



УДК 547.962:541.6

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ АНТАМАНИДА.

### II. СТРУКТУРЫ С ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ВОДОРОДНЫМИ СВЯЗЯМИ

*Громов Э. П., Плетнев В. З., Попов Е. М.*

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва*

Исследовано пространственное строение циклодекапептида антаманида, проявляющего ингибиторные свойства по отношению к некоторым токсинам. Расчет оптимальных конформаций выполнен путем минимизации потенциальной энергии при вариации двугранных углов вращения и при учете вкладов от невалентных и электростатических взаимодействий, водородных связей и заторможенного вращения. Анализ привел к трем низкоэнергетическим структурам антаманида с шестью водородными связями, *цис*- и *транс*-конфигурациями третичноамидных групп. Результаты расчета сопоставлены с экспериментальными данными. Показано, что энергия перехода на более предпочтительной в нейтральной среде конформации молекулы в комплексную форму меньше энергии ион-дипольного взаимодействия.

В предыдущем сообщении [1] была описана схема расчета стабильных конформаций циклического декапептида антаманида с различными системами внутримолекулярных водородных связей (рисунок). Предложенная схема включает ряд последовательно решаемых стадий.

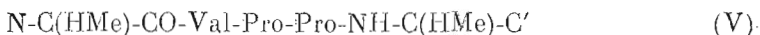
#### 1. Расчет оптимальных форм фрагментов (I) — (III)



#### 2. Расчет конформаций циклического аналога антаманида

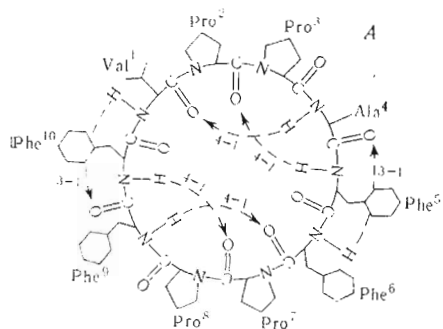
$\left[(-\text{Ala-Pro-Pro-Ala-Ala})_2\right]$ , составленных из оптимальных форм фрагментов (I) — (III), обеспечивающих достаточную сближенность концевых групп ( $\sim 10 \text{ \AA}$ ) и образование внутримолекулярных водородных связей.

3. Конформационный анализ фрагментов (IV) — (VII) и нахождение ориентаций боковых цепей остатков антаманида.

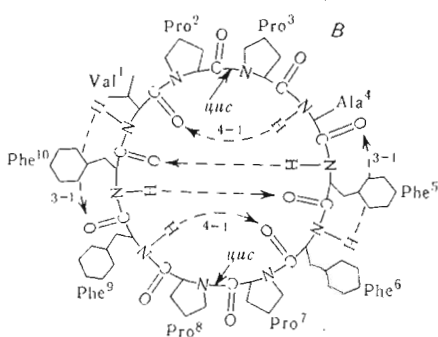
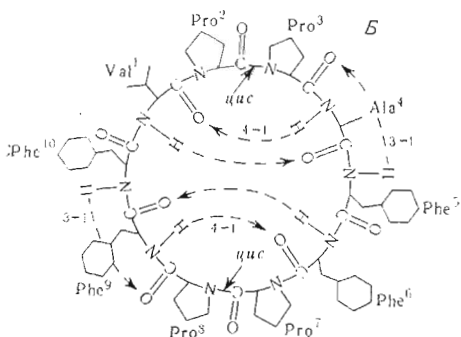


#### 4. Сборка полной структуры антаманида.

В работе [1] были обсуждены результаты расчета оптимальных форм фрагментов (I) — (III) с возможными в антаманиде системами водородных связей *A*, *B* и *B'* (рисунок). Было показано, что система *A* реализуется

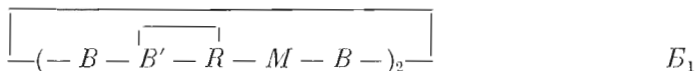
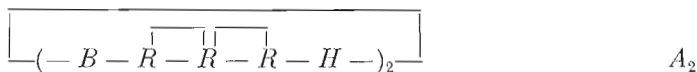
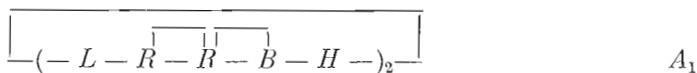


