



УДК 577.112.6.(017+012)

## КОНФОРМАЦИОННЫЕ СОСТОЯНИЯ ЦИКЛИЧЕСКИХ ДИПЕПТИДОВ С ЛАКТАМНОЙ СВЯЗЬЮ МЕЖДУ $\omega$ -ФУНКЦИЯМИ ОСТАТКОВ ЛИЗИНА И АСПАРАГИНОВОЙ ИЛИ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

© 1997 г. П. В. Костецкий, С. Ф. Архипова, И. В. Артемьев,  
И. Л. Родионов, Л. Н. Родионова, В. Т. Иванов<sup>#</sup>

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 19.08.96 г. Принята к печати 07.02.97 г.

Методом атом-атомных потенциалов с гибкой геометрией выполнен теоретический конформационный анализ двух циклических дипептидов, состоящих из остатков Lys и Asp или Glu: H-Lys-Asp-OH, H-Glu-Lys-OH. Для теоретических конформеров обеих молекул рассчитаны значения констант спин-спинового взаимодействия (КССВ) вицинальных протонов. Измерены спектры КД и <sup>1</sup>H-ЯМР соединений. Сравнение расчетных и экспериментальных значений КССВ показало, что в случае дипептида с остатком Asp в водном растворе присутствует один конформер с хорошим совпадением теоретических и экспериментальных значений КССВ, а для дипептида с остатком Glu возможно присутствие минорных конформеров, увеличивающих расхождение теоретических и экспериментальных данных.

**Ключевые слова:** циклический дипептид, лактамная связь в пептидах, конформационный анализ, спектроскопия <sup>1</sup>H-ЯМР.

На протяжении последних 5–7 лет отмечается быстрый рост числа публикаций, посвященных синтезу новых биомиметиков, и в особенности так называемых пептидомиметиков [1–4]. В широком смысле эти термины обозначают синтетические или экзогенные соединения, воспроизводящие поведение их эндогенных природных прототипов. Существенно, что подобная структурно-функциональная “молекулярная” мимикрия возможна для совершенно различных по своей химической природе пар соединений, что позволяет при поиске пептидомиметика определяющим и необходимым его свойством считать устойчивость *in vivo* [2].

Для направленного введения структурных изменений в синтезируемые пептидомиметики необходимы наборы блоков как инструментов тонкой модификации пептидных структур. Известен ряд примеров успешного использования в синтезе пептидомиметиков конформационно-жестких молекулярных строительных блоков [1–7]. Очевидно, что успех получения новых биологически активных молекул в значительной степени зависит от правильного подбора конформационных параметров используемых строительных блоков.

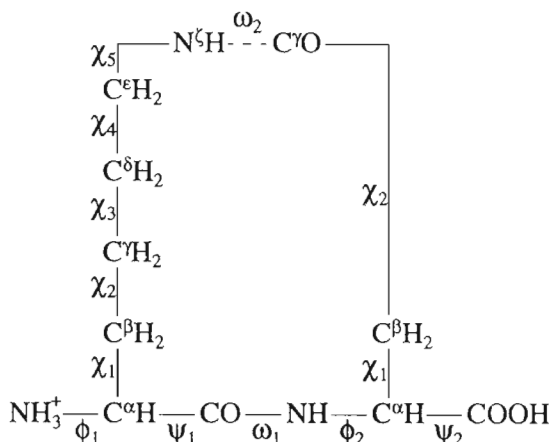
М. Гудман с сотрудниками [7] предложили в качестве конформационно-жестких пептидных блоков циклические дипептиды из остатков *L/D*-Lys и *L/D*-Glu с амидной связью, образованной боковыми цепями указанных аминокислот. Из этих блоков авторами [7] были получены четыре тетрапептида Ac-Lys-Glu-Lys-Glu-NHMe и Ac-Glu-Lys-Glu-Lys-NHMe (LLL и LLDD) и с помощью физико-химических и теоретических методов изучена стереохимия основной цепи этих молекул.

