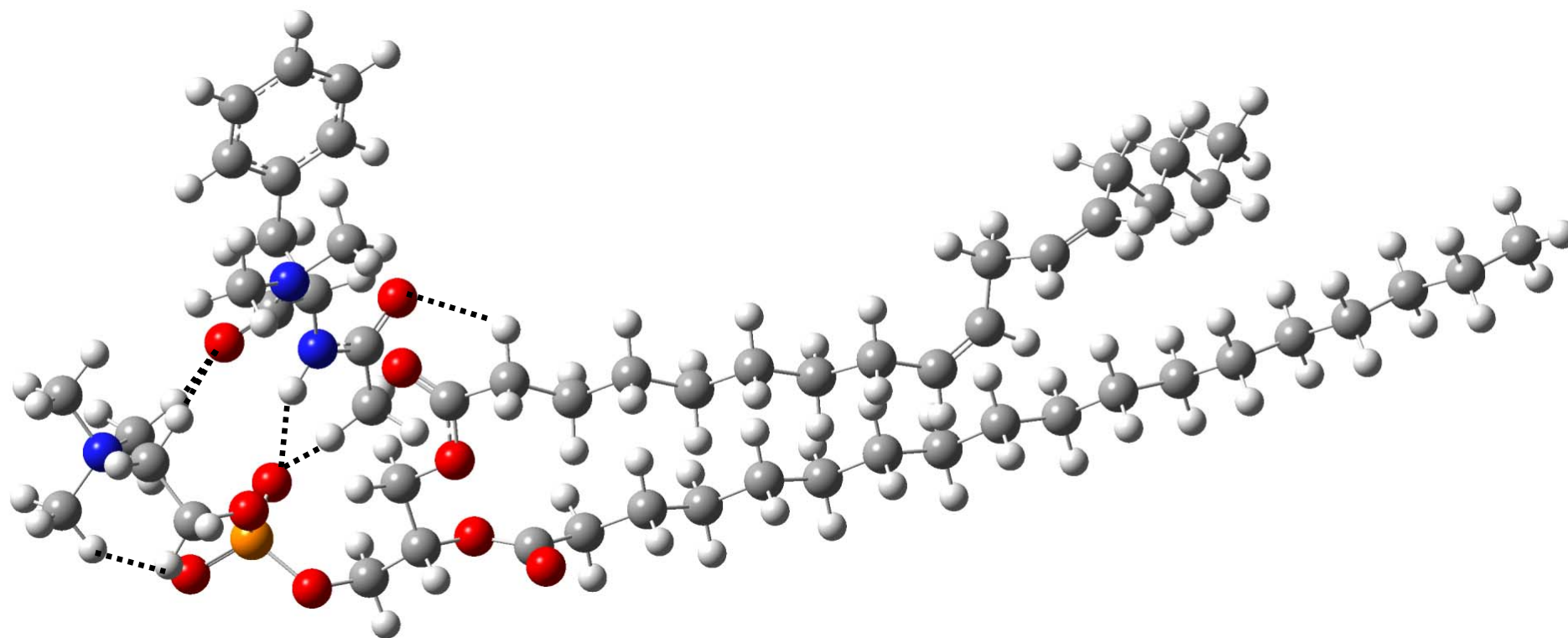
$$\angle \text{D}^* - \text{H} \cdots \text{A} > 90^\circ$$

\*A-akceptor (A=O)

\*D-donor (D=N,C)



# Oddziaływania stabilizujące kompleksy



# Oddziaływania stabilizujące kompleksy

wiązania wodorowe:



