



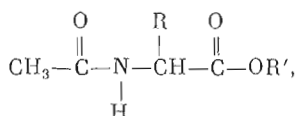
УДК 547.466.1:541.63

**ВЛИЯНИЕ БОКОВОЙ ЦЕПИ АМИНОКИСЛОТЫ НА КОНФОРМАЦИЮ
ОСНОВНОЙ ЦЕПИ У СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ
N-АЦЕТИЛ- α -АМИНОКИСЛОТ***Слет В. А.**Институт термofизики и электрофизики
Академии наук ЭССР, Таллин*

Проведено изучение конформаций сложных эфиров N-ацетил- α -аминокислот в разбавленных растворах в CCl_4 методами спектроскопии ЯМР и ИК. Методом ИК-спектроскопии определены константы равновесия структур $\text{C}_{\text{откр}} \rightleftharpoons \text{C}_5$ и термодинамические функции (ΔH , ΔS) конформационного перехода $\text{C}_{\text{откр}} \rightarrow \text{C}_5$, а из спектров ПМР определены вицинальные константы спин-спинового взаимодействия $^3J_{\text{HNC}\alpha\text{H}\alpha}$ у вышеуказанных соединений. Показано, что стерическое влияние алкильных боковых цепей аминокислоты на стабильность конформации C_5 реализуется двумя конкурирующими механизмами: а) деформация планарности конформации C_5 приводит к ее дестабилизации; б) эффект Торпа-Ингольда приводит к стабилизации структуры C_5 .

При определении конформации полипептидов в растворе прежде всего следует учитывать существенную роль близкодествующих сил, т. е. взаимодействия в пределах одного аминокислотного остатка. В связи с этим необходимо знать механизмы влияния структуры боковой цепи аминокислоты на конформацию ее основной цепи в полипептидной макромолекуле. Изучение простых модельных соединений в инертной среде позволяет в ряде случаев выделить и индивидуально исследовать различные факторы образования пространственной структуры макромолекулы. Во многих экспериментальных [1—8] и теоретических [8—14] работах для изучения взаимодействия боковой и основной цепей аминокислот используются амиды и сложные эфиры ацилированных аминокислот.

Моноалкиламида ацилированных аминокислот существуют в разбавленных растворах в CCl_4 в двух равновесных конформациях — C_7 и C_5 (см., например, [2—8]), а сложные эфиры N-ацетил- α -аминокислот — в основном в конформации C_5 [2, 4]. Учитывая, что, согласно рентгеноструктурным исследованиям, аминокислотные остатки в конформации C_7 встречаются в белках очень редко [16], а структура C_5 может служить моделью развернутых форм в участках β -структуры белков, в настоящей работе проведено исследование влияния природы боковой цепи аминокислоты на стабильность конформации ее основной цепи у сложных эфиров N-ацетил- α -аминокислот с общей формулой



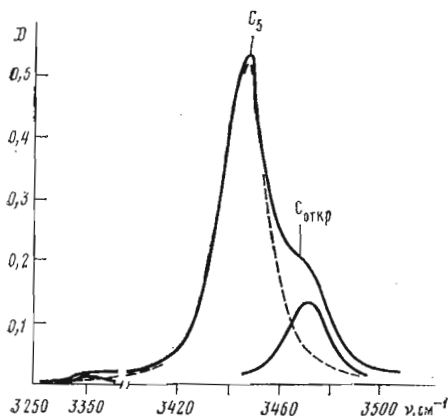


Рис. 1

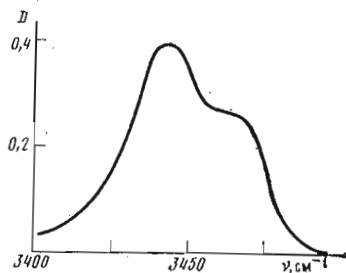


Рис. 2

Рис. 1. ИК-спектр этилового эфира N-ацетилглицина в области валентного колебания N—H. Растворитель CCl₄; c 0,82 мМ, 30° С

Рис. 2. ИК-спектр этилового эфира N-ацетилглицина в области валентного колебания N=H. Растворитель CHCl₃; c 8 мМ, 30° С

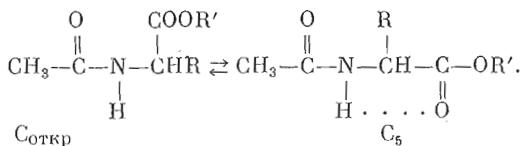
где

R	R'	R	R'
H	CH ₂ CH ₃ (I)	CH ₃	CH ₃ (VIII)
CH ₃	CH ₂ CH ₃ (II)	CH ₃	(CH ₂) ₂ CH ₃ (IX)
CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃ (III)	CH ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃ (X)
CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃ (IV)	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃ (XI)
CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃ (V)	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂ (XII)
CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃ (VI)		
CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH ₃ (VII)		

методами ИК- и ЯМР-спектроскопии.