Недавно нами (П.В.К. и И.В.А.) на примере циклического пептида Ac-Lys-Asp-NHMe были рассмотрены пространственные возможности остатка Lys в качестве аминокислотной замены для ограничения конформационной свободы пептидного фрагмента Хаа-Asp с помощью лактамизации  $\omega$ -функций остатков Lys и Asp [8]. Методом теоретического конформационного анализа с гибкой геометрией мы показали, что образующийся жесткий участок может фиксировать ряд конформаций дипептидов, восемь из которых соответствуют низкоэнергетическим конформациям линейного дипептида Ac-Ala-Asp-NHMe, моделирующего пептидный фрагмент Хаа-Asp. При

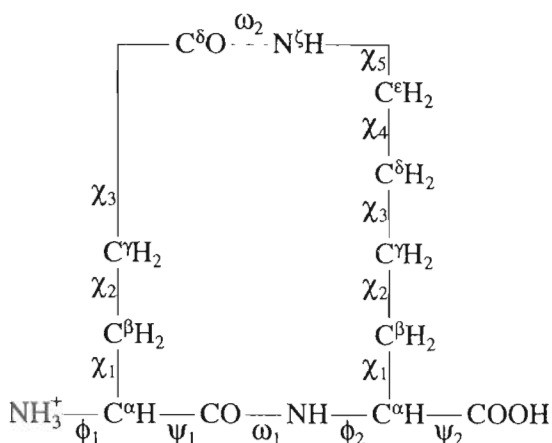
<sup>#</sup> Автор для переписки (e-mail: ivavt@ibch.siohc.ras.ru).

этом пространственные возможности остатка Хаа значительно ограничены.

В настоящей работе спектральными и расчетными методами исследована пространственная структура двух родственных дипептидов из остатков Lys и Asp или Glu: H-Lys-Asp-OH (I) и H-Glu-Lys-OH (II), содержащих 11 и 12 тяжелых атомов в циклической части молекул соответственно:



(I)



(II)

С помощью компьютерного моделирования в приближении силового поля AMBER с использованием программы теоретического конформационного анализа MOBY [9, 10] сконструировано 87 и 108 теоретических конформеров моноциклических дипептидов (I) и (II) соответственно. При этом любые два конформера различались по двум или более торсионным углам циклической части молекулы на величину не менее 60°. Для каждого дипептида в интервал потенциальной энергии 0–15 ккал/моль попали конформеры со всеми возможными конфигурациями амидных связей, однако с заметным преобладанием конформеров с *транс-транс*-конфигурацией, при-

чем для обоих дипептидов наименьшей потенциальной энергией обладали именно конформеры с *транс-транс*-конфигурацией амидных связей. Геометрические параметры предпочтительных конформеров каждого типа (*tt* – *транс-транс*, *tc* – *транс-цис*, *ct* – *цис-транс*, *cc* – *цис-цис*) приведены в табл. 1 и 2.

Из геометрии теоретических конформеров циклических дипептидов (I) и (II) по известным зависимостям от величины двугранных углов [12, 13] вычислены значения КССВ тех семи протонов, для которых нами были получены экспериментальные <sup>1</sup>H-ЯМР-данные (табл. 3 и 4). Эти константы определяют четыре двугранных угла циклической части молекул (I) и (II). Три угла относятся к боковым цепям аминокислотных остатков:  $\chi_1$ (Lys) и  $\chi_1$ (Asp или Glu) – торсионные углы фрагментов C<sup>α</sup>H–C<sup>β</sup>H<sub>2</sub> остатков Lys и Asp (или Glu),  $\chi_5$  – торсионный угол фрагмента C<sup>ε</sup>H<sub>2</sub>–N<sup>ζ</sup>H остатка Lys. Еще один угол ( $\phi$ ) характеризует фрагмент NH–C<sup>α</sup>H остатка Asp в циклическом дипептиде (I) и остатка Lys в циклическом дипептиде (II). Расчет значений КССВ для углов  $\phi$  и  $\chi_5$  выполняли по зависимостям, предложенным в работе [12], а для углов  $\chi_1$  – по зависимостям из работы [13].

Ошибка вычислений расчетных величин КССВ обычно составляет не менее 0.5–0.7 Гц [11, 12], дополнительную неопределенность вносит также ограниченная точность измерений экспериментальных КССВ [14]. Поэтому мы считали вполне допустимым расхождение в 1 Гц между экспериментальными и расчетными значениями КССВ.