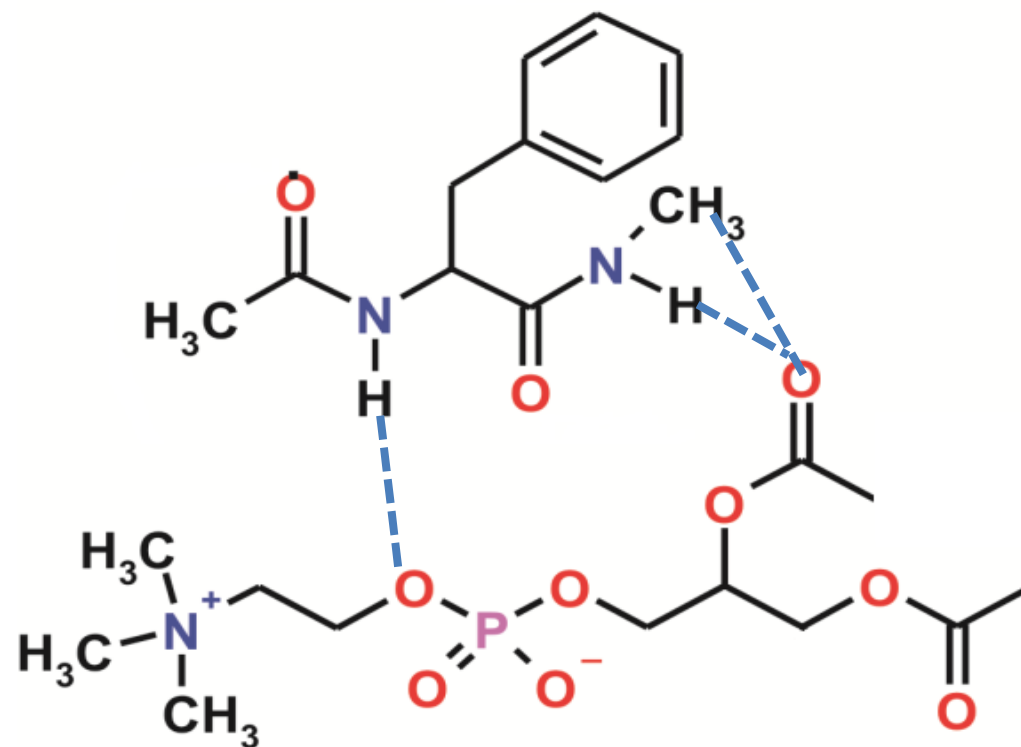
kryteria:

$$d(\text{A}^* \cdots \text{H}) < 3.2 \text{ \AA}$$

$$\angle \text{D}^* - \text{H} \cdots \text{A} > 90^\circ$$

\*A-akceptor (A=O)

\*D-donor (D=N,C)