Согласно данным работ [2, 4], увеличение объема алкильного заместителя R в аналогичных соединениях приводит к дестабилизации конформации C₅. Но по предварительным данным, полученным нами в работе [17], механизм влияния алкильных заместителей R на стабильность конформации C₅ более сложен.

Типичный ИК-спектр разбавленных растворов в CCl₄ изученных соединений в области валентных колебаний связи N—H (ν_sN—H) приведен на рис. 1. Согласно ИК-спектрам, молекулы изученных соединений существуют в растворе в двух различных формах. Высококачественное плечо в спектрах при ~3465 см⁻¹ отнесено [2, 4] к молекулам без Н-связи (C_{5откр}). Этой форме молекул авторы [2, 4] не приписывают каких-либо конкретных предпочтительных значений углов φ и ψ*. Интенсивная полоса при ~3440 см⁻¹ отнесена в работах [2, 4] к молекулам с внутримолекулярной Н-связью NH...O, замыкающей пятичленный цикл. Наличие в образующемся цикле двух атомов в гибридизации sp²(N и C') делает расположение пяти атомов в цикле близким к планарному (φ ≈ ψ ≈ 180°). Такая конформация аминокислотного остатка с внутримолекулярной Н-связью и близким к планарному расположением атомов основной цепи обозначается в работах [2, 4] как конформация C₅. Частота полосы ν_sN—H в конформации C₅ снижена на ~25 см⁻¹ по сравнению



* Все обозначения углов и атомов в аминокислотных остатках даются согласно [18].

с частотой ν_s N—H открытых структур ввиду образования слабой Н-связи NH...O.

Такое отнесение полос поглощения в ИК-спектре согласуется с расчетами конформационной энергии в дипептидных и депептидных звеньях в ряде работ [8—13], согласно которым конформация C_5 может быть одной из энергетически выгодных конформаций аминокислотного остатка.

В спектре (рис. 1) имеется очень слабая полоса при ~ 3370 см^{-1} , принадлежащая молекулам, участвующим в межмолекулярных Н-связях.

Учитывая, что в работах [1, 14, 15] образование конформации C_5 в аминокислотных остатках считается энергетически невыгодным, мы попытались найти дополнительные экспериментальные доказательства, позволяющие отнести полосу поглощения при ~ 3440 см^{-1} к группам NH, образующим внутримолекулярную Н-связь.

Нами показано, что у соединений (I) — (XII) интегральная интенсивность

$$A = \frac{1}{cl} \int \lg \left(\frac{I_0}{I} \right)_{\nu} d\nu$$

полосы при ~ 3440 см^{-1} в 1,87 раза больше, чем у полосы поглощения ν_s N—H N-алкиламидов, у которых в разбавленных растворах исключено образование Н-связи. Такое заметное увеличение интегральной интенсивности полосы ~ 3440 см^{-1} явно говорит в пользу существования внутримолекулярной Н-связи у изученных соединений [19].

При изучении межмолекулярной ассоциации N-этилацетамида и соединений (I) — (V) в CCl_4 было найдено, что межмолекулярная ассоциация (I) — (V) проходит гораздо слабее, чем у N-алкиламидов [20], что можно объяснить образованием внутримолекулярной Н-связи, препятствующей межмолекулярной ассоциации у соединений (I) — (V).

На рис. 1 и 2 приведены ИК-спектры разбавленных растворов соединения (I) в области ν_s N—H в различных растворителях, из которых видно, что при переходе от неполярного растворителя (CCl_4) к слабополярному (CHCl_3) в спектре соединения (I) происходит заметное увеличение интенсивности полосы ν_s N—H при ~ 3465 см^{-1} , относящейся к открытым структурам, что может быть связано с уменьшением доли внутримолекулярной Н-связи соединения (I) при переходе от CCl_4 к CHCl_3 .

Исходя из рассмотренных экспериментальных фактов и результатов теоретических работ [8—13] можно считать доказанным существование у соединений (I) — (XII) в разбавленных растворах в CCl_4 двух форм молекул. $C_{\text{откр}}$ и C_5 , последняя из которых возникает ввиду образования внутримолекулярной Н-связи NH...O, замыкающей пятичленный цикл. Наличие этой внутримолекулярной Н-связи является чувствительным индикатором, позволяющим исследовать взаимодействие боковой и основной цепей у соединений (I) — (XII) *.

В табл. 1 приведены константы равновесия (K) структур $C_{\text{откр}} \rightleftharpoons C_5$ и ΔH конформационного перехода $C_{\text{откр}} \rightarrow C_5$ для соединений (I) — (XII), определенные по ИК-спектрам. Там же приведены величины ${}^3J_{\text{NHCOH}}$ для этиловых эфиров N-ацетил- α -аминокислот.