Следует отметить, что удовлетворительное совпадение наборов расчетных и экспериментальных значений КССВ возможно только при наличии в растворе доминирующего конформера. В пользу присутствия такого конформера свидетельствует устойчивость спектров КД соединений (I) и (II) при заметном изменении полярности среды – переходе от воды к смеси диоксан–вода (1 : 1). Как видно из рис. 1, при указанной смене растворителя не меняются положения и знаки эффектов Коттона, отвечающих как *n*– $\pi^*$ -переходам (215–220 нм), так и ближним  $\pi$ – $\pi^*$ -переходам (~200 нм) амидных хромофоров. Особенно четко проявляется конформационная устойчивость у пептида (I), где практически не меняется и интенсивность эффектов Коттона.

В табл. 4 сопоставлены экспериментальные и расчетные КССВ тех конформеров, для которых они согласуются наилучшим образом. Значения КССВ вицинальных протонов, зависящие от величины двугрannного угла  $\chi_1$ (Asp) и  $\chi_5$ (Lys) циклического дипептида (I), свидетельствуют об отсутствии свободного вращения вокруг соответствующего

Таблица 1. Характеристики наиболее выгодных по энергии расчетных конформеров дипептида Н-Lys-Asp-ОН с различными конфигурациями амидных групп\*

Конформер	$\Delta E$ , ккал/моль	Двугранные углы, град												
		Lys								Asp				
		$\phi_1$	$\psi_1$	$\omega_1$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\chi_5$	$\phi_2$	$\psi_2$	$\omega_2$	$\chi_1$	$\chi_2$
<i>tt1</i>	0.0	-178	160	167	54	152	-58	-39	146	67	107	-165	-49	110
<i>tt2</i>	0.0	-179	155	167	52	147	-94	60	-132	45	101	-178	51	-101
<i>tt3</i>	0.1	-178	-59	-170	-169	-157	59	41	-143	-155	125	164	38	-107
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>tt9</i>	2.2	-177	168	171	30	64	58	-94	147	74	116	-173	-40	92
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>tt45</i>	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>tc1</i>	1.1	-178	165	176	61	129	-68	-60	149	50	102	0	55	-97
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>tc18</i>	7.4	60	153	170	56	126	-71	93	-148	53	-124	7	-47	107
<i>tc19</i>	8.0	-176	-52	-173	46	132	-82	79	-145	-144	-13	5	-43	92
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>tc25</i>	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>ct1</i>	3.0	60	90	-3	-177	69	-125	64	76	-138	137	-178	-70	85
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>ct13</i>	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>cc1</i>	10.1	-59	112	-4	179	72	-148	36	71	-158	157	-5	34	-130
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>cc4</i>	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...

\* Отсчет углов  $\chi_2$  и  $\chi_5$ ,  $\omega_2$  остатков Asp и Lys, относящихся к неканонической амидной связи, ведется по атомам циклической части молекулы в соответствии с правилами IUPAC [11].

ющих двух связей циклической части молекулы (I). Действительно, значения КССВ 11.7 и 1.4 Гц (табл. 3) близки теоретическим экстремальным значениям КССВ - 12.4 и 1.6 Гц соответственно [13]. Из всех теоретических конформеров только у трех - *tt9*, *tc18* и *tc19* (табл. 1) - расчетные и теоретические значения КССВ углов  $\chi_1$ (Asp) и  $\chi_5$ (Lys) одновременно отличаются от экспериментальных значений менее чем на 1 Гц. Однако в конформерах *tc18* и *tc19* одна из семи экспериментальных КССВ отличается от расчетного значения более чем на 2 Гц, что делает маловероятным присутствие этих конформеров в растворе. И только один *транс-транс*-конформер *tt9* (табл. 1) достаточно хорошо отвечает всем семи экспериментальным значениям КССВ: величины соответствующих расхождений лежат в пределах погрешности расчета КССВ - 0.6 Гц [14].

Учитывая совокупность изложенных данных, мы считаем, что в растворах пептида (I) доминирует конформер *tt9*, пространственная структура которого представлена на рис. 2. Отклонение амидных связей от планарности для *tt9* не превышает 10°. Особенностью предсказанного конформера является наличие внутримолекулярных водородных связей между атомом кислорода остатка Lys, атомом водорода  $\epsilon$ -аминогруппы остатка Lys и атомом водорода  $\alpha$ -карбоксовой группы остатка Asp.

