

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ВРАЩАТЕЛЬНЫХ ИЗОМЕРНЫХ ФОРМ СВОБОДНЫХ МЕТИЛАМИДОВ N-АЦЕТИЛ- α -L-АМИНОКИСЛОТ

Кондратьев М. С., Самченко А. А., Комаров В. М.,
Кабанов А. В.

(Россия, Пушкино)

В работе исходя из результатов полуэмпирических квантово-химических расчетов выделяются общие структурные и термодинамические особенности низкоэнергетических ротамеров монопептидов L-аминокислот, определяющие начало организации полипептидных цепочек в α - или β -подобные формы.

Введение. Возможность предсказания пространственной структуры молекулы белка по его аминокислотной последовательности уже длительное время интригует специалистов, работающих в разных областях биофизики, молекулярной биологии и биоинженерии [1]. Для успешного описания процесса самосборки белка чрезвычайно важно понимание взаимосвязи между свойствами вторичной структуры макромолекулы и конформационными «возможностями» ее составляющих монопептидов.

Простейшими моделями конформационного поведения аминокислотных остатков в составе полипептидной цепи являются метиламиды N-ацетил- α -L-аминокислот. Целью данной работы является теоретическое обоснование существования некоторых внутренних исходных структурных факторов, определяющих предпочтительность формирования монопептидными остовами либо спиралеподобных, либо β -подобных форм.

Метод и подходы. Нами проведен сравнительный конформационный анализ основных вращательных изомерных форм 20-и монопептидов L-аминокислот. Расчеты выполнены с использованием метода молекулярной механики (ММ3Pro) и полуэмпириче-

ской РМЗ квантово-химической техники. Последний, как известно, обеспечивает вполне достаточную надежность описания энергетики и структурных особенностей молекул пептидов [2]. Термодинамические оценки проводились для стандартных условий комнатных температур и обычных давлений (1 атм.).

Результаты и обсуждение. Считается, что строгий теоретический конформационный анализ рассматриваемых молекул позволяет в принципе выявить весь набор присущих им пространственных форм и определить порядок их расположения в энергетической шкале согласно внутримолекулярным взаимодействиям [3]. Основные конформационные возможности молекулы монопептида достаточно надежно описываются главным образом распределением значений пары двугранных углов φ и ψ , отвечающих поворотам вокруг связей $C^\alpha-N$ и $C^\alpha-C'$ (рис.1) [3–7].

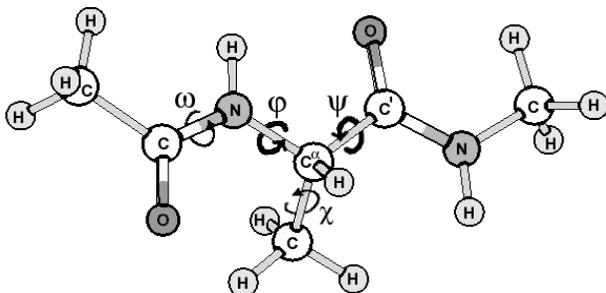


Рис. 1. Основные двугранные углы в молекуле монопептида (на примере метиламида N-ацетил- α -L-аланина)

Для длинных полипептидов экспериментально определенные углы φ и ψ практически всегда оказываются в хорошей корреляции с «разрешенными» областями конформационных карт монопептидов. Для α -спиральных участков белков угол φ может изменяться в пределах $(-60^\circ) - (-100^\circ)$, а угол ψ – от (-25°) до (-50°) . Для β -структур эти углы принимают значения в области, соответственно, (-110°) и $(+140^\circ)$ [3–5].

Выделяют пять основных типов устойчивых конформаций монопептидов [3-11]: **R** (или α_R), отвечающая геометрии звена α -

спирали; **V** (или C_5^{ext}), отвечающая геометрии элемента β -слоя, а также редкая левоспиральная конформация **L** (или α_L) и две структуры с внутримолекулярными водородными связями **M** (или C_7^{eq}) и **H** (или C_7^{ax}).

