



УДК 615.31.015.11:547.586.5:541.69

ЭЛЕКТРОННЫЕ И ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ АНТИПАРАЛЛЕЛЬНОЙ И ПАРАЛЛЕЛЬНОЙ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ β-СТРУКТУРЫ БЕЛКА И ЕГО АССОЦИАТОВ

© 1996 г. Э. Т. Оганесян, А. В. Погребняк[#]

Пятигорская государственная фармацевтическая академия, 357533, Пятигорск, ул. Калинина, 11
Поступила в редакцию 23.11.95 г.

Результаты расчета димеров валеролактама и N-метилацетамида методом молекулярных орбиталей в приближениях CNDO/2H, MINDO/3, MINDO/3H, MNDO, MNDO/H, AM1 и PM3 показывают, что для воспроизведения геометрических и термодинамических характеристик водородных связей между амидными группами наиболее пригоден метод PM3. Расчет H-связанных димеров метиламида N-ацетилаланина, моделирующих β-структуру белковой макромолекулы, свидетельствует, что антипараллельная конформация димера на 2,85 ккал/моль стабильнее параллельной. По данным, полученным в приближении AM1, димер параллельного типа обладает большей способностью к передаче электронного возмущения по цепи амид-амидных водородных связей. Образование антипараллельного и параллельного типов комплексов приводит к увеличению H-связывающей способности внешнего амидного атома кислорода по сравнению с мономером.

Ключевые слова: антипараллельная и параллельная β-структура белка, водородная связь, квантовая механика, PM3, AM1.

Формирование двухцепочечной β-структуры белковых макромолекул возможно при одном из двух типов взаимодействия “главная цепь–главная цепь” – антипараллельном и параллельном. Различаются они ориентацией амидных групп пептидных цепей, участвующих в водородных связях КВС.

Известно, что все стадии постсинтетического перехода белковой макромолекулы в активную форму в общем случае реализуются в соответствии с принципом достижения минимально-энергетической конформации. По данным РСА, встречаемость А- и П-типов связывания в нативных белках приблизительно одинакова. Однако неясно, почему энергетически строго контролируемый процесс формирования β-структуры белка не приводит к образованию только одного, наиболее стабильного конформера.

Основными методами изучения структурных параметров КВС являются РСА и спектроскопия ЯМР. Общий недостаток применения данных методов для этих целей – невозможность с их помощью прямо оценить термодинамические характеристики КВС. Для регистрации термодинамических данных применяются спектроскопия в ИК-области и калориметрия. При использова-

нии спектральных методов встречается ряд затруднений: перекрытие полос поглощения мономеров и КВС, поглощение растворителя, наличие в КВС несвязанных доноров и акцепторов протона, температурная зависимость интенсивности светопоглощения и др. Прямые калориметрические методы трудоемки и также имеют большой список ограничений и источников погрешностей.

Данная работа посвящена сравнительному исследованию особенностей А- и П-типов конформации белков с помощью квантово-механических методов, преимущество которых заключается в возможности одновременной оценки как геометрических, так и термодинамических особенностей КВС. Объекты, привлекающие внимание биоорганической химии, имеют значительные размеры, поэтому наиболее подходят полуэмпирические методы.

Отбору схемы расчета, пригодной для описания водородных связей между амидными группами, способствовала проведенная нами оптимизация геометрии валеролактама (I), метилацетамида (II) и их димеров (III) и (IV) (рис. 1) следующими полуэмпирическими методами: CNDO/2H (метод полного пренебрежения дифференциальным перекрытием, параметризованного для описания водородных связей [1]), MINDO/3 (метод модифицированного частичного пренебрежения дифференциальным перекрытием, третья параметризация [2]), MINDO/3H (метод, аналогичный

Сокращения: П- и А-тип – параллельный и антипараллельный типы связывания; КВС – комплекс, образуемый водородными связями; РСА – рентгеноструктурный анализ.

[#] Автор для переписки (357502, Пятигорск, Кучуры 2, кв. 73).

предыдущему, но дополнительно параметризован для описания КВС [1]), MNDO (метод модифицированного пренебрежения дифференциальным перекрыванием [3]), MNDO/H (метод, аналогичный предыдущему, но дополнительно параметризован для описания КВС [3]), AM1 (модель Остина, первая параметризация [4]) и PM3 (метод MNDO, параметризация три [5]). Данные соединения представляют собой простейшие системы, моделирующие подобный тип связывания в белках, и хорошо изучены экспериментально. Результаты расчетов показали, что только метод PM3 дает совокупность структурных и термодинамических характеристик, удовлетворительно согласующуюся с имеющимися экспериментальными данными.