# Wyniki: Ac-Phe-NHMe

$\Delta E$

24.54

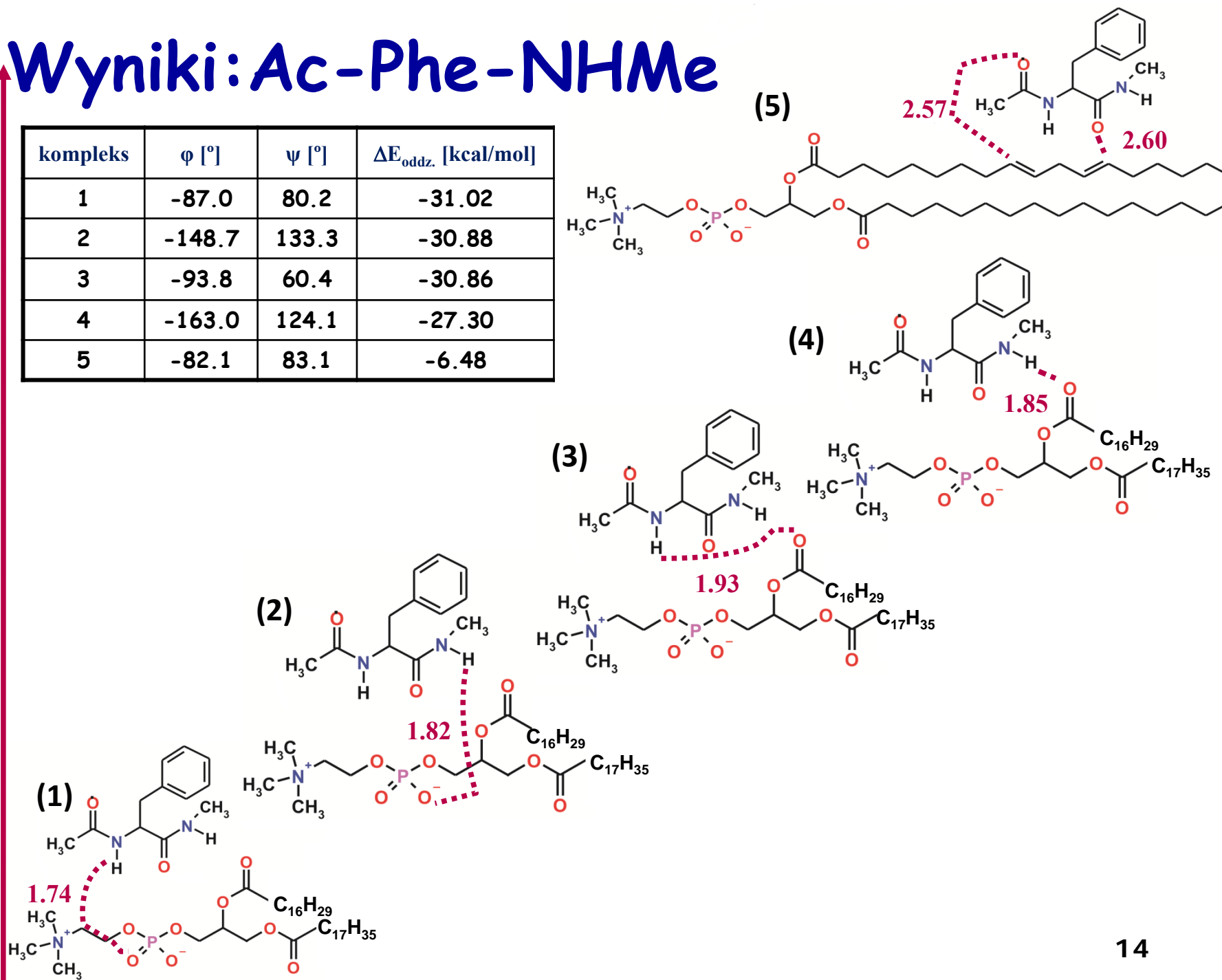
3.72

0.16

0.14

0.00

kompleks	$\phi$ [°]	$\psi$ [°]	$\Delta E_{\text{oddz.}}$ [kcal/mol]
1	-87.0	80.2	-31.02
2	-148.7	133.3	-30.88
3	-93.8	60.4	-30.86
4	-163.0	124.1	-27.30
5	-82.1	83.1	-6.48