Как видно из табл. 1, значения K , ΔH и ${}^3J_{\text{NHCH}}$ зависят от природы заместителя R. С увеличением объема и разветвленности алкильного заместителя наблюдается монотонный рост значений ${}^3J_{\text{NHCH}}$ и немонотонное изменение значений K и ΔH .

В то же время, как видно из табл. 2, влияние структуры алкильного заместителя R' у сложных эфиров N-ацетилаланина (R=CH₃) на изученные параметры является несущественным. Следует подчеркнуть, что из-

* Все соединения были рацематами. Сравнительные измерения с этиловыми эфирами N-ацетил-L-валина и N-ацетил-L-лейцина показали, что изученные в табл. 1 параметры одинаковы для различных оптических изомеров аминокислот. Для конкретности обсуждение результатов проводится только для аминокислот L-конфигурации.

Таблица 1

Соединение	R	$K_{30^\circ} = \frac{c_{C_5}}{c_{C_{откр}}}$	$-\Delta H$, ккал/моль	$^3J_{NHCH}$, Гц
(I)	H	12,2	0,65 *	5,0
(II)	CH ₃	4,7	0,8 *	6,4
(III)	CH ₂ CH ₃	7,9	1,5	7,9
(IV)	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	7,1	1,4	8,1
(V)	CH(CH ₃) ₂	6,35	1,25	8,7
(VI)	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	5,7	0,9	8,8 **
(VII)	CH ₂ C ₆ H ₅	6,4	0,35	7,6

* Несколько повышенные результаты в сообщении [21] по сравнению с настоящими обусловлены недостаточной чистотой вещества.

** Среднее значение для двух изомеров 9,0 и 8,4 Гц (см. «Экспер. часть»).

Таблица 2

Соединение	R'	K_{30°	$-\Delta H$, ккал/моль	$^3J_{NHCH}$, Гц
(VIII)	CH ₃	4,3	0,6	6,8
(II)	CH ₂ CH ₃	4,7	0,8	6,4
(IX)	(CH ₂) ₂ CH ₃	4,7	0,8	6,6
(X)	(CH ₂) ₃ CH ₃	4,7	0,8	6,2

Таблица 3

Соединение	R	φ	ψ	$\angle NC^{\alpha}C'$
(I)	H	180	180	111,1
(II)	CH ₃	-164	173	110,1
(III)	CH ₂ CH ₃	-156	170	109,0
(IV)	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	-155	169	108,9
(V)	CH(CH ₃) ₂	-151	168	108,1
(VI)	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	-150	168	108,0
(VII)	CH ₂ C ₆ H ₅	-158	-	-

менение значений K и ΔH превышает несколько ошибку измерения только при переходе от $R' = CH_3$ к $R' = CH_2CH_3$. Дальнейшее увеличение R' не влияет на значения K и ΔH . Тот же результат получен для соединений (IV), (XI) и (XII).

Изменение энтропии при конформационном переходе $C_{откр} \rightarrow C_5$ у всех изученных соединений при R-алкил близко к нулю. У соединения (VII) ΔS конформационного перехода $C_{откр} \rightarrow C_5$ равно 2,3 э.е.

Сравнение влияния заместителей R и R' на разницу конформационной энтропии структур $C_{откр}$, C_5 , а также на значения K и $^3J_{NHCH}$ (табл. 1 и 2) показывает, что указанные параметры не зависят от структуры алкильного заместителя R'. Этот факт свидетельствует о том, что электронными эффектами заместителей R на конформационное равновесие можно пренебречь и заметная зависимость измеренных параметров от природы R обусловлена главным образом стерическим взаимодействием заместителя с основной цепью сложных эфиров N-ацетиламино кислот. Действительно, если бы электронная структура R играла важную роль при определении характеристик равновесия $C_{откр} \rightleftharpoons C_5$ вследствие изменения электронодонорной способности участвующего в H-связи кислорода сложноэфирной группы и/или электронной плотности у водорода группы NH, изменение