Из экспериментальных значений КССВ (табл. 3 и 4) видно, что вращение по торсионным углам  $\chi_1$ (Lys) и  $\chi_5$ (Lys) циклического пептида (II) также заметно затруднено, поскольку величины  $^3J_{\alpha\beta}$  и  $^3J_{\text{HNC}^{\epsilon}\text{H}}$  (11.0 и 2.2 Гц соответственно) сильно отличаются от усредненных значений. Это

**Таблица 2.** Характеристики наиболее выгодных по энергии расчетных конформеров дипептида H-Glu-Lys-OH с различными конфигурациями амидных групп\*

Конформер	$\Delta E$ , ккал/моль	Двугранные углы, град													
		Glu						Lys							
		$\Phi_1$	$\Psi_1$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\omega_1$	$\Phi_2$	$\Psi_2$	$\chi_1$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	$\chi_5$	$\omega_2$
<i>tt1</i>	0.0	-73	176	39	54	86	175	64	101	-65	160	-67	-51	139	-172
<i>tt2</i>	1.3	-173	-51	24	62	92	-172	-95	-104	-69	152	-67	-53	119	-178
	4.1**	-178	-58	12	68	84	-167	-79	-101	-77	148	-62	-53	132	-178
<i>tt3</i>	3.0	-51	-62	-164	-73	-75	178	-93	-30	-46	-60	163	-62	-70	174
<i>tt4</i>	3.7	-55	-41	32	55	80	179	-169	12	35	73	-84	-48	134	-171
...	...														
<i>tt58</i>	...														
<i>tc1</i>	5.4	-73	178	44	46	83	173	61	99	-80	63	81	-56	-102	5
...	...														
<i>tc32</i>	...														
<i>ct1</i>	5.4	20	134	-76	-60	-72	-4	-162	-22	-164	168	-90	64	-114	178
...	...														
<i>ct12</i>	...														
<i>cc1</i>	10.3	35	111	-169	-75	143	0	-157	143	58	-166	61	48	-123	-3
...	...														
<i>cc6</i>	...														

\* Отсчет углов  $\chi_3$  и  $\chi_5$ ,  $\omega_2$  остатков Glu и Lys, относящихся к неканонической амидной связи, ведется по атомам циклической части молекулы в соответствии с правилами IUPAC [11].

\*\* В строке приведены значения углов для конформера, в котором торсионные углы циклической части молекулы изменены в пределах  $\pm 15^\circ$  для улучшения совпадения экспериментальных и теоретических значений КССВ.

**Таблица 3.** Химические сдвиги (м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия ( $J$ , Гц) протонов в спектрах  $^1\text{H}$ -ЯМР циклодипептидов H-Lys-Asp-OH (I) и H-Glu-Lys-OH (II)

Пептид	Остаток	$\delta_{\text{HC}^\alpha}$	$\delta_{\text{HNC}^\alpha} (^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}})$	$\delta_{\text{HC}^\beta\text{H}} (^3J_{\alpha\beta})$	$\delta_{\text{HNC}^\epsilon} (^3J_{\text{HNC}^\epsilon\text{H}})$	$\delta_{\text{HC}^\gamma\text{H}}$	$\delta_{\text{HC}^\delta\text{H}}$	$\delta_{\text{HC}^\zeta\text{H}}$
I	Lys	4.01	—	1.88, 1.88 (2.2, 7.3)	7.92 (1.4, 8.1)	1.37, 1.53	1.67, 1.67	2.94, 3.62
	Asp	4.24	8.86 (6.6)	2.77, 3.01 (5.9, 11.7)	—	— —	— —	— —
II	Glu	4.04	—	2.30, 2.44 (3.7, 8.8)	—	2.44, 2.55	— —	— —
	Lys	3.90	8.94 (6.6)	1.73, 1.92 (3.0, 11.0)	7.84 (2.2, 8.1)	1.41, 1.53	1.62, 1.73	3.12, 3.49

**Таблица 4.** Экспериментальные (А) и расчетные (Б) величины КССВ для протонов  $\text{HN-C}^\alpha\text{H}$  ( $^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$ ),  $\text{HC}^\alpha\text{-C}^\beta\text{H}$  ( $^3J_{\alpha\beta}$ ) и  $\text{HC}^\epsilon\text{-N}^\zeta\text{H}$  ( $^3J_{\text{HNC}^\epsilon\text{H}}$ ) конформера *tt9* дипептида  $\text{H-Lys-Asp-OH}$  (I) и конформера *tt2* дипептида  $\text{H-Glu-Lys-OH}$  (II)