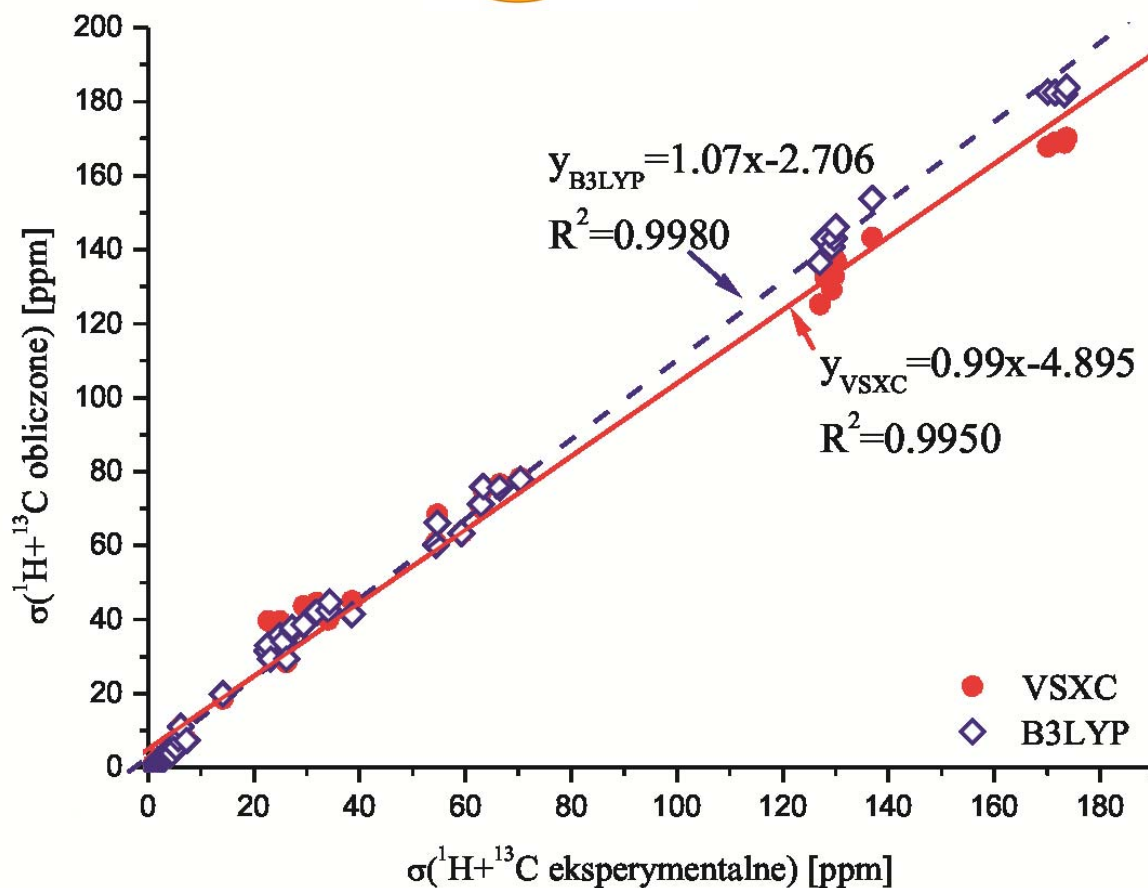
# Wyniki NMR: Ac-Phe-NHMe

Metody obliczeniowe: **VSXC**, **B3LYP**

Bazy funkcyjne: **STO-3G<sub>mag</sub>**



**aug-cc-PVTZ-J**



Wyniki: Wartości RMS dla obliczonych parametrów  
 NMR kompleksów **lecytyna : Ac-Phe-NHMe**

kompleks		RMS			RMS			RMS	
		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP
1	<sup>1</sup> H	1.22	1.20	<sup>13</sup> C	8.79	10.36	<sup>1</sup> H+ <sup>13</sup> C	6.91	8.18
2		1.13	1.10		8.60	10.11		6.80	7.98
3		0.96	0.96		8.95	10.77		7.06	8.49
4		1.13	1.05		9.04	10.45		7.14	8.25
5		0.95	0.82		9.10	10.76		7.18	8.47



Wyniki: Wartości RMS dla obliczonych parametrów  
NMR kompleksów **lecytyna : Ac-Phe-NHMe**

kompleks		RMS			RMS			RMS	
		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP
1	<sup>1</sup> H	1.22	1.20	<sup>13</sup> C	8.79	10.36	<sup>1</sup> H+ <sup>13</sup> C	6.91	8.18
2		1.13	1.10		8.60	10.11		6.80	7.98
3		0.96	0.96		8.95	10.77		7.06	8.49
4		1.13	1.05		9.04	10.45		7.14	8.25
5		0.95	0.82		9.10	10.76		7.18	8.47

Wyniki: Wartości RMS dla obliczonych parametrów  
 NMR kompleksów **lecytyna : Ac-Phe-NHMe**

kompleks		RMS			RMS			RMS	
		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP
1	<sup>1</sup> H	1.22	1.20	<sup>13</sup> C	8.79	10.36	<sup>1</sup> H+ <sup>13</sup> C	6.91	8.18
2		1.13	1.10		8.60	10.11		6.80	7.98
3		0.96	0.96		8.95	10.77		7.06	8.49
4		1.13	1.05		9.04	10.45		7.14	8.25
5		0.95	0.82		9.10	10.76		7.18	8.47

Wyniki: Wartości RMS dla obliczonych parametrów  
 NMR kompleksów **lecytyna : Ac-Phe-NHMe**

kompleks		RMS			RMS			RMS	
		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP		VSXC	B3LYP
1	<sup>1</sup> H	1.22	1.20	<sup>13</sup> C	8.79	10.36	<sup>1</sup> H+ <sup>13</sup> C	6.91	8.18
2		1.13	1.10		8.60	10.11		6.80	7.98
3		0.96	0.96		8.95	10.77		7.06	8.49
4		1.13	1.05		9.04	10.45		7.14	8.25
5		0.95	0.82		9.10	10.76		7.18	8.47