Несмотря на такое разнообразие стабильных форм монопептидов, в их структуре все же проявляется статистически устойчивое преимущество двух типов топологии химических связей во фрагменте $N-C^\alpha-C=O$: *цис*- и *транс*-ориентация связей $C=O$ и $C^\alpha-N$.

Мы провели эмпирические оценки профилей поверхности потенциальной энергии (ППЭ) и последующие детальные полуэмпирические РМЗ-расчеты как структурных, так и спектральных и термодинамических свойств монопептидов всех 20-и аминокислот. Оценки энергетики основных конформеров приведены в таблице (табл.1).

Анализ представленных величин теплот образования позволяет заметить, что основным конформером глобального минимума ППЭ практически для всех многопептидов является В-форма (или иначе C_5^{ext}). Исключение составляют молекулы *meta*-Asp и *meta*-Glu: их боковые группы весьма эффективно образуют либо внутримолекулярные бифуркационные водородные связи (конформеры ВF), либо образуют дополнительную водородную связь с остовом цепи (IV- конформеры). Поэтому для монопептидов аспарагиновой и глутаминовой кислоты наиболее стабильным является конформер, близкий к М-типу, с разворотом $C=O$ и $C^\alpha-N$ связей, напоминающим *транс*-форму, характерную больше для α -спиральных участков полипептидных цепей. Во всех остальных случаях второму минимуму ППЭ монопептидов обычно отвечает конформер R (или α_R), с разворотом связей $C=O$ и $C^\alpha-N$, близким к *транс*-конформации.

Для некоторых монопептидов эту «вторую ступень» в энергетической шкале молекулы занимают конформеры с внутримолекулярными водородными связями – М (иначе C_7^{eq}) или Н (C_7^{ax}). У них степень *транс*-разворота $C=O$ и $C^\alpha-N$ связей в определенной мере зависит от природы боковой группы аминокислотного остатка.

Таблица 1. РМЗ-рассчитанные теплоты образования основных конформеров метиламидов N-ацетил- α -L-аминокислот (mana-X)

Название молекулы	Код конформера	Тепл. обр. (ккал/моль)	Название молекулы	Код конформера	Тепл. обр. (ккал/моль)
mana-Ala	B	-93.86	mana-Leu	B	-109.96
	H	-91.44		H	-106.77
	L	-90.63		L	-104.71
	M	-		M	-108.31
	R	-91.2		R	-106.99
mana-Arg	B	-77.76	mana-Lys	B	-103.62
	H	-76.44		H	-100.23
	L	-74.7		L	-98.06
	M	-78.09		M	-101.79
	R	-76.91		R	-101.08
mana-Asn	B	-128.51	mana-Met	B	-94.23
	H	-122.9		H	-91.68
	L	-124.24		L	-89.66
	M	-128.23		M	-92.47
	R	-		R	-90.34
mana-Asp	B	-179.21	mana-Phe	B	-65.51
	H	-176.94		H	-62.23
	L	-		L	-61.75
	M	-176.89		M	-
	R	-178.48		R	-61.58
	BF	-177.81			
	IB	-181.43			
mana-Cys	B	-83.81	mana-Pro	B	-93.75
	H	-79.44		X	-93.19
	L	-78.64		M	-92.84
	M	-		R	-92.57
	R	-80.95			
mana-Gln	B	-133.1	mana-Ser	B	-133.94
	H	-128.33		H	-130.56
	L	-128.4		L	-128.05
	M	-131.31		M	-131.47
	R	-132.87		R	-130.82
mana-Glu	B	-184.34	mana-Thr	B	-139.14
	H	-182.67		H	-134.25
	L	-180.07		L	-139.81
	M	-183.65		M	-138.47
	R	-181.85		R	-134.59
	BF	-181.41			
	IB	-184.99			
mana-Gly	B	-88.61	mana-Trp	B	-48.01
	H	-88.61		H	-43.82
	L	-88.61		L	-43.28
	M	-87.27		M	-
	R	-88.61		R	-42.98
mana-His	B	-59.39	mana-Tyr	B	-110.6
	H	-56.47		H	-107.18
	L	-54.48		L	-106.8
	M	-		M	-
	R	-		R	-106.68
mana-Ile	B	-107.48	mana-Val	B	-102.69
	H	-104.85		H	-99.09
	L	-100.99		L	-96.57
	M	-105.14		M	-100.53
	R	-104.85		R	-99.81

Среди изученных нами форм наименее термостабильной оказывается форма L (α_L), соответствующая геометрии левой спирали. Это может рассматриваться как косвенное подтверждение редкой встречаемости такого типа образований во вторичной структуре глобулярных белков.