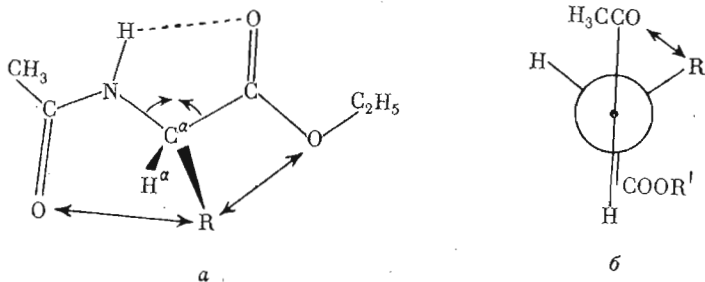


Рис. 3. Направление сил стерического отталкивания основной и боковой цепей молекул сложных эфиров N-ацетил- α -аминокислот: *a* — компонент стерического отталкивания радикала R с амидной и сложноэфирной группами, действующий в плоскости цикла C_5 и приводящий к уменьшению валентного угла $NC^{\alpha}C'$; *b* — компонент отталкивания радикала R и амидной группы, действующий перпендикулярно плоскости цикла C_5 и деформирующий планарность конформаций C_5

структуры алкильного заместителя R' , непосредственно связанного со сложноэфирной группой, приводило бы также к заметному изменению изученных параметров, чего не наблюдается (табл. 2).

Имеющиеся в литературе зависимости ${}^3J_{NHCH}$ от φ [2, 4, 22] позволяют по значениям констант найти двугранные углы φ . Экспериментальные значения ${}^3J_{NHCH}$ в развернутых формах являются средними для всех конформаций. Учитывая, что основная часть молекул изученных соединений существует в конформации C_5 (табл. 1), значения ${}^3J_{NHCH}$ характеризуют в основном эту форму. Доля молекул в конформации $C_{откр}$ у соединений (II) — (VII) варьируется от 11 до 18% и по конформационным картам [9, 13, 15] можно приблизительно оценивать влияние этой формы на усредненное значение ${}^3J_{NHCH}$. Например, согласно [15], ожидаемым конформациям молекул $C_{откр}$ соединений (II) — (VII) соответствуют значения углов $\varphi \sim (80-85^\circ)$ при различных значениях углов ψ . Согласно зависимости ${}^3J_{NHCH}$ от φ [4], при таких значениях углов φ у молекул в открытых структурах усредненное значение констант не превышает значений ${}^3J_{NHCH}$ для конформации C_5 у соединений (II) — (VII) больше чем на 0,2 Гц, а для соединения (I) — на 0,4 Гц. Из этого следует, что наблюдаемые усредненные значения ${}^3J_{NHCH}$ могут с довольно большой точностью характеризовать конформацию C_5 . Поэтому монотонный рост значений ${}^3J_{NHCH}$ при росте объема алкильного заместителя R указывает на прогрессирующее отклонение цикла в структуре C_5 от планарности. Полученные согласно [4] значения углов φ приведены в табл. 3 (соединение (VII) рассматривается отдельно). Вывод, сделанный на основе измерений ${}^3J_{NHCH}$, об увеличении отклонения угла φ от 180° при росте объема заместителя R хорошо согласуется с расчетными данными (см., например, [10]) о влиянии боковой цепи аминокислоты на конформацию C_5 . Причиной отклонения цикла C_5 от оптимальной для H-связи планарной структуры при $R \neq H$ является стерическое отталкивание между заместителем R и атомами кислорода амидной и сложноэфирной группы (см. рис. 3). Отклонение углов φ и ψ от 180° , увеличивая длину внутримолекулярной H-связи, должно привести к уменьшению стабильности структуры C_5 при увеличении объема заместителя R. Однако обнаруженное в эксперименте немонотонное изменение значений K и ΔH (табл. 1) при увеличении объема заместителя указывает на то, что механизм влияния алкильных заместителей на стабильность конформации C_5 более сложный. Наряду с деформацией плоского цикла взаимодействие алкильных заместителей R с основной цепью приводит также к заметной стабилизации конформации C_5 . Аналогичная стабилизация внутримолекулярной H-связи алкильными α - и/или β -заместителями отмечена, например, в работах [23, 24]

и объясняется так называемым эффектом Торпа-Ингольда, который заключается в уменьшении валентного угла внутри цикла у замещенного углеродного атома [23—25], что приводит к уменьшению длины и этим к упрочению внутримолекулярной Н-связи. Следует отметить, что, согласно расчетным данным [14], также ожидается уменьшение валентного угла $NC^{\alpha}C'$ в аминокислотных остатках при увеличении объема алкильных заместителей R.

Исходя из приведенных выше соображений и экспериментальных результатов (см. табл. 1) естественно предположить, что алкильные заместители R кроме деформации плоскости цикла C_5 оказывают на конформацию C_5 также стабилизирующее влияние благодаря эффекту Торпа-Ингольда. На рис. 3 (а и б) показаны эти два компонента стерического взаимодействия между заместителем R и основной цепью молекулы. Один из компонентов направлен перпендикулярно плоскости внутримолекулярного цикла и дестабилизирует его. Второй компонент действует в плоскости цикла, уменьшает валентный угол $NC^{\alpha}C'$ и длину внутримолекулярной Н-связи, тем самым стабилизируя конформацию C_5 .