Полученные для модельных соединений параметры приведены в табл. 1 (нумерация атомов соответствует рис. 1, атомы водорода опущены).

По данным РСА [9], образование КВС с участием амидных групп сопровождается сокращением C–N-связи на 0.025 Å и удлинением связи C=O на 0.014 Å. Расчетные значения для димера валеролактама равны соответственно 0.020 и 0.013 Å. Предсказываемое изменение длин указанных связей при образовании димера N-метилацетамида по абсолютному значению вдвое меньше, но пропорция остается верной.

Недостатком метода PM3 является завышение значений длин связи C–N в амидных группах (по данным РСА, 1.31–1.32 Å), однако эта погрешность носит систематический характер [10].

Методы, специально параметризованные для описания водородных связей, существенно занижают значения теплот образования КВС (II) и (IV). Метод AM1 для димера валеролактама дает величину –4.3 ккал/моль, а MNDO и MINDO/3 вообще не предсказывают их стабильности. Расчеты термодинамических характеристик по последним трем методам проводились на основе геометрии, полученной методом PM3, так как последние не параметризованы для описания КВС.

Поскольку метод PM3 занижает величины зарядов на атомах азота [10], мы сочли целесообразным выбрать расчетную схему, более корректно описывающую распределение электронной плотности в КВС данного типа. Для тестирования была избрана процедура оценки разности энтальпии сольватации (H_c) серина в воде и этаноле, вычисляемой в приближении поляризуемого континуума [11].

Из данных табл. 2 следует, что наиболее приемлемые значения зарядов могут быть получены методом AM1, который и применялся в дальнейшем для расчета всех электронных параметров. В исходных заданиях для расчета использовалась геометрия молекулы, полученная методом

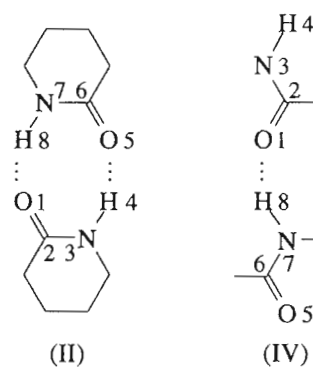


Рис. 1. Димеры валеролактама (II) и N-метилацетамида (IV).

PM3 без дальнейшей оптимизации (одна процедура самосогласования).

В качестве системы, моделирующей β-структуру белка, был выбран метиламид N-ацетилаланина (V) – простейшая молекула, способная образовывать димеры А- и П-типов и имеющая боковую цепь.

Таблица 1. Основные геометрические и термодинамические* параметры валеролактама (I), N-метилацетамида (III) и их димеров (соответственно (II) и (IV)), рассчитанные методом PM3

Параметры	(I)	(II)	(III)	(IV)
Длина связи, Å				
O1–C2	1.226	1.239	1.223	1.230
C2–N3	1.410	1.390	1.416	1.404
N3–H4	0.997	1.019	0.996	0.995
O1–H8	–	1.800	–	1.824
O1–N7	–	2.819	–	2.836
Угол, град				
O1–H8–N7	–	177.7	–	177.2
H_f (выч.)	–	–6.3	–	–4.1
H_f (эксп.)	–	–5.6[6]	–	–3.8[7]
		–7.0[8]		

* H_f , ккал/моль – теплота образования КВС.

Таблица 2. Теплоты сольватации серина в воде и этаноле (ккал/моль)

Метод расчета зарядов*	H_c (вода)	H_c (этанол)	Разность
MINDO/3	–9.46	–9.04	–0.42
AM1	–8.17	–7.84	–0.33
MNDO	–5.90	–5.67	–0.23
Эксперимент (калориметрия)	–	–	–0.30[12]

* Одна процедура самосогласования на основе PM3-геометрии.