Системы внутримолекулярных водородных связей в конформациях антaманида *A*, *B* и *B* с *транс*- и *цис*-конфигурациями третичноамидных групп между остатками пролина



при *транс*-конфигурации всех пептидных связей, системы *B* и *B* — при *цис*-конфигурации третичноамидной связи между остатками пролина. Были предложены 14 из 48 комбинаций форм фрагментов (I) — (III), которые в наибольшей степени удовлетворяют условию замыкания цикла и образованию внутримолекулярных водородных связей (табл. 1).

Выделенные комбинации явились исходными для поиска оптимальных конформаций пептидного скелета антaманида. Минимизация энергии при вариации углов вращения вокруг связей  $C^{\alpha}-N(\varphi)$ ,  $C^{\alpha}-C'(\psi)$  и  $N-C'(\omega)$  привела к следующим трем наиболее низкоэнергетическим структурам модельного циклодекапептида:



Расчетные конформационные параметры и величины энергий для  $A_1$ ,  $A_2$  и  $B_1$  приведены в табл. 2. Глобальной формой пептидного скелета является  $A_1$ , далее с небольшим различием в энергии следуют  $B_1$  и  $A_2$ . Отклонения углов  $\varphi$ ,  $\psi$  в замкнутой цепи от значений в оптимальных формах соответствующих линейных фрагментов (I) — (III) не превышают (за редким исключением)  $10^\circ$  (ср. табл. 2 с табл. 5—7 в [1]). Отклонения вызваны образованием цикла и включением в качестве переменных углов  $\omega$ , которые ранее [1], при минимизации энергии линейных фрагментов, жестко фиксировались. Наименьшее искажение испытывают параметры формы  $B_1$ . Конформационные состояния всех остатков циклического декапептида в  $B_1$  расположены на картах  $\varphi - \psi$  свободных монопептидов в областях низкой энергии. В конформации  $A_1$  остатки  $Ala^4$  и  $Ala^6$  находятся на карте  $\varphi - \psi$  метиламида *N*-ацетил-*L*-аланина в области  $\sim 5$  ккал/моль.

## Предполагаемые формы пептидного скелета антаманда с различными системами водородных связей

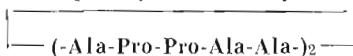
A	Б	В
$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$
$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$
$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$
$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$
$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$	$\left[ \begin{array}{c} \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \\ \text{---} \overline{\text{---}} \text{---} \end{array} \right]_2$

Примечания: 1. Буквы R, B, L обозначают низкоэнергетические конформационные состояния остатков, находящиеся на карте  $\tau - \psi$  в первом, втором и третьем квадрантах соответственно. Буквы M и H отвечают свернутым конформациям во втором и четвертом квадрантах с водородной связью типа 3-1, замыкающей 7-членный цикл. 2. Скобка над двумя соседними буквами означает водородную связь типа 4-1, замыкающую 10-членный цикл. 3. Система А состоит из четырех водородных связей типа 4-1 и двух 3-1; все пептидные группы находятся в *транс*-конфигурации. Система Б включает по две водородные связи 3-1, 4-1 и 8-1; В — по две связи 3-1, 4-1 и 6-1 (рисунок). В системах Б и В две третичноамидные группы между остатками Pro<sup>2</sup> и Pro<sup>3</sup>, Pro<sup>7</sup> и Pro<sup>8</sup> находятся в *цис*-конфигурации; в этом случае конформационное состояние Pro<sup>2</sup>(Pro<sup>7</sup>) обозначено буквой со штриховым индексом.