Пептид	Двугранный угол	Тип КССВ	КССВ, Гц*		ΔJ **	СКО*** для КССВ
			А	Б		
I	χ <sub>1</sub> (Lys)	$^3J_{\alpha\beta}$	2.2	1.6	0.6	0.4
			7.3	7.4	0.1	
	χ <sub>5</sub> (Lys)	$^3J_{\text{HNC}^\epsilon\text{H}}$	1.4	1.8	0.4	
			8.1	8.2	0.1	
	χ <sub>1</sub> (Asp)	$^3J_{\alpha\beta}$	5.9	6.0	0.1	
φ(Asp)	$^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$	11.7	11.2	0.5		
		6.6	6.6	0.0		
II	χ <sub>1</sub> (Glu)	$^3J_{\alpha\beta}$	3.7	1.9 (3.1)	1.8 (0.6)	1.3
			8.8	8.2 (9.3)	0.6 (0.5)	
	φ(Lys)	$^3J_{\text{HNC}^\alpha\text{H}}$	6.6	8.4 (6.6)	1.8 (0.0)	
			11.0	12.1 (11.5)	1.1 (0.5)	
	χ <sub>1</sub> (Lys)	$^3J_{\alpha\beta}$	3.0	2.3 (1.8)	0.7 (1.2)	
			8.1	9.7 (8.3)	1.6 (0.2)	
	χ <sub>5</sub> (Lys)	$^3J_{\text{HNC}^\epsilon\text{H}}$	8.1	9.7 (8.3)	1.6 (0.2)	
			2.2	2.9 (1.8)	0.7 (0.4)	

\* В скобках приведены значения для конформера, в котором торсионные углы циклической части молекулы изменены в пределах ±15° для улучшения совпадения экспериментальных и расчетных значений КССВ (см. текст).

\*\* |ΔJ| = | $^3J_{\text{расч}}$  -  $^3J_{\text{эсп}}$ |.

\*\*\* СКО – среднеквадратичное отклонение.

обстоятельство свидетельствует в пользу существования в растворе доминирующей конформации.

Однако если для дипептида (I) отклонения экспериментальных и теоретических значений КССВ не превосходят 0.6 Гц, то в случае дипептида (II) для наилучшего расчетного *tt2*-конформера эти отклонения достигают 1.8 Гц, а значение СКО равно 1.3 Гц (табл. 4). Совпадение КССВ несколько улучшается, если торсионные углы циклической части молекулы дипептида (II) изменить в пределах ±15°, хотя это и ведет к некоторому повышению потенциальной энергии. При такой процедуре максимальное различие теоретических и экспериментальных значений КССВ

уменьшается до 1.2 Гц, а СКО – до значения 0.6 Гц. Полученная “улучшенная” конформация представлена на рис. 3.

Как видно из табл. 4, и для “улучшенного” конформера *tt2* пептида (II) наблюдается несколько большее расхождение экспериментальных и расчетных значений КССВ, чем для конформера *tt9* пептида (I), что может указывать на присутствие в растворе наряду с доминирующим и минорных конформеров пептида (II). Об этом же говорит и большая чувствительность спектров КД пептида (II) по сравнению с пептидом (I) к смене растворителя (рис. 1). Присутствие минорных конформеров молекулы (II) можно объяснить меньшей жесткостью 12-членного кольца циклической части его молекулы по сравнению с 11-членным кольцом молекулы (I).

\*Торсионные углы изменяли с соблюдением условия циклической структуры молекулы дипептида (II).