Оба вклада увеличиваются с увеличением алкильных заместителей R, о чем свидетельствуют данные ЯМР (см. табл. 1 и 3, а также [2, 4, 5]) и результаты исследований внутримолекулярной Н-связи у диолов [23, 24] и результаты, полученные с помощью ИК-спектроскопии, приведенные в табл. 1. Следует, однако, отметить, что вклад указанных эффектов в определение относительной стабильности конформации C_5 различен при различных заместителях R и различных типах соединений. Хотя оба эффекта увеличиваются при увеличении объема заместителей, их соотношение может меняться при переходе от одного заместителя к другому, что наблюдается в данном случае. Для изученных соединений (I)–(VI) при увеличении R в ряду $H \rightarrow CH_3 \rightarrow CH_2CH_3$ доминирует эффект стабилизации. При дальнейшем увеличении объема заместителя в ряду $CH_2CH_3 \rightarrow CH_2CH(CH_3)_2 \rightarrow CH(CH_3)_2 \rightarrow CH(CH_3)CH_2CH_3$ начинает доминировать эффект дестабилизации. Отмеченное изменение соотношения двух эффектов при объемистых алкильных заместителях вполне понятно, учитывая, что эффект Торпа-Ингольда ограничен возможностями изменения угла $NC^{\alpha}C'$ и не может полностью компенсировать удлинение Н-связи при заметном отклонении углов ϕ и ψ от 180° .

Результаты несложных геометрических расчетов хорошо согласуются с предложенным механизмом стерического влияния алкильного заместителя R на стабильность конформации C_5 . Уменьшение валентного угла $NC^{\alpha}C'$ на несколько градусов действительно способно компенсировать удлинение внутримолекулярной Н-связи, обусловленное экспериментально отмеченным отклонением значений азимутальных углов ϕ от 180° . В табл. 3 приведены рассчитанные значения валентных углов $NC^{\alpha}C'$, при которых для экспериментально определенных значений угла ϕ в случае изученных соединений в конформации C_5 длина внутримолекулярной Н-связи остается такой же, что и в остатке глицина (2,24 Å).

Полученные значения валентных углов $NC^{\alpha}C'$ не противоречат кристаллографическим данным об аминокислотах и пептидах. Например, минимальные обнаруженные значения углов $NC^{\alpha}C'$ (105° [26, 27] и $105,8^\circ$ [28]) гораздо меньше, чем предложенные в табл. 3, что указывает на то, что внутри- и межмолекулярные взаимодействия действительно способны заметно деформировать валентный угол $NC^{\alpha}C'$ в аминокислотных остатках.

При рассмотрении эффекта стабилизации циклической структуры алкильными заместителями обычно отмечают роль одновременно присутствующих энтальпийного и энтропийного факторов [29]. У изученных соединений (I)–(VI) и (VIII)–(X) стабилизация структуры C_5 обусловлена главным образом энтальпийным фактором, ΔS конформационного перехода $C_{откр} \rightleftharpoons C_5$ при R=алкил близка к нулю. Однако в случае соеди-

нения (VII) стабилизация структуры C_5 достигается в основном за счет энтропийного вклада. (Для конформационного перехода $C_{откр} \rightarrow C_5$ $\Delta H = -0,35$ ккал/моль; $T\Delta S = 0,7$ ккал/моль при 30°C .) Это обстоятельство не позволяет сделать вывода о влиянии заместителя $R = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ на значение валентного угла $\text{NC}^{\alpha}\text{C}'$ у соединения (VII) по сравнению с соединением (I).

Наконец следует отметить, что учет двух конкурирующих механизмов стерического влияния алкильных заместителей на стабильность конформации C_5 устраняет трудности при объяснении в [1, 5, 6] относительно высокой стабильности сильно деформированных конформаций C_5 у моноалкиламинов N-ацетил- α -аминокислот в случае объемистых боковых цепей аминокислот [1, 4].

Экспериментальная часть

Сложные эфиры N-ацетил-*D*, *L*- и *L*- α -аминокислот синтезировали по методике [30] из соответствующих *D*, *L*- α -аминокислот и N-ацетил-*L*-аминокислот. Изученные соединения очищали методом жидкостной хроматографии [31].

Разбавленные растворы соединений в CCl_4 исследовали с помощью спектроскопии ИК и ЯМР. Малая концентрация изученных веществ исключала возможность образования межмолекулярных ассоциатов. CCl_4 высушен над P_2O_5 . Приготовление растворов проводили в специальном боксе в сухой и строго контролируемой атмосфере.