Таблица 2

## Геометрические и энергетические параметры низкоэнергетических конформаций

молекулы



Конформация	Углы, град.	Ala <sup>1</sup> , Ala <sup>6</sup>	Pro <sup>2</sup> , Pro <sup>7</sup>	Pro <sup>3</sup> , Pro <sup>8</sup>	Ala <sup>4</sup> , Ala <sup>9</sup>	Ala <sup>5</sup> , Ala <sup>10</sup>	E <sub>общ.</sub> , ккал/моль
A <sub>1</sub>	φ	7	-55	-55	-131	60	0
	ψ	78	-45	-14	14	-74	
	ω	180	177	179	-178	-177	
B <sub>1</sub>	φ	-111	-65	-65	-80	-98	3,9
	ψ	90	145	-16	55	72	
	ω	-171	3	-177	-166	178	
A <sub>2</sub>	φ	-84	-55	-55	-70	77	6,2
	ψ	146	-52	-30	-17	-66	
	ω	-174	172	177	170	-166	

Примечание. Отсчет углов φ, ψ и ω соответствует номенклатуре IUPAC-IUB [2].

Другие формы цикла, приведенные в табл. 1, маловероятны. Минимизация соответствующих им исходных приближений приводит или к структурам с очень высокой энергией, или к разрушению следующей из эксперимента системы водородных связей, или к спуску в область потенциальной поверхности, отвечающей структурам A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>.

В табл. 3 для конформаций A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> и B<sub>1</sub> приведены параметры внутримолекулярных водородных связей. В случае A<sub>1</sub> параметры всех шести связей близки к оптимальным (l<sub>0...H</sub> = 1,80 Å, E<sub>в.с.</sub> = -4,0 ккал/моль); в структурах A<sub>2</sub> и B<sub>1</sub> имеет место заметное отклонение от оптимальных

Длины  $l_{O\dots H}$  (Å) и энергия  $E_{в.с}$  (ккал/моль) водородных связей в низкоэнергетических конформациях молекулы  $\text{---}(-\text{Ala-Pro-Pro-Ala-Ala})_2\text{---}$ 

Функциональные группы остатков, образующие водородные связи C=O . . . . . H—N	$A_1$		$A_2$		$B_1$	
	$l_{O\dots H}$	$E_{в.с}$	$l_{O\dots H}$	$E_{в.с}$	$l_{O\dots H}$	$E_{в.с}$
Ala <sup>1</sup> (Ala <sup>6</sup> ) . . . . . Ala <sup>4</sup> (Ala <sup>9</sup> )	1,83	—3,9	2,03	—2,5	2,11	—2,0
Pro <sup>2</sup> (Pro <sup>7</sup> ) . . . . . Ala <sup>6</sup> (Ala <sup>10</sup> )	1,82	—4,0	1,88	—3,7	—	—
Ala <sup>4</sup> (Ala <sup>9</sup> ) . . . . . Ala <sup>6</sup> (Ala <sup>1</sup> )	1,80	—4,0	1,85	—3,9	—	—
Pro <sup>3</sup> (Pro <sup>8</sup> ) . . . . . Ala <sup>5</sup> (Ala <sup>10</sup> )	—	—	—	—	2,04	—2,5
Ala <sup>4</sup> (Ala <sup>9</sup> ) . . . . . Ala <sup>1</sup> (Ala <sup>6</sup> )	—	—	—	—	1,93	—3,3

значений. У  $B_1$  наиболее ослаблены водородные связи типа 4—1, замыкающие 10-членные циклы с остатками -Pro-Pro- при *цис*-конфигурации промежуточной третичноамидной связи. В целом, однако, в найденных конформациях модельного циклодекапептида образование достаточно сложной системы водородных связей, в которую вовлечены все группы N—H, не вступает в противоречие с выгодными контактами в пределах как отдельных фрагментов, так и всей молекулы. Суммарная энергия водородных связей в  $A_1$  составляет —23,8,  $A_2$  — —19,2 и  $B_1$  — —15,6 ккал/моль. Учитывая величины  $E_{общ}$  (табл. 2), можно заключить, что конформация  $B_1$  по невалентным взаимодействиям стабильнее  $A_1$  и  $A_2$  приблизительно на 4 ккал/моль. Следовательно, при ослаблении внутримолекулярных водородных связей (в достаточно слабополярной среде, например  $\text{CHCl}_3$ ) наиболее предпочтительной формой пептидного скелета антаманда становится  $B_1$ .

Однако, учитывая сравнительно небольшое различие в энергии найденных конформаций, сделать однозначный выбор глобальной формы представляется затруднительным.