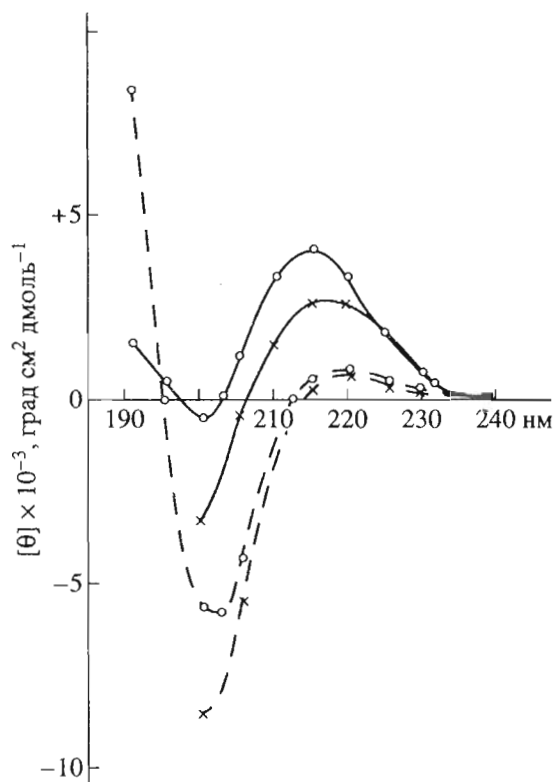


Рис. 1. Спектры КД пептидов (I) (штриховые линии) и (II) (сплошные линии) в воде (O) и в смеси вода-диоксан, 1 : 1 (X).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Серии конформеров моноциклических дипептидов (I) и (II) конструировали с помощью программы теоретического конформационного анализа МОБУ, использующей силовое поле AMBER [9, 10]. Программа позволяет находить минимум потенциальной энергии валентных и невалентных взаимодействий молекул, содержащих до 150 атомов. Энергия валентных взаимодействий включает в себя составляющие для отклонений длин связей и для отклонений валентных и торсионных углов от стандартных или наиболее выгодных значений. Энергия невалентных взаимодействий включает в себя составляющие для ван-дер-ваальсовых, электростатических взаимодействий ( $\epsilon = 10$ ) и для водородных связей.

Для расчетов использовали персональный компьютер IBM-486. Время поиска локального минимума потенциальной энергии одного конформера составляет 3–4 мин. В качестве начального приближения брали произвольные значения торсионных углов. Длина валентной связи CO–N<sup>ε</sup>H и валентные углы циклической части молекулы могли при этом быть далекими от стандартных значений. В процессе минимизации энергии происходило автоматическое устранение стерео-

химических дефектов в месте циклизации молекулы.

Внециклические amino- и карбоксильные группы при теоретических расчетах считались протонированными, так как съемки спектров <sup>1</sup>H-ЯМР производили в водной среде при pH 3.0. Каждая из моделируемых молекул имела суммарный положительный заряд +1.

Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР пептидов (I) и (II)\* были сняты на спектрометре WM-500 (Bruker, Германия) в режиме квадратурного детектирования спада сигнала свободной индукции. Несущая частота радиочастотных импульсов совпадала с частотой сигнала HDO, интервал детектируемых частот составлял  $\pm 3000$  Гц от несущей частоты радиочастотного импульса. Время регистрации спада сигнала свободной индукции  $AQ = 1.36$  с. В качестве растворителя использовалась смесь обычной и тяжелой воды (H<sub>2</sub>O–<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O, 9 : 1), pH растворов 2.92 и 2.99, температура 303 К, концентрация пептидов 20 мМ.

Отнесение сигналов выполняли в соответствии с литературными данными и с нашими результатами по аналогичным соединениям [15, 16].

Так как от торсионных углов  $\chi_1(\text{Lys})$ ,  $\chi_1(\text{Asp}$  или  $\text{Glu})$  и  $\chi_5(\text{Lys})$  фрагментов  $-\text{C}^\alpha\text{H}-\text{C}^\beta\text{H}_2-$  и  $-\text{C}^\epsilon\text{H}_2-\text{N}^\zeta\text{H}-$  зависят значения двух КССВ  $^3J_{\alpha\beta}$  и двух  $^3J_{\text{HNC}^\epsilon\text{H}}$  (табл. 3), проводили стереохимическое отнесение сигналов метиленовых протонов. Такое отнесение обеспечило наилучшее согласование экспериментальных значений КССВ и пространственной структуры метиленсодержащих фрагментов молекул (I) и (II). Выбирали способ отнесения протонов, при котором штрафная функция

$$F = \sum_{m=1}^3 \min \{ ({}^3J_1^{\text{эксп}}(m) - {}^3J_1^{\text{расч}}(\theta_m))^2 + ({}^3J_2^{\text{эксп}}(m) - {}^3J_2^{\text{расч}}(\theta_m))^2, ({}^3J_1^{\text{эксп}}(m) - {}^3J_2^{\text{расч}}(\theta_m))^2 + ({}^3J_2^{\text{эксп}}(m) - {}^3J_1^{\text{расч}}(\theta_m))^2 \}$$

минимальна. В приведенном выражении  $\theta_m$  (двугранный угол фрагментов  $-\text{HC}^\alpha-\text{C}^\beta\text{H}-$  и  $-\text{HC}^\epsilon-\text{NH}-$ ) связан с торсионными углами  $\chi_1(\text{Lys}, m = 1)$ ,  $\chi_1(\text{Asp}$  или  $\text{Glu}, m = 2)$  и  $\chi_5(\text{Lys}, m = 3)$  в соответствии с номенклатурой IUPAC [11]. Значения  $^3J_1^{\text{эксп}}$ ,  $^3J_2^{\text{эксп}}$  и  $^3J_1^{\text{расч}}$ ,  $^3J_2^{\text{расч}}$  приведены в табл. 4. В качестве меры сравнения теоретических и экспериментальных значений КССВ рассчитывали среднеквадратичное отклонение.