ИК-спектры регистрировали на приборе UR-20 с призмой LiF. Условия измерения спектров: спектральная ширина щели в области валентного колебания $\text{N}=\text{H}$ ($\nu_3\text{N}-\text{H}$) $3,5\text{ см}^{-1}$, скорость сканирования $25\text{ см}^{-1}/\text{мин}$, толщина слоя $5,5\text{ см}$, концентрация $\sim 8 \cdot 10^{-4}\text{ М}$. Определение доли различных форм молекул проводили по ИК-спектрам в области $\nu_3\text{N}-\text{H}$, для чего перекрывающиеся полосы разделяли графически (см. рис. 1) после перевода спектров из шкалы «процент пропускания — частота (ν)» в шкалу «поглощение — ν » [21]. Константы конформационного равновесия $C_{откр} \rightleftharpoons C_5$ определяли из интегральных интенсивностей разделенных полос. Если обозначить интегральные интенсивности

$$A = \frac{1}{cl} \int \lg \frac{I_0}{I} d\nu, \quad (1)$$

и

$$\int \lg \frac{I_0}{I} d\nu = B, \quad (2)$$

то

$$K = \frac{c_{C_5}}{c_{C_{откр}}} = \frac{B_{C_5}}{kB_{C_{откр}}}, \quad (3)$$

где $k = A_{C_5}/A_{C_{откр}}$, c_{C_5} и $c_{C_{откр}}$ — концентрация соответствующей формы.

Учитывая, что коэффициенты экстинкции для различных форм групп NH различны, провели калибровку интегральных интенсивностей, т. е. определили значение k . Для этого значения константы равновесия K устанавливали сначала по поглощению в максимуме полосы поглощения $\nu_3\text{N}-\text{H}$ открытых конформаций по формулам

$$c_{C_{откр}} = \frac{D_{C_{откр}}}{\epsilon l}, \quad K = \frac{c_0 - c_{C_{откр}}}{c_{C_{откр}}},$$

где ϵ — молярный коэффициент поглощения, l — толщина слоя, c_0 — концентрация раствора. ϵ приняли равным $78\text{ л/моль}\cdot\text{см}$ (среднее арифметическое для 16 простых амидов [32]).

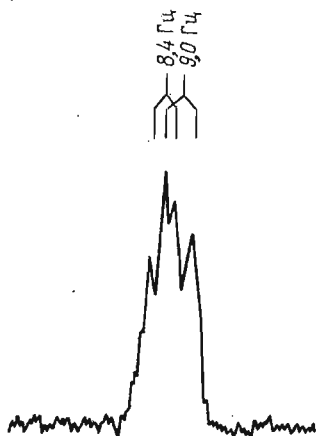


Рис. 4. Сигнал протонов группы NH в спектре ЯМР этилового эфира N-ацетил-изолейцина, с 8 мМ, 30° С

Затем определили значение $k = A_{C_5} / A_{C_{откр}} = 1,87$ по формуле (3) как среднее арифметическое для всех изученных соединений. Таким образом, окончательные значения K определяли по формуле

$$K = \frac{B_{C_5}}{1,87 \cdot B_{C_{откр}}} \quad (4)$$

Интегральные интенсивности полос определяли методом прямого интегрирования [33]. Разницу конформационной энтальпии структур $C_{откр}$, C_5 определяли по формуле

$$\Delta H = -R \left(\frac{d \ln K}{d \frac{1}{T}} \right)_P$$

из температурной зависимости константы равновесия при пяти температурах в интервале от 30 до 70° С. Точность термостатирования в кювете составляла $\pm 0,5^\circ$ С. Значения K и ΔH найдены из трех измерений. Разброс значений K и ΔH составлял соответственно $\pm 5\%$ и $\pm 0,15$ ккал/моль. ΔS конформационного перехода $C_{откр} \rightarrow C_5$ определили по формулам $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, $\Delta G = -RT \ln K$. Спектры ЯМР соединений измеряли на спектрометре Tesla BC 487 С со встроенным контуром для облучения ядер ^{14}N . Спектрометр снабжен анализатором АИ 4096 ЗМВ 100. Константы спин-спинового взаимодействия $^3J_{\text{NHCH}}$ получали накоплением спектров (200 проходов) по сигналам протонов группы NH с точностью $\pm 0,1$ Гц. Спектры измеряли при комнатной температуре при облучении ядер ^{14}N сильным радиочастотным полем. Концентрация веществ в растворах CCl_4 для исследований методом ЯМР составляла 8 мМ. Сигналы протонов группы NH всех изученных соединений представляют собой дублет, за исключением соединения (VI), у которого в этой области наблюдаются два перекрывающихся дублета (рис. 4), что свидетельствует о наличии в препарате смеси изомеров изолейцина (60%) и аллоизолейцина (40%) [34]. В ИК-спектрах соединения (VI) в областях $\nu_{\text{N-H}}$ и $\nu_{\text{C=O}}$ расщепления указанных полос не обнаружено. Поэтому для сопоставления данных, полученных методом ЯМР, с данными ИК-спектроскопии в табл. 1 для соединения (VI) приведено среднее значение $^3J_{\text{NHCH}}$ для двух изомеров.