Определение ориентаций боковых цепей антаманда выполнено в предположении, что их конформационные состояния определяются прежде всего взаимодействиями между соседними остатками и формой основной цепи. В связи с этим в расчете фрагментов (IV) — (VII) основные цепи фиксировались в положениях, отвечающих геометрии соответствующих участков конформаций  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  модельного циклодекапептида (табл. 2). Первоначально для фрагментов (IV), (V) и (VII) находились низкоэнергетические состояния боковых цепей остатков  $\text{Phe}^9$ ,  $\text{Val}^1$  и  $\text{Phe}^6$ , расположенных рядом с остатками Pro. Полученные данные использовались затем в расчете фрагмента (VI) при поиске конформации боковой цепи  $\text{Phe}^5$  ( $\text{Phe}^{10}$ ).

Найденные после минимизации значения углов  $\chi$ , отвечающие низкоэнергетическим состояниям боковых цепей, приведены в табл. 4. Во всех случаях имеется несколько практически эквивалентных по энергии (0—1 ккал/моль) углов вращения вокруг связей  $\text{C}^\alpha\text{—C}^\beta$  и  $\text{C}^\beta\text{—C}^\gamma$ . У остатков  $\text{Phe}$ ,  $\text{Val}$  и  $\text{Ala}$  углы  $\chi^1$  находятся вблизи минимумов торсионного потенциала (180, —60 и 60°). Таким образом, взаимодействия между остатками в трипептидных фрагментах антаманда не приводят к полному детерминированию конформационных состояний боковых цепей. Анализ молекулярных моделей, однако, показывает, что приведенные в табл. 4 наборы углов  $\chi^1$ ,  $\chi^2$  неодинаковы в отношении взаимодействий между более удаленными остатками.

Рассмотрим роль взаимодействий противостоящих в цикле остатков на примере структуры  $B_1$ . Самым выгодным значением угла  $\chi$  у  $\text{Val}^1$ -в  $B_1$  является —59°; при такой ориентации обе группы  $\text{CH}_3$  валла обра-

Конформационные состояния боковых цепей антаманита

Остаток	Углы вращения, град.	Конформация пептидного остова		
		A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>
Val <sup>1</sup>	$\chi^1$	-54, 47	-56, 58	-59, 176, 48
Ala <sup>4</sup>	$\chi^1$	60	61	62
Phe <sup>5</sup>	$\chi^1$	172, -58	-51	-50, -70
Phe <sup>10</sup>	$\chi^2$	37, 87	135	150, 97
Phe <sup>6</sup>	$\chi^1$	-150, -61	-59, -51	170, 179, -58
	$\chi^2$	125, 88	90, 149	31, 83, 86
Phe <sup>9</sup>	$\chi^1$	-49, -51	-147, -148	-41, -38
	$\chi^2$	81, 136	91, 53	94, 145

цепи наружу. Положения боковой цепи -Val<sup>1</sup>- при  $\chi = 176$  и  $48^\circ$  менее предпочтительны по величине  $\sim 1,0$  ккал/моль. И в том и в другом случаях одна из метильных групп оказывается сближенной с группой NH<sub>3</sub> остатка Ala<sup>4</sup>, что дополнительно повышает энергию этих состояний. Остатки Phe<sup>5</sup> и Phe<sup>10</sup> имеют две низкоэнергетические конформации, различающиеся на 1 ккал/моль. При ориентации  $\chi^1 = -70^\circ$  и  $\chi^2 = 97^\circ$  могут осуществляться более эффективно, чем при  $\chi^1 = -50^\circ$  и  $\chi^2 = 150^\circ$ , дисперсионные взаимодействия бензольных колец -Phe<sup>5</sup>- и -Phe<sup>10</sup>- с пирролидиновыми циклами соответственно -Pro<sup>2</sup>- и -Pro<sup>7</sup>-. Сильная стабилизация возникает также при взаимодействии боковых цепей -Phe<sup>6</sup>- и -Phe<sup>9</sup>-, когда у первого остатка  $\chi^1 = 170^\circ$  и  $\chi^2 = 31^\circ$ , а у второго —  $\chi^1 = -41^\circ$  и  $\chi^2 = 94^\circ$ . При этих значениях плоскости бензольных колец параллельны друг другу и находятся на расстоянии  $\sim 3 \text{ \AA}$ , что отвечает максимальным дисперсионным взаимодействиям. При других комбинациях углов  $\chi^1$ ,  $\chi^2$  у остатков Phe<sup>6</sup> и Phe<sup>9</sup> взаимодействия боковых цепей или отсутствуют, или приводят к дестабилизации. В табл. 4 выделены углы  $\chi^1$ ,  $\chi^2$ , обеспечивающие в структурах A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> и B<sub>1</sub> антаманита выгодные контакты между боковыми цепями противостоящих в цикле остатков.