# Wyniki: Ac-Phe-NMe<sub>2</sub>

17.17

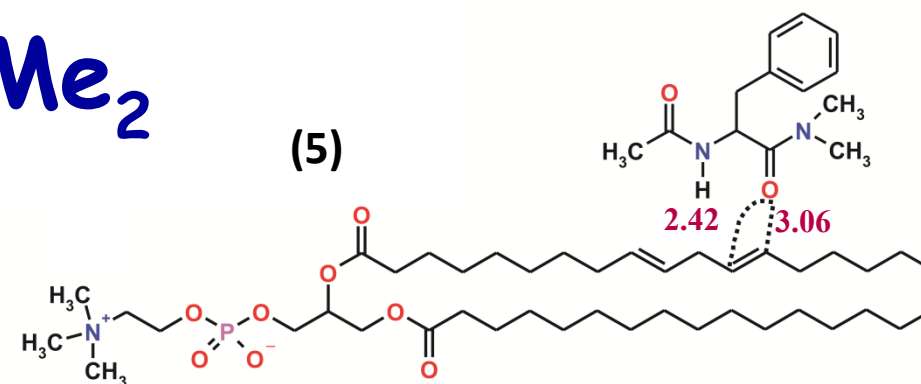
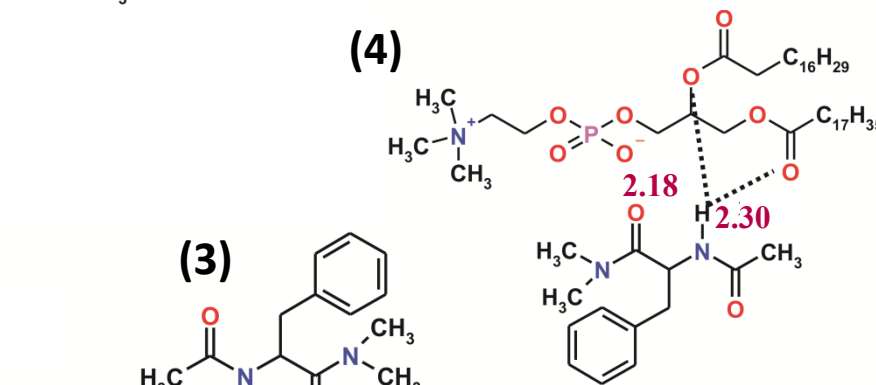
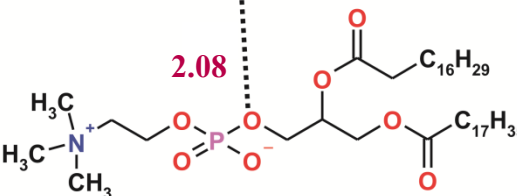
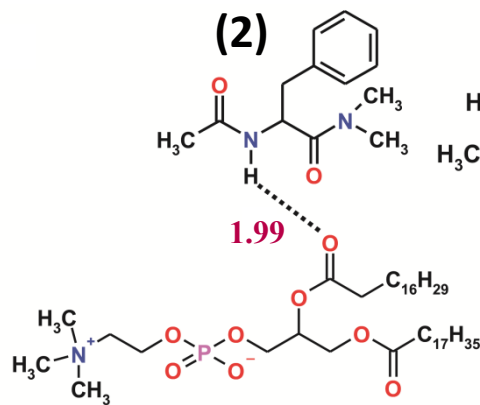
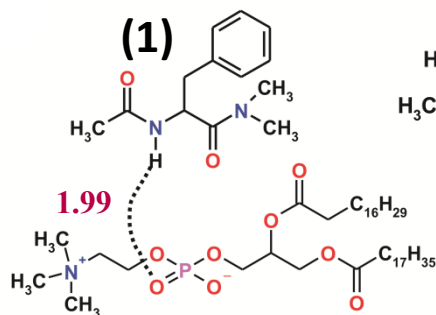
14.45

5.45

2.27

0.00

kompleks	$\phi$ [°]	$\psi$ [°]	$\Delta E_{\text{oddz.}}$ [kcal/mol]
1	-163.8	145.9	-23.39
2	51.8	38.9	-32.59
3	-165.0	69.9	-28.68
4	-102.1	-109.1	-15.79
5	-127.3	81.8	-14.71