Для вычисления длины внутримолекулярной водородной связи в зависимости от углов φ , ψ и $\text{NC}^{\alpha}\text{C}'$ была составлена программа для ЭВМ на языке ФОРТРАН IV*. Для всех аминокислотных остатков использо-

* Вычисления проведены в секторе биохимии Института кибернетики АН СССР Т. Луманом.

вали следующие геометрические параметры:

длины связей, Å	валентные углы, град
$d_{\text{H-N}} = 1,0$	$\angle \text{HNC}^\alpha = 115,5$
$d_{\text{N-C}^\alpha} = 1,458$	$\angle \text{C}^\alpha\text{C}'\text{O} = 121,8$
$d_{\text{C}^\alpha\text{-C}'}$	
$d_{\text{C}'=0} = 1,23$	

У глицина выбраны значения азимутальных углов $\varphi = \psi = 180^\circ$, угол $\text{NC}^\alpha\text{C}' = 111,1^\circ$. Указанные геометрические параметры (за исключением углов φ и ψ) выведены как средние арифметические более чем 20 кристаллических соединений, включающих глицин [26–28, 35–50]. При этом не учитывали те соединения, в которых по крайней мере один из атомов (N или O), образующий угол или образующий приведенные выше связи, несет заряд. Программа составлена так, что длины внутримолекулярной Н-связи в конформации C_5 получены при различных значениях азимутальных углов φ и ψ и угла $\text{NC}^\alpha\text{C}'$. При каждом значении φ находили значение угла ψ из условия минимальной длины Н-связи $-\text{NH}\cdots\text{O}$. В табл. 3 приведены те значения углов $\text{NC}^\alpha\text{C}'$, которые при экспериментально установленных значениях φ дают длину внутримолекулярной Н-связи равной или меньше Н-связи в соединении (I).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефремов Е. С., Сеявина Л. Б., Желтова В. Н., Иванова А. Г., Костецкий П. В., Иванов В. Т., Попов Е. М., Овчинников Ю. А. (1973) Химия природн. соедин., 9, 322–338.
2. Cung M. T., Marraud M., Neél J. (1973) Jerusalem Symp. Quantum Chem. Biochem., 5, 69–86.
3. Avignon M., Huong P. V. (1970) Biopolymers, 9, 427–432.
4. Cung M. T., Marraud M., Neél J. (1974) Macromolecules, 7, 603–613.
5. Cung M. T., Marraud M., Neél J. (1972) Ann. Chim., 7, 183–209.
6. Avignon M., Huong P. V., Lascombe J., Marraud M., Neél J. (1969) Biopolymers, 8, 69–89.
7. Smolkova J., Vitek A., Bláha K. (1971) Collect. Czech. Chem. Commun., 36, 2474–2485.
8. Mitra A. K. (1978) Int. J. Peptide Protein Res., 11, 166–178.
9. Goodman M., Fu Chen, Gilon C., Ingwall R., Nissen D., Palumbo M. (1974) Peptides, Polypeptides and Proteins, Proc. Rehovot Symp. Poly (Amino Acids), Polypeptides and Proteins, pp. 126–145, Wiley, New York, London.
10. Zimmermann S. S., Pottle M. S., Nemethy G., Scheraga H. A. (1977) Macromolecules, 10, 1–9.
11. Lewis P. N., Momany F. A., Scheraga H. A. (1973) Israel J. Chem., 11, 121–152.
12. Pullmann B., Pullmann A. (1974) in: Advances in Protein Chemistry, v. 28, pp. 348–526, Acad. Press, New York — London.
13. Кирнарский Л. И. (1978) Канд. дис. «Исследование стерических факторов фермент-субстратных взаимодействий методами теоретического конформационного анализа», Ин-т биоорг. химии АН БССР, Минск.
14. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Дашевский В. Г. (1968) Молекулярн. биология, 2, 622–630.
15. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Плетнев В. З., Архипова С. Ф. (1971) Химия природн. соедин., 2, 184–191.
16. Maxfield F. R., Scheraga H. A. (1976) Biochemistry, 15, 5138–5153.
17. Slet V., Arro I., Lumiste T. (1978) Abstracts of 20th Congress AMPERE, Tallinn D4416.
18. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1971) Biochem. J., 121, 577–585.
19. Пиментел Дж., Мак-Клеллан О. (1964) Водородная связь, с. 462, «Мир», М.
20. Слет В. А. (1977) II Республиканская конф. молодых ученых-химиков. Тез. докл., ч. II, с. 52, Таллин.
21. Slet V., Arro I. (1977) ENSV TA Toimet., Füüs.-Mat., 26, 417–423.
22. Bystrov V. F., Ivanov V. T., Portnova S. L., Balashova T. A., Ovchinnikov Yu. A. (1973) Tetrahedron, 29, 873–877.
23. Rague Schleyer P. von (1961) J. Amer. Chem. Soc., 83, 1368–1373.
24. Kuhn L. P. (1958) J. Amer. Chem. Soc., 80, 5950–5954.
25. Ingold C. K. (1921) J. Chem. Soc., 119, 305–329.
26. Chaney M., Seely O., Steinrauf L. K. (1971) Acta Cryst., B27, 544–548.