Перед сопоставлением результатов расчета с опытными данными отметим те конформационные особенности антаманита, его аналогов и комплексов с ионами щелочных металлов, которые были надежно установлены экспериментальным путем — комплексом физико-химических методов [3—5] и методом прямого рентгеноструктурного анализа [6, 7].

1. Переход от неполярной к полярной среде сопровождается конформационными перестройками молекулы. Об этом свидетельствуют значительные изменения интенсивности и положения эффектов Коттона в спектрах КД, происходящие при смене растворителя [4]. Следовательно, антаманит имеет несколько близких по энергии конформаций.

2. Антаманит и его исследованные аналоги ((Val<sup>6</sup>, Ala<sup>9</sup>)-антаманит и пергидроантаманит) обладают весьма близкими конформационными свойствами. На это указывает сходный характер изменений их кривых КД при переходе от одной среды к другой, а также спектры ЯМР и ИК [4]. Следовательно, конформационная стабильность антаманита обусловлена прежде всего взаимодействием атомов пептидного остова.

3. В неполярной среде наиболее устойчивая конформация антаманита обладает системой водородных связей, которая включает все шесть групп N—H молекулы. Этот факт однозначно был установлен с помощью ИК- и ЯМР-спектров.

4. Структура пептидного остова антаманита и его аналогов обладает симметрией, близкой к C<sub>2</sub>. Полученные [4, 5] спектры ЯМР содержат

шесть сигналов N—H, которые по величинам химических сдвигов, температурной зависимости и константам спин-спинового взаимодействия разделяются на три пары, свидетельствуя тем самым о конформационном сходстве основных цепей диаметрально противоположных остатков.

5. Три пары водородных связей антаманда неэквивалентны по энергии. Измерение температурных градиентов химических сдвигов N—H и скоростей дейтерообмена NH → ND показало, что наиболее сильные водородные связи образуют группы N—H остатков Val<sup>1</sup> и Phe<sup>6</sup>, наиболее слабые — Ala<sup>4</sup> и Phe<sup>9</sup>; промежуточное положение занимают связи, в которых участвуют N—H остатков Phe<sup>5</sup> и Phe<sup>10</sup> [4, 5].

6. Комплексная форма антаманда имеет *цис*-конфигурацию третично-амидных связей между остатками Pro<sup>2</sup> и Pro<sup>3</sup>, Pro<sup>7</sup> и Pro<sup>8</sup>; остальные пептидные связи обладают *транс*-конфигурацией. Это установлено рентгеноструктурным анализом литиевого комплекса антаманда и натриевого комплекса [Phe<sup>4</sup>, Val<sup>6</sup>]-антаманда [6, 7]. Исследования спектров <sup>1</sup>H-ЯМР [4] и <sup>13</sup>C-ЯМР [5] показали, что образование ионного комплекса сопровождается значительными конформационными перестройками с разрушением шести водородных связей и образованием двух новых связей типа 4—1 между группами N—H остатков Val<sup>1</sup> и Phe<sup>6</sup> и C=O остатков Pro<sup>8</sup> и Pro<sup>3</sup> соответственно. Однако ни в одном случае не были обнаружены конфигурационные изменения связей. Доказательство конфигурационной стабильности третичноамидных групп означало бы, что конформации антаманда в неполярной среде и его комплексов с ионами щелочных металлов не должны различаться между собой в отношении конфигураций пептидных связей.