$\Delta E$ 

# Wyniki: Ac-(Z)- $\Delta$ Phe-NMe<sub>2</sub>

24.55

17.83

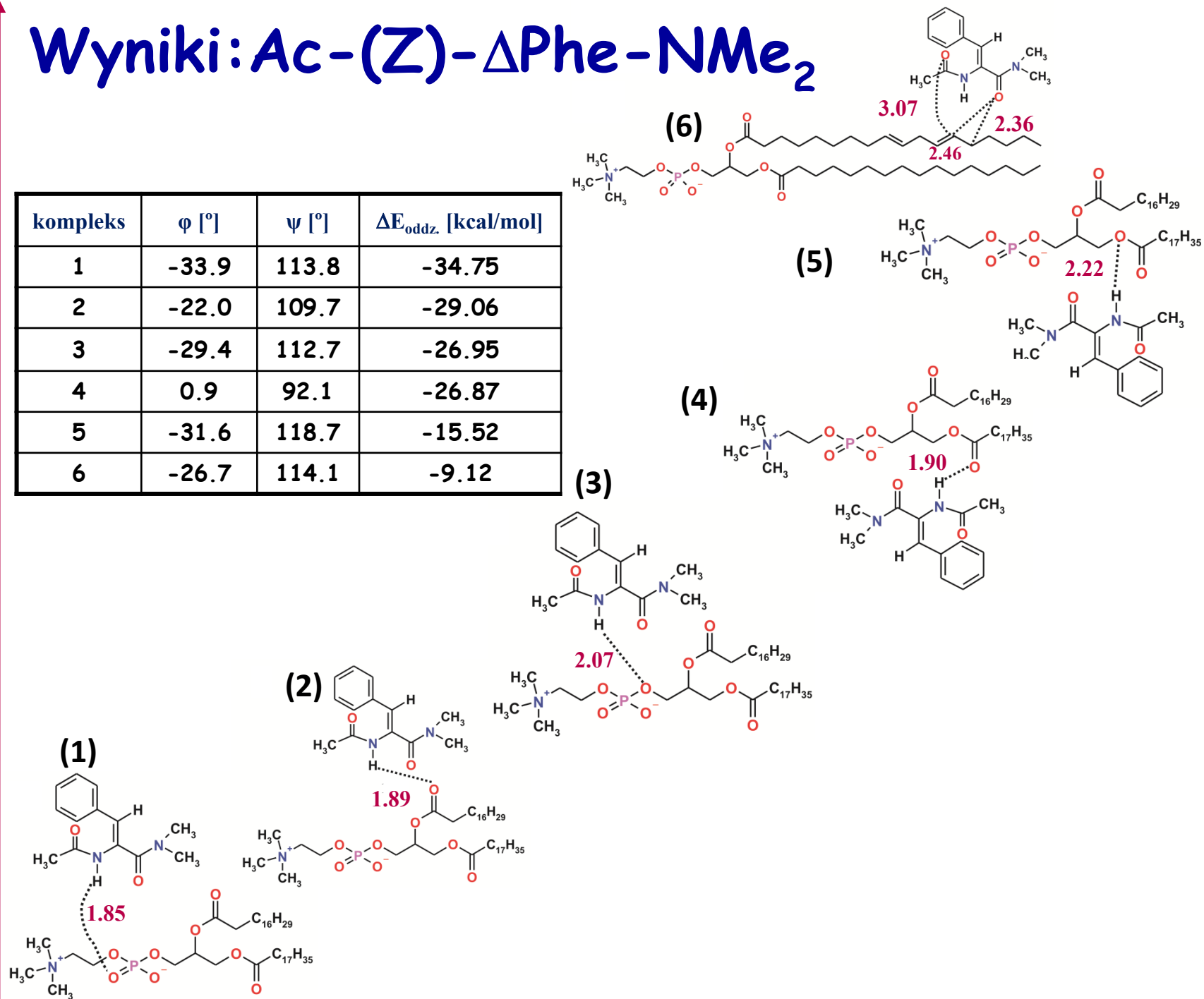
8.46

7.14

5.94

0.00

kompleks	$\phi$ [°]	$\psi$ [°]	$\Delta E_{\text{oddz}}$ [kcal/mol]
1	-33.9	113.8	-34.75
2	-22.0	109.7	-29.06
3	-29.4	112.7	-26.95
4	0.9	92.1	-26.87
5	-31.6	118.7	-15.52
6	-26.7	114.1	-9.12



# Wnioski

Obliczenia teoretyczne wskazują, że wszystkie diamidy **Ac-Phe-NHMe**, **Ac-Phe-NMe<sub>2</sub>**, **Ac-(Z)-ΔPhe-NMe<sub>2</sub>**, oddziałują z **polarną częścią lipidu** – główką.

Najwyższa wartość energii stabilizacji **-35.0 kcal/mol** obliczona została dla diamidu zawierającego **resztę α,β-dehydrofenyloalaniny**.

Energia oddziaływania diamidu **Ac-Phe-NMe<sub>2</sub>** z hydrofobowym łańcuchem kwasu tłuszczowego jest najwyższa i wynosi **-14.71 kcal/mol**, co wskazuje na to, że obecność grupy metylowej powoduje większe powinowactwo diamidu do niepolarnej części lecytyny.

Obliczone wartości RMS wskazują, że metoda **VSXC** daje lepsze wyniki w obliczaniu parametrów widm **<sup>1</sup>H** oraz **<sup>13</sup>C NMR** niż metoda B3LYP (przesunięcia chemiczne wyższe o 1-1.5 ppm)



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



**Dziękuję za uwagę!**



**WCSS**

**Roksana Wałęsa jest stypendystką projektu "Stypendia doktoranckie - inwestycja w kadre naukową województwa opolskiego współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego"**