27. Subramanian E. (1967) *Acta Cryst.*, **22**, 910—913.
28. Goswami K. N., Yadava V. S., Padmanabhan V. M. (1977) *Acta Cryst.*, **B33**, 1280—1283.
29. Allinger N. L., Zalkow V. (1960) *J. Org. Chem.*, **25**, 701—704.
30. Radenhausen R. (1895) *J. Pract. Chem.*, **52**, 437—439.
31. Гордон А., Форд Р. (1976) *Спутник химика*, с. 380—394, «Мир», М.
32. Lumley Jones R. (1966) *Spectrochim. acta*, **22**, 1555—1562.
33. Ramsay D. A. (1952) *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 172—180.
34. Тихонов В. П., Костромина Н. А. (1977) *Теор. и эксперим. химия*, **13**, 496—503.
35. Marsh R., Glusker J. (1961) *Acta Cryst.*, **14**, 1110—1115.
36. Blanplain P., Durant F., Evrard G. (1976) *Acta Cryst.*, **B32**, 629—631.
37. Jönsson P., Kvich A. (1972) *Acta Cryst.*, **B28**, 1827—1833.
38. Koetzle T. E., Hamilton W. C., Parthasarathy R. (1972) *Acta Cryst.*, **B28**, 2083—2090.
39. Cotrait M., Barrans Y. (1974) *Acta Cryst.*, **B30**, 1018—1023.
40. Gadret M., Leger J. M., Carpy A. (1977) *Acta Cryst.*, **B33**, 1067—1071.
41. Kvich A., Al-Karaghoul A. R., Koetzle T. F. (1977) *Acta Cryst.*, **B33**, 3796—3801.
42. Ashida T., Tanaka I., Shimonishi G., Kakudo M. (1977) *Acta Cryst.*, **B33**, 3054—3059.
43. Ueki T., Bando S., Ashida T., Kakudo M. (1971) *Acta Cryst.*, **B27**, 2219—2230.
44. Rudko A., Low B. (1975) *Acta Cryst.*, **B31**, 713—725.
45. Yamane T., Ashida T., Shimonishi K., Kakudo M., Sasada Y. (1976) *Acta Cryst.*, **B32**, 2071—2076.
46. Timmins P. A. (1975) *Acta Cryst.*, **B31**, 2240—2245.
47. Chandrasekaran R., Subramanian E. (1969) *Acta Cryst.*, **B25**, 2599—2606.
48. Tanaka I., Kozima T., Ashida A., Tanaka N., Kakudo M. (1977) *Acta Cryst.*, **B33**, 116—119.
49. Cotrait M., Bideau I. (1974) *Acta Cryst.*, **B30**, 1024—1028.
50. Reed L., Johnson P. (1973) *J. Amer. Chem. Soc.*, **95**, 7523—7524.

Поступила в редакцию
10.XII.1978

После переработки
5.III.1979

THE SIDE CHAIN INFLUENCE ON THE BACKBONE CONFORMATION OF N-ACETYL- α -AMINO ACID ESTERS

SLET V.

*Institute of Thermophysics and Electrophysics,
Academy of Sciences of the Estonian SSR, Tallin*

The IR and ^1H NMR studies of N-acetyl- α -amino acid esters conformations in dilute CCl_4 solution have been carried out. The constants of conformational equilibrium $\text{C}_{\text{open}} \rightleftharpoons \text{C}_5$ and the thermodynamic functions (ΔH , ΔS) of conformational transition $\text{C}_{\text{open}} \rightarrow \text{C}_5$ have been determined by the IR spectroscopy whereas the vicinal spin-spin coupling constants $\text{HNC}^{\alpha}\text{H}^{\alpha}$ of the same compounds have been measured by NMR. It has been shown that the sterical influence of amino acid alkyl side chains on the stability of C_5 conformation is realized by the two competitive mechanisms: destabilization of the C_5 conformation due to the out-of-planarity distortion of the 5-membered ring and stabilization due to the Thorpe-Ingold effect.