В качестве более убедительного, на наш взгляд, аргумента справедливости установленной иерархии основных конформеров монопептидов является характер поведения их свободных энергий.

Согласно полученным результатам (рис. 2), энергия Гиббса и энтальпия образования монопептидов в ряду их основных конформеров (R, L, B, M, H) изменяются симбатно. Но в то же время график изменения $\Delta\Delta G^0$ дает более резкие различия в энергетике конформеров. Это, с одной стороны, свидетельствует об определенной роли энтропийных вкладов в балансе энергетике монопептидов, а с другой – характеризует разную колебательную активность разных изомерных форм.

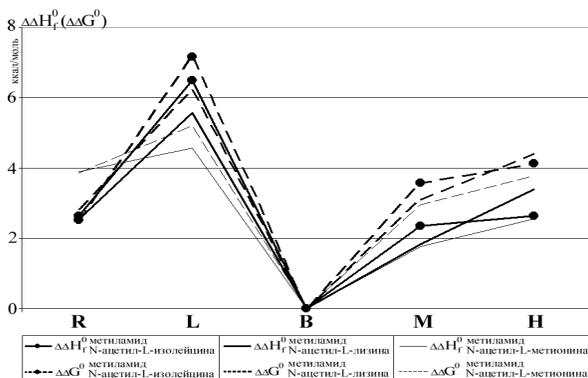


Рис. 2. PM3-рассчитанные изменения энтальпии и свободной энергии основных конформеров монопептидов изолейцина, лизина и метионина

Необходимо отметить, что эти данные могут показаться противоречащими другим известным результатам [8–13], полученным на основе более строгих, *ab initio* квантово-химических методик, как без учета, так и с учетом многоэлектронных корре-

ляционных поправок. В этих работах, независимо от используемого *ab initio*-подхода, практически всегда приводится следующий порядок относительной стабильности конформеров:

$$\mathbf{M} > \mathbf{B} > \mathbf{H} > \mathbf{R} > (\mathbf{L}),$$

что отличается от полученного в нашей работе порядка:

$$\mathbf{B} > (\mathbf{M})\mathbf{R} > \mathbf{H} > \mathbf{L}.$$

Причина таких разногласий кроется, по нашему мнению, в недоучете в работах [8–13] достаточно высокой конформационной подвижности равновесных структур рассматриваемых молекул. При использовании *ab initio*-техники оказывается чрезвычайно важным учитывать поправки на энергию нулевых колебаний и на энтропийные факторы [14,15]. Учет этих факторов, например, для аланинивого монопептида [15] приводит к тому, что наибольшей стабильностью оказывается характеризуется не М-форма, как полагают многие [8–13], а форма В. Этот результат уже не противоречит нашим полуэмпирическим оценкам.

Для подтверждения тезиса о важности колебательной динамики в формировании энергетики равновесных структур рассматриваемых молекул в таблице 2 представлены данные о специфике их низкочастотного спектра нормальных колебаний. Поскольку в термодинамическую стабильность молекул наибольший вклад обычно дают длинноволновые колебания, то в таблице для сравнения приведены только частоты первых трех колебательных мод.

Хорошо видно, что нижние колебательные частоты разных конформеров монопептидов заметно отличаются. Более того, выделяются явно пониженные значения колебательных частот именно у тех конформеров, которые отвечают наиболее устойчивым формам, а именно — В и R. Это как раз те основные структуры, которые формируют α -спирали и β -слои. По-видимому, действительно, характер спектра низкочастотной колебательной динамики монопептидов может выступать лимитирующим фактором формирования вторичной структуры пептидных образований.