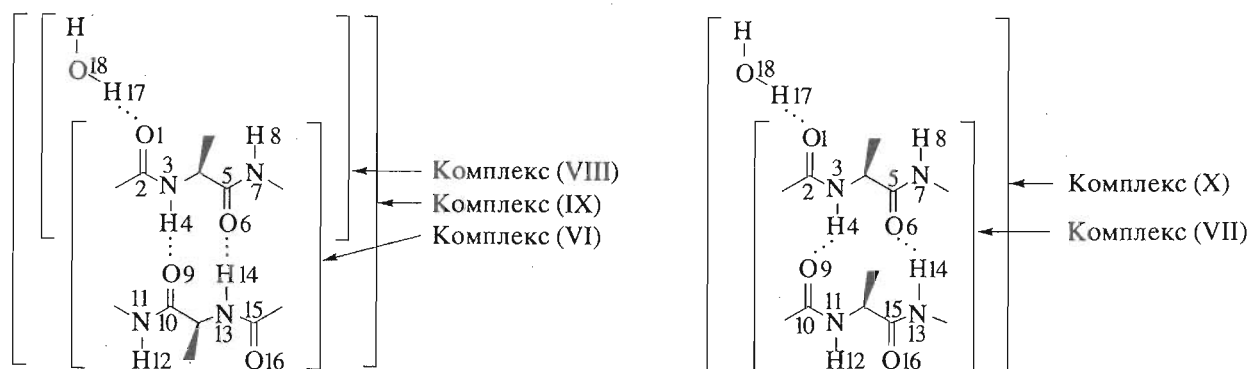


Рис. 2. Исследуемые комплексы с участием водородной связи метиламида N-ацетилаланина и молекулы воды (см. также табл. 3).

Схематические изображения двух типов димеров производного (V) – антипараллельного (VI) и параллельного (VII) – представлены на рис. 2, цифровые данные – в табл. 3.

Вычисленные значения длин связей между тяжелыми атомами двух амидных групп – участников водородной связи варьируют от 2.7 до 2.9 Å, что согласуется с данными дифракционных экспериментов [13].

Хотя в А-димере метиламида N-ацетилаланина наблюдается более значительная деформация молекул (рис. 3), по данным расчета он стабильнее П-димера на 2.85 ккал/моль.

Сравнение основных параметров, характеризующих подвижность электронной системы (энергия высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО) и α -гиперполяризуемость), показывает, что П-конформация способна значительно легче отщеплять электрон с ВЗМО (потенциал ионизации 9.17 эВ против 9.42 эВ у А-димера) и

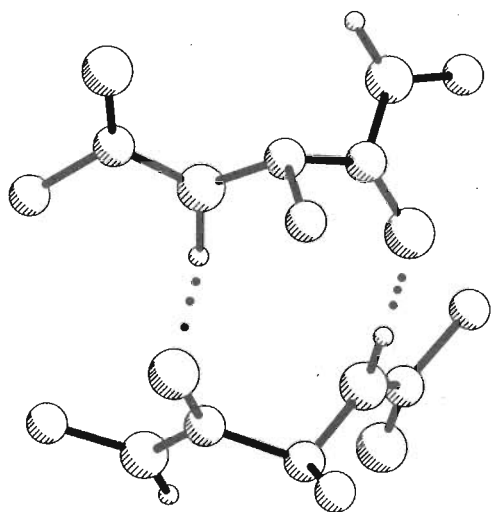


Рис. 3. PLUTO-изображение А-димера метиламида N-ацетилаланина (VI) (атомы водорода при углеродных атомах опущены).

поляризоваться (соответственно 142.16 атомных единиц против 140.63 у А-димера).

В связи с этим равную долю обоих типов взаимодействия в природных белках можно объяснить тем, что А-тип укладки преимущественно выполняет механическую (каркасную) функцию, а П-тип – функцию передачи электронного влияния.

Для изучения разных типов взаимодействия “главная цепь–главная цепь” при гидратации были рассмотрены КВС метиламида N-ацетилаланина и его А- и П-димеров с одной молекулой воды (VIII)–(X) (табл. 3). Модель “амидный карбонил–молекула воды (в качестве донора протона)” в комплексах (VIII)–(X) достаточно информативна, так как, по статистике [14], большинство водородных связей в полипептидах формируется при участии амидного атома кислорода.

Экспериментально доказано [15], что КВС типа “амидная группа–вода” стабильнее, чем “амидная группа–амидная группа”. Расчет подтверждает это положение: в КВС (IX) средняя величина теплоты образования одной амид-амидной водородной связи равна –3.8 ккал, а в КВС (X) – –2.38 ккал, что в среднем меньше расчетного значения для димера (VIII) (–3.57 ккал).

Данные расчета также показывают, что в КВС как А-, так и П-типа молекула воды связывается более прочно по сравнению с димером “метиламид N-ацетилаланин–вода” (VIII).