Из перечисленных особенностей структуры антаманда свойства 2—4 были использованы нами в расчете. Они послужили основанием для раздельного рассмотрения конформационных состояний пептидного остова и боковых цепей, поиска низкоэнергетических структур циклического

декапептида  $\left[(-\text{Ala-Pro-Pro-Ala-Ala})_2\right]$  с различными системами внутримолекулярных водородных связей. Поэтому условиям 2—4 удовлетворяют найденные конформации  $A_1$ ,  $A_2$  и  $B_1$ . Свойства 5 и 6 нами не постулировались.

В табл. 5 сопоставлены расчетные и экспериментальные значения констант спин-спинового взаимодействия протонов во фрагментах NH—CH и дипольных моментов. Несколько лучшее совпадение по сравнению с формами  $A_1$ ,  $A_2$  наблюдается для формы  $B_1$ . Однако имеющиеся различия в значениях  ${}^3J_{\text{NH-CH}}$  трудно объяснить без предположения о наличии в равновесии помимо  $B_1$  других форм. Следующая из спектров ЯМР неэквивалентность водородных связей также лучше всего согласуется со структурой  $B_1$ .

Ранее [3—5, 9] для антаманда на основе опытных данных были предложены различные структуры, имеющие как *транс*-, так и *цис*-конфигурацию третичноамидных групп. Например, анализируя спектры ЯМР, КД и ИК, авторы [4] пришли к заключению, что антаманид в неполярных средах имеет конформацию с системой водородных связей  $A_1$ . Патель [5], исследуя спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР неполярных растворов антаманда, предположил два варианта структуры молекулы с шестью водородными связями и *цис*-конфигурацией третичноамидных групп (типов  $B$  и  $\Gamma$ ; табл. 1 в [1]). Предпочтение было отдано второй форме  $\Gamma$  с *цис*-третичноамидными группами между остатками Val<sup>1</sup> и Pro<sup>2</sup>, Phe<sup>6</sup> и Pro<sup>7</sup>. В первой форме геометрия некоторых остатков хорошо соответствует расчетной конформации  $B_1$ ; в целом же различия между структурами Пателя и найденными нами достаточно велики. Следует отметить, что выбор значений углов  $\psi$ , сделанный в работе [5] на основе атомных моделей, нельзя считать надежным. Дополнительным источником погрешностей послужило также предположение о плоском строении всех амидных групп.

Расчетные и экспериментальные значения констант спин-спинового взаимодействия  $^3J_{\text{NH}-\text{CH}}$  и дипольных моментов  $\mu$  оптимальных конформаций антаманида

Остатки	$A_1$	$A_2$	$B_1$	Антаманид ( $\text{CD}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) [5]	[Val <sup>4</sup> , Ala <sup>9</sup> ]-анта- манид ( $\text{CDCl}_3$ ) [4]
	$^3J_{\text{NH}-\text{CH}}^{\text{теор}*}$ , Гц			$^3J_{\text{NH}-\text{CH}}^{\text{эксп}**}$ , Гц	
Val <sup>1</sup>	3,1	7,4	10,6	7,1—9,3	7,2
Phe <sup>6</sup>					
Ala <sup>4</sup>	10,5	5,0	6,8	7,1—9,3	9,3
Phe <sup>9</sup>					
Phe <sup>5</sup>	8,7	7,9	9,5	7,1—9,3	7,6
Phe <sup>10</sup>					
—		$\mu^{\text{теор}}$ , D			
—	3,3	1,9	3,2	5,2	$\mu^{\text{эксп}}$ ( $\text{CDCl}_3$ ), D

\* Найдены по формуле Быстрова и др. [8] с использованием расчетных значений угла  $\varphi$ .

\*\* Получены из соотношения  $^3J_{\text{NH}-\text{CH}}^{\text{эксп}} = 1,09 \cdot ^3J_{\text{NH}-\text{CH}}^{\text{набл}}$  [8].