\* Синтез дипептидов (I) и (II) осуществлен И.Л. Родионовым с сотрудниками и будет описан в отдельной публикации.

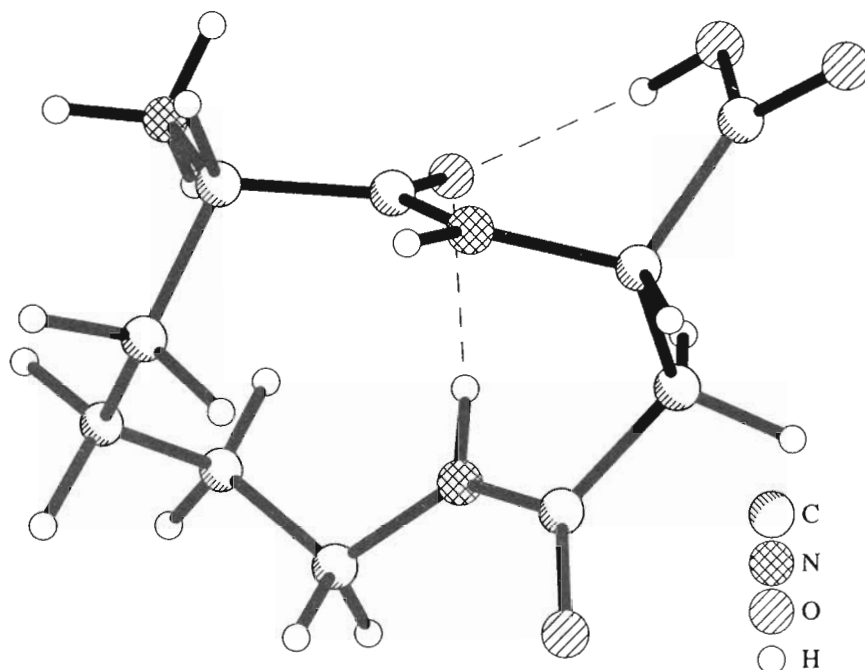


Рис. 2. Расчетная низкоэнергетическая конформация H-Lys-Asp-OH (I), наилучшим образом согласующаяся с данными <sup>1</sup>H-ЯМР.