Таблица 2. Три самые нижние частоты колебательных мод основных конформеров некоторых монопептидов

Название	Код	ω_1	ω_2	ω_3	Название	Код	ω_1	ω_2	ω_3
		(cm^{-1})	(cm^{-1})	(cm^{-1})			(cm^{-1})	(cm^{-1})	(cm^{-1})
mana-Ala	B	21	38	67	mana-Leu	B	21	37	46
	H	61	64	75		H	42	52	60
	L	17	65	72		L	26	43	54
	M	-	-	-		M	41	50	57
	R	18	34	65		R	23	36	49
mana-Ile	B	32	40	50	mana-Cys	B	19	40	59
	H	47	64	70		H	42	48	56
	L	31	46	61		L	30	43	55
	M	48	51	62		M	-	-	-
	R	32	44	47		R	29	36	50
mana-Ser	B	24	43	65	mana-Met	B	23	30	32
	H	41	61	65		H	26	35	59
	L	26	43	63		L	24	38	42
	M	49	57	79		M	30	33	51
	R	36	46	64		R	21	24	33
mana-Thr	B	28	47	58	mana-Trp	B	21	30	45
	H	41	64	69		H	14	23	61
	L	32	52	54		L	22	24	54
	M	46	56	75		M	-	-	-
	R	34	47	57		R	18	21	33
mana-Val	B	33	41	56	mana-Tyr	B	20	22	34
	H	40	55	61		H	19	36	53
	L	37	48	67		L	23	29	53
	M	42	47	69		M	-	-	-
	R	31	45	47		R	20	23	40

Выделяется еще одна особенность структуры монопептидов. Как показывает расчет, каждая устойчивая форма характеризуется своим, достаточно индивидуальным «набором» торсион-

ных параметров (табл. 3). Однако только В-форма монопептидов, отвечающая геометрии β -структуры, обнаруживает предпочтительность к *цис*-ориентации связей во фрагменте $O=C-C^{\alpha}-N$. Остальные же конформеры всегда склонны иметь *транс*-ориентацию валентных связей этого фрагмента и, таким образом, в той или иной степени относятся к спиралеобразующим структурам.

Таблица 3. РМЗ-рассчитанные вариации торсионных параметров в структуре основных конформеров 20 монопептидов

Кон-формер	Вариация угла φ (град.)	Вариация угла ψ (град.)	Двугранный угол $O=C-C^{\alpha}-N$ (град.)
R	-97 ÷ -146	-32 ÷ -83	91 ÷ 152
L	42 ÷ 79	40 ÷ 61	34 ÷ 54
В	-93 ÷ -152	93 ÷ 165	-15 ÷ -88
M	-68 ÷ -78	70 ÷ 83	67 ÷ 102
H	57 ÷ 74	-39 ÷ -105	76 ÷ 138

Для монопептидов аспартата и глутамата эффективное внутримолекулярное водородное связывание боковой ОН-группы и карбонильного кислорода основной цепи дополнительно усиливает преимущество *транс*-подобного разворачивания $O=C$ и $C^{\alpha}-N$ связей в остове. Можно сказать, что такая зафиксированная «предрасположенность» молекул монопептидов аспартата и глутамата к образованию структур, геометрически удовлетворяющим условиям спирализации, позволяет выделить эти аминокислотные образования в особый класс «модуляторов фолдинга» α -спиралей.

Заключение. Несмотря на существование нескольких устойчивых конформеров монопептидов, все же главными вариантами геометрии остова этих форм оказываются α -«предрасположенные» и β -«предрасположенные» структуры.