В другой работе Тонелли [9], используя данные по константам  $^3J_{\text{NH}-\text{CH}}$ , конформационные карты свободных аминокислотных остатков и атомные модели, предложил формы типов *B* и *Г*, которые весьма близки соответствующим формам Пателя [5]. И в этом случае конформация *Г* считалась наиболее предпочтительной. Используемый Тонелли подход также не безупречен. Некорректна здесь оценка энергии антаманида на основе аддитивной суммы величин, найденных из конформационных карт изолированных остатков. Помимо того что отбор низкоэнергетических форм отдельных остатков в рассматриваемой работе произволен, полностью игнорируются взаимодействия между ними, которые (особенно в циклической молекуле) могут играть существенную конформационную роль.

Конформация комплекса антаманида с  $\text{Li}^+$  и  $\text{Na}^+$  была установлена Карле [6, 7] с помощью рентгеноструктурного анализа. Мы проминимизировали энергию этой конформации без учета взаимодействия молекулы с ионом щелочного металла. Оказалось, что антаманид реализуется в стабильной конформации, геометрические параметры которой практически не отличаются от параметров структуры, найденной экспериментально. Следовательно, взаимодействия с ионом не создают особую конформацию антаманида, а лишь дополнительно стабилизируют присущую молекуле оптимальную форму. Ее потенциальная энергия на  $\sim 15$ — $20$  ккал/моль превышает энергию конформаций  $A_1$ ,  $B_1$ ,  $A_2$ , что объясняется потерей четырех водородных связей и менее выгодными электростатическими взаимодействиями. Что же касается невалентных взаимодействий, то они в комплексной форме антаманида на несколько ккал/моль более предпочтительны. Энергия взаимодействия антаманида с ионом щелочного металла идет на преодоление потенциального барьера, разделяющего две оптимальные конформации, и на дополнительную стабилизацию комплексной формы. Ориентировочную оценку этой энергии можно сделать из сравнения частот валентных колебаний групп  $\text{C}=\text{O}$ , взаимодействующих с ионом металла и вовлеченных в водородные связи. Как следует из работы [4], в ИК-спектрах как нейтрального, так и комплексного антаманида в растворе  $\text{CCl}_4-\text{CH}_3\text{CN}$  (2 : 1) полосы поглощения ассоциированных групп  $\text{C}=\text{O}$  находятся приблизительно в одной и той же области (1660—

Геометрические параметры конформации  $B_1$  и комплексной формы антаманда [7]

Остаток	Углы вращения, град.			Остаток	Углы вращения, град.		
	Обозначение	$B_1$	Комплек		Обозначение	$B_1$	Комплек
Val <sup>1</sup>	$\varphi_1$	-111	-115	Phe <sup>6</sup>	$\varphi_6$	-111	-123
	$\psi_1$	90	138		$\psi_6$	90	140
	$\omega_1$	-171	179		$\omega_6$	-171	-172
	$\chi_1$	-59	-68		$\chi_6^1$	170	-176
Pro <sup>2</sup>	$\varphi_2$	-65	-65	Pro <sup>7</sup>	$\varphi_7$	-65	-74
	$\psi_2$	145	139		$\psi_7$	145	145
	$\omega_2$	3	-4		$\omega_7$	3	-3
Pro <sup>3</sup>	$\varphi_3$	-65	-81	Pro <sup>8</sup>	$\varphi_8$	-65	-69
	$\psi_3$	-16	148		$\psi_8$	-16	145
	$\omega_3$	-177	-174		$\omega_8$	-177	-175
Ala <sup>4</sup>	$\varphi_4$	-80	-69	Phe <sup>9</sup>	$\varphi_9$	-80	-79
	$\psi_4$	55	-13		$\psi_9$	55	-13
	$\omega_4$	-166	175		$\omega_9$	-166	172
Phe <sup>5</sup>				Phe <sup>10</sup>	$\chi_9^1$	-41	-60
	$\varphi_5$	-98	-84		$\chi_9^2$	94	125
	$\psi_5$	72	-6		$\varphi_{10}$	-98	-90
	$\omega_5$	178	-178		$\psi_{10}$	72	8
	$\chi_5^1$	-70	66		$\omega_{10}$	178	173
	$\chi_5^2$	97	84	$\chi_{10}^1$	-70	59	
				$\chi_{10}^2$	97	88	

1630  $\text{см}^{-1}$ ). Поэтому можно предположить, что энергия взаимодействия одной карбонильной группы с ионом близка энергии водородной связи.