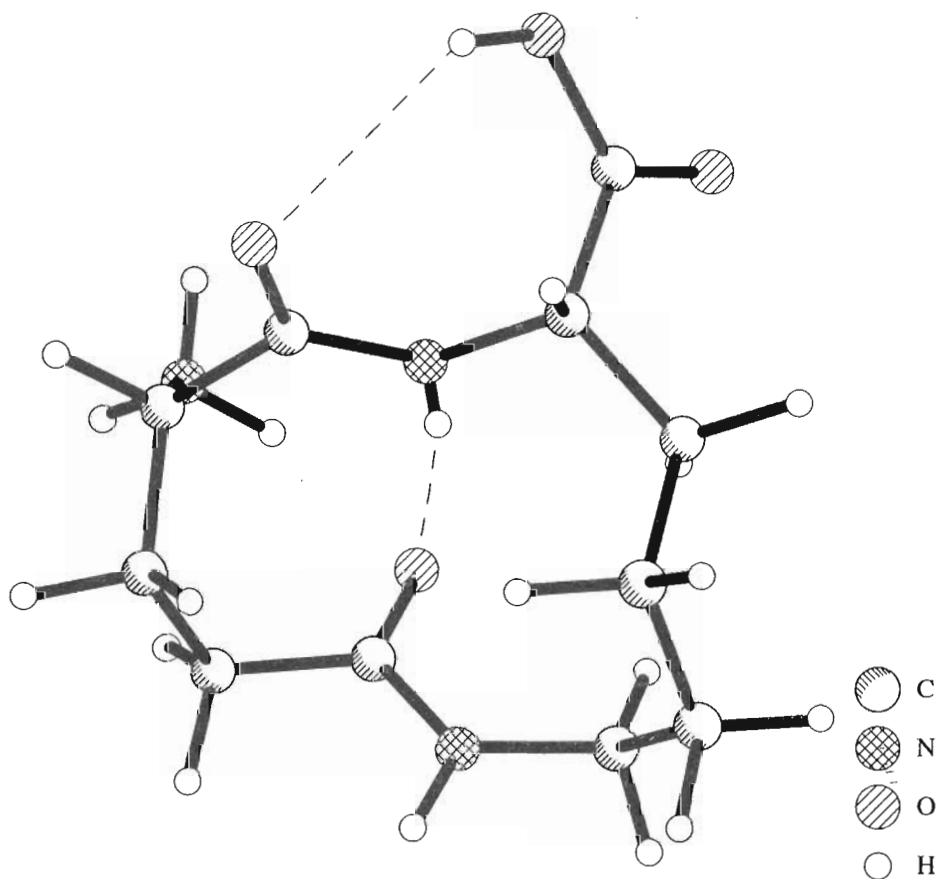


Рис. 3. Расчетная низкоэнергетическая конформация H-Glu-Lys-OH (II), доминирующая в растворе согласно данным <sup>1</sup>H-ЯМР.

Спектры КД получены на спектрополяриметре J-500С фирмы Jasco (Япония) при комнатной температуре и концентрации 4 мМ. Спектры КД приведены в величинах молярной эллиптичности  $[\theta]$ , рассчитанных на среднюю молекулярную массу одного аминокислотного остатка.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ИБХ РАН Т.А. Балашовой за съемку спектров  $^1\text{H}$ -ЯМР, И.А. Куделиной за съемку спектров КД, Д.В. Дементьевой и А.С. Арсеньеву за участие в обсуждении результатов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Smith A.B., Guzman M.C., Sprengeler P.A., Keenan T.P., Holcomb R.C., Wood J.L., Carroll P.J., Hirshmann R. // *J. Am. Chem. Soc.* 1994. V. 116. P. 9947–9962.
2. Gante J. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994. V. 33. P. 1699–1720.
3. Giannis A., Kolter T. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1993. V. 32. P. 1244–1267.
4. Toniolo C. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1990. V. 35. P. 287–300.
5. Schneider J.P., Kelly J.F. // *Chem. Rev.* 1995. V. 95. P. 2169–2189.
6. Tuchscherer G., Mutter M. // *J. Pept. Sci.* 1995. V. 1. P. 3–10.
7. Rone R., Manesis N., Hassan M., Goodman M. // *Tetrahedron*. 1988. V. 44. P. 895–924.
8. Костецкий П.В., Артемьев И.В. // *Биоорганическая химия*. 1997. Т. 23. С. 168–173.
9. Weiner S.J., Kollman P.A., Nguyen D.T., Case D.A. // *J. Comput. Chem.* 1986. V. 7. P. 230–252.
10. Howeler U. Moby. *Molecular Modelling on the PC*. Berlin; Heidelberg; New York; Tokio: Springer Verlag, 1991.
11. Kendrew J.C., Klyne W., Lifson S., Miyazawa T., Nemethy G., Phillips D.C., Ramachandran G.N., Scheraga H.A. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1971. V. 145. P. 405–421.
12. Pardi A., Billeter M., Wuthrich K. // *J. Mol. Biol.* 1984. V. 180. P. 741–751.
13. Dzakuła Z., Edison A.S., Westler W.M., Markley J.L. // *J. Am. Chem. Soc.* 1992. V. 114. P. 6200–6207.
14. Арсеньев А.С., Ломизе А.Л., Барсуков И.Л., Быстров В.Ф. // *Биол. мембраны*. 1986. Т. 3. С. 1077–1104.
15. Bundi A., Wuthrich K. // *Biopolymers*. 1979. V. 18. P. 285–297.
16. Titov V.M., Meshcheryakova E.A., Balashova T.A., Andronova T.M., Ivanov V.T. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1995. V. 45. P. 348–355.

## Conformational States of Cyclic Dipeptides with a Lactam Bond between $\omega$ -Functions of Lysine and Aspartic or Glutamic Acid Residues

P. V. Kostetsky, S. F. Arkhipova, I. V. Artem