Сравнительный анализ степени возмущения, связанного с включением воды в КВС, свидетельствует, что КВС П-типа обладает большей способностью к переносу заряда. Это также подтверждается результатами сравнительной оценки величин потенциалов ионизации и поляризуемости (табл. 3).

Способность изучаемых КВС к передаче электронного возмущения по цепи амид-амидных водородных связей была оценена также посредством разделения порядков связей на σ - и π -составляющие, так как известно, что электрическая

Таблица 3. Геометрические, электронные и термодинамические параметры метиламида N-ацетилаланина (V), его комплекса с водой (VIII), его A- и II-димеров (VI) и (VII) и их комплексов с молекулой воды (IX) и (X), рассчитанные методом РМЗ

Параметры	(V)	(VI)	(VII)	(VIII)	(IX)	(X)
Длина связи, Å						
O1-C2	1.225	1.225	1.225	1.231	1.235	1.234
O1-H8	4.608	3.950	4.130	3.132	2.981	3.867
N3-H4	0.997	1.013	1.014	0.997	1.015	1.013
N3-O9	-	2.827	2.827	-	2.812	2.832
H4-O6	2.642	3.068	2.920	3.365	3.357	2.942
H4-O9	-	1.827	1.828	-	1.816	1.823
O6-N13	-	2.829	2.777	-	2.811	2.772
O9-C10	-	1.232	1.233	-	1.234	1.233
N11-H12	-	0.996	0.997	-	0.997	0.995
O1-H17	-	-	-	1.806	1.802	1.802
H17-O18	-	-	-	0.962	0.963	0.963
Угол, град						
N3-H4-O9	-	169.2	167.7	-	165.9	173.1
O6-H14-N13	-	169.4	151.5	-	167.8	151.2
O1-H17-O18	-	-	-	177.3	173.7	174.2
Заряд на атоме ($\times 10^3$)						
O1	-354	-380	-364	-389	-416	-407
C2	+318	+321	+312	+329	+331	+331
N3	-407	-421	-395	-402	-413	-405
H4	+231	+272	+259	+228	+277	+276
C5	+295	+312	+325	+294	+308	+317
O6	-351	-405	-408	-350	-405	-407
N7	-397	-398	-398	-404	-394	-397
H8	+215	+234	+230	+227	+238	+231
O9	-	-403	-409	-	-411	-414
C10	-	+322	+329	-	+309	+333
N11	-	-399	-387	-	-389	-391
H12	-	+230	+234	-	+234	+238
H17	-	-	-	+227	+228	+229
O18	-	-	-	-436	-436	-436
Потенциал ионизации, эВ	9.98	9.81	9.57	9.95	9.91	9.60
Гиперполяризуемость, ат. ед.	68.8	140.6	142.2	73.2	145.0	147.5
H_f , ккал/моль	-	-7.60	-4.75	-3.57	-14.48	-9.65

* См. рис. 2.

проводимость органических молекул в основном обусловлена участием электронов, локализованных на π -орбиталях. Анализ порядков π -связей (табл. 4) показывает, что заселенность π -орбиталей КВС (X) ниже, т.е. π -электронная система комплекса II-типа делокализована в большей степени.

МЕТОДИКА РАСЧЕТОВ

Квантово-механический расчет геометрических и термодинамических характеристик проведен методом РМЗ [5], электронных – АМ1 [4]. Оптимизация геометрии считалась оконченной при достижении для мономеров значения нормы градиента 0.1 ккал/(моль Å), для КВС – 1.0 ккал/(моль Å). Принятое для КВС высокое значение нормы градиента объясняется пологим характером минимума на поверхности потенциальной энергии, соответствующего равновесной геометрии КВС. Попытки получения более точных результатов приводили к понижению теплот образования КВС до величины 0.05–0.10 ккал/моль, что при экспериментальной точности определения энергии ВС, равной в среднем 0.2 ккал/моль, пренебрежимо мало.

зация геометрии считалась оконченной при достижении для мономеров значения нормы градиента 0.1 ккал/(моль Å), для КВС – 1.0 ккал/(моль Å). Принятое для КВС высокое значение нормы градиента объясняется пологим характером минимума на поверхности потенциальной энергии, соответствующего равновесной геометрии КВС. Попытки получения более точных результатов приводили к понижению теплот образования КВС до величины 0.05–0.10 ккал/моль, что при экспериментальной точности определения энергии ВС, равной в среднем 0.2 ккал/моль, пренебрежимо мало.