Для подтверждения реальности рассчитанных нами конформаций антаманда было интересно выяснить возможность их перехода в комплексную структуру без разрыва валентных связей, а также оценить величину разделяющего их потенциального барьера. В качестве примера была выбрана конформация  $B_1$ . В табл. 6 геометрические параметры  $B_1$  сопоставлены с параметрами комплекса [7], которые, как отмечено выше, практически полностью отвечают одной из низкоэнергетических оптимальных форм свободного антаманда. Имеющиеся различия между двумя структурами весьма характерны; они касаются лишь углов  $\psi$ , определяющих ориентацию группы  $\text{C}=\text{O}$ , и углов  $\chi^1$  остатков Phe<sup>5</sup> и Phe<sup>10</sup>. Для осуществления захвата антаманидом иона такие изменения при переходе от нейтральной к комплексной форме представляются минимальными и необходимыми для переориентации карбонильных групп. Поворот боковых цепей -Phe<sup>5</sup>- и -Phe<sup>10</sup>- вокруг связей  $\text{C}^2-\text{C}^5$  обусловлен невыгодностью положения  $\chi^1 = -70^\circ$  при новом пространственном строении пептидного остова. В то же время значение  $\chi^1 = 60^\circ$  является запрещенным в случае  $B_1$ . Для проверки возможности перехода конформации  $B_1$  в комплексную форму только за счет изменения в известных пределах всех углов  $\psi$  (за исключением  $\psi_2$  и  $\psi_7$ ; табл. 6) были составлены 10 вариантов начальных приближений с промежуточным набором переменных. В процессе минимизации после образования замкнутой системы с нормальными длинами связей и валентными углами [1] энергия нестабильных промежуточных форм превышала энергию конформации  $B_1$  не более чем на несколько десятков ккал/моль. Исползованная процедура не позволяет сделать однозначного заключения о пути изомеризации антаманда при его взаимодействии с ионом щелочного металла. Тем не менее полученные результаты доказывают принципиальную возможность перехода рассчитанной нами конформации  $B_1$  нейтральной молекулы в комплексную форму без разрыва химических связей; необходимая для этого энергия может быть компенсирована энергией возникающих взаимодействий между карбонильными группами антаманда и ионом металла.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Плетнев В. З., Громов Э. П., Попов Е. М. (1975) Биооргав. химия, **1**, 328—339.
2. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1970) Biochemistry, **9**, 3471—3478.
3. Faulstich H., Burgermeister W., Wieland Th. (1972) Biochem. and Biophys. Res. Commun., **47**, 975—983.
4. Иванов В. Т., Мирошников А. И., Козьмин С. А., Мещерякова Е. Н., Сенявина Л. Б., Уварова Н. Н., Халидуллина К. Х., Забродин В. А., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А. (1973) Химия природн. соедин., 378—394.
5. Patel J. (1973) Biochemistry, **12**, 667—676.
6. Karle I. L., Karle J., Wieland Th., Burgermeister W., Faulstich H., Witkop B. (1973) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **70**, 1836—1840.
7. Karle I. L. (1974) Biochemistry, **13**, 2155—2162.
8. Bystrov V. F., Ivanov V. T., Portnova S. L., Balashova T. A., Ovchinnikov Yu. A. (1973) Tetrahedron, **29**, 873—877.
9. Tonelli A. E. (1973) Biochemistry, **12**, 689—692.

Поступила в редакцию  
14.VII.1975

## THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF ANTAMANIDE. II. THE CONFORMATIONS WITH INTRAMOLECULAR HYDROGEN BONDS

GRÓMOV E. P., PLETNEV V. Z., POPOV E. M.

*M. M. Shemyakina Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

The structure computation was performed for antamanide. The potential energy minimization procedure comprising all types of intramolecular interactions yielded three lowest energy forms with *cis*- and *trans*-configurations of amide groups, each form having six hydrogen bonds. The results obtained were compared with the experimental data. The energy difference between the most stable conformation in a neutral medium and the complex form was found to be less than the energy of the ion-dipole interaction.

---