В термодинамической устойчивости монопептидов характер спектра их низкочастотной колебательной динамики играет очень

важную роль. Вероятно, он выступает одним из основных факторов инициирования образования того или иного типа вторичной структуры пептидов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология (принципы и применение). — М.: Мир, 2002. — 589 с.
2. Anisimov, V.N., Anikin, N., Bugaenko, V., Bobrikov, V. and Andreyev, V. Accuracy assessment of semiempirical molecular electrostatic potential of proteins // *Theor. Chem. Acc.* — 2003. — Vol. 109. — P. 213–219.
3. Попов Е.М. Проблема белка. Т.3. Структурная организация белка. — М.: Наука, 1997. — 604 с.
4. Ramachandran, G.N., Ramakrishnan, C. and Sasisekharan, V. Stereochemistry of polypeptide chain configurations. // *J. Mol. Biol.* — 1963. — Vol. 7. — P. 95–99.
5. Ramachandran, G. N., and Sasisekharan, V. Conformation of polypeptides and proteins. // *Adv. Protein Chem.* — 1968. — Vol. 23. — P. 283–437.
6. Leach, S., Nemethy, G. and Scheraga, H.A. Computation of the sterically allowed conformations of peptides. // *Biopolymers.* — 1966. — Vol. 4. — P. 369–407.
7. Scott, R.A. and Scheraga, H.A. Conformational analysis of macromolecules. III. Helical structures of polyglycine and poly-L-alanine. // *J. Chem. Phys.* — 1966. — Vol. 45. — P. 2091–2101.
8. Bohm, H-J. and Brode, S. Ab Initio SCF calculations on low-energy conformers of N-Acetyl-N-methylalaninamide and N-Acetyl-N-methylglycinamide // *J. Am. Chem. Soc.* — 1991. — Vol. 113. — P. 7129–7135.
9. Frey, R.F., Coffin, J., Newton, S.Q., Ramek, M., Cheng, V.K.W., Momany, F.A. and Schaefer L. Importance of correlation-gradient geometry optimization for molecular conformational analysis // *J. Am. Chem. Soc.* — 1992. — Vol. 114. — P. 5369–5377.
10. Shang, H.S. and Head-Gordon T. Stabilization of helices in glycine and alanine dipeptides in a reaction field model of solvent // *J. Am. Chem. Soc.* — 1994. — Vol. 116. — P. 1528–1532.

11. Elstner, M., Jalkanen, K.J., Knapp-Mohammady, M., Frauenheim, T. and Suhai, S. Energetics and structure of glycine and alanine based model peptides: Approximate SCC-DFTB, AM1 and PM3 methods in comparison with DFT, HF and MP2 calculations // *Chem. Phys.* — 2001. Vol. 263. — P. 203–219.
12. Jajkanen, K.J., Elstner, M. and Suhai, S. Amino acids and small peptides as building blocks for proteins: comparative theoretical and spectroscopic studies // *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*. — 2004. — Vol. 675. — P. 61–77.
13. Bisetty, K., Catalan, J.G., Kruger, H.G. and Perez, J.J. Conformational analysis of small peptides of the type Ac-X-NHMe, where X=Gly, Ala, Aib and Cage // *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*. — 2005. — Vol. 731. — P. 127–137.
14. Stepanian, S.G., Reva, I.D., Radchenko, E.D. and Adamowicz, L. Conformers on nonionized proline. Matrix-isolation infrared and post-Hartree-Fock ab initio study // *J. Phys. Chem.* — 2001. — Vol. 105. — P. 10664–10672.
15. Mohle K. and Hofmann H-J. Stability order of basic peptide conformations reflected by density functional theory // *J. Mol. Model.* — 1998. — Vol. 4. — P. 53–60.

**COMPARATIVE CONFORMATIONAL ANALYSIS OF
ISOLATED ROTAMERS IN METHYLAMIDES OF
N-ACETYL- α -L-AMINO ACIDS**

**Kondratiev M. S., Samchenko A. A., Komarov V. M.,
Kabanov A. V.**

(Russia, Pushchino)

General structural and thermodynamic features of low-energy conformers in mono-peptides of l-amino acids were revealed by using semi-empirical quantum-chemical calculations. We concluded, that primary realization by peptide conformers both helix-like and β -like forms is the internal property of a mono-peptide molecular core itself.