Таблица 4. Порядки π -связей* в амидных группах

Пары атомов	(V)	(VI)	(VII)	(VIII)	(IX)	(X)
O1-C2	0.822	0.821	0.795	0.774	0.756	0.745
C2-N3	0.230	0.250	0.212	0.254	0.273	0.263
O9-C10	—	0.762	0.756	—	0.755	0.752
C10-N11	—	0.279	0.276	—	0.286	0.277

* Число пар π -электронов, локализованных на связи.

При расчетах энергий сольватации в приближении поляризуемого континуума [11] диэлектрическая проницаемость сольватирующей среды при 25°C принималась равной 78.3 для воды и 24.3 для этанола, средний радиус молекулы воды – 1.7, этанола – 4.0 Å.

Для расчета использованы программы из пакета MORAS 6.0 (программное обеспечение со статусом "Public Domain Version", адаптировано для персональных компьютеров П. Барком (P. Burk) и И. Коппелем (I. Koppel) (e-mail:ivar@chem.ut.ee), которым авторы приносят благодарность). Расчет проведен в лаборатории теоретической химии Пятигорской фармацевтической академии на ПЭВМ "PISC 486/DX4-100".

В заключение авторы выражают глубокую признательность зав. лабораторией квантовой химии НИИ физической и органической химии Ростовского университета, д-ру хим. наук Р.М. Миняеву за обсуждение результатов работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mohammad S., Hopfinger A.* // Int. J. Quantum Chem. 1982. V. 22. P. 1189–1197.
2. *Bingham R.C., Dewar M.J.S., Lo D.H.* // J. Am. Chem. Soc. 1975. V. 97. P. 1285–1296.
3. *Burstein K., Isaev A.* // Theor. Chim. Acta. 1984. V. 64. P. 397–406.
4. *Dewar M.J.S., Zoebisch E.G., Healy E.F., Stewart J.J.P.* // J. Am. Chem. Soc. 1985. V. 107. P. 3902–3909.
5. *Stewart J.J.P.* // J. Comput. Chem. 1989. V. 10. P. 221–227.
6. *Lord R.C., Porro T.J.* // Z. Electrochem. 1960. V. 64. P. 672–675.
7. *Tsuboi M.* // Nippon Kagaku Zasshi. 1955. V. 76. P. 376–380.
8. *Susi H., Ard J.S.* // Arch. Biochem. Biophys. 1966. V. 117. P. 147–152.
9. *Ottersen T.O.* // Adv. Mol. Relax. Proc. 1976. V. 9. P. 105–107.
10. *Cramer C.J., Truhlar D.* // J. Comput. Chem. 1992. V. 13. P. 1089–1097.
11. *Miertus S., Tomasi J.* // J. Chem. Phys. 1982. V. 65. P. 239–245.
12. *Nozaki Y., Tanford C.* // J. Biol. Chem. 1971. V. 246. P. 2211–2217.
13. *Karle I., Gibson J., Karle J.* // J. Am. Chem. Soc. 1970. V. 92. P. 3755–3763.
14. *Vinogradov S.N.* // Int. J. Pept. Protein Res. 1979. V. 14. P. 281–286.
15. *Susi H.* // J. Phys. Chem. 1965. V. 69. P. 2799–2803.

The Electron and Spatial Parameters of Antiparallel and Parallel Double-Strand β Structures of Proteins and Their Associates

E. T. Oganesyanyan and A. V. Pogrebnyak

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, ul. Kalinina 11, Pyatigorsk, 357533 Russia

Abstract—Calculations of valerolactam and *N*-methylacetamide dimers by the method of molecular orbitals in CNDO/2H, MINDO/3, MINDO/3H, MNDO, MNDO/H, AM1, and PM3 approximations showed that the PM3 was the most suitable method for the description of geometrical and thermodynamic characteristics of hydrogen bonds between their amide groups. The calculation of the H-bonded dimers of *N*-acetylalanine methylamide, which mimicked the β structure of protein macromolecule, showed that the antiparallel conformation of the dimer is by 2.85 kcal/mol more stable than the parallel conformation. According to the data obtained by using the AM1 approximation, the parallel type dimer has the enhanced ability to transmit the electron disturbance along the chain of amide–amide hydrogen bonds. The formation of the complexes of the antiparallel and the parallel types lead to the increase of the H-bonding ability of the outer oxygen atom of an amide group in comparison with the monomer.

Key words: antiparallel and parallel protein β structure, hydrogen bond, quantum mechanics, PM3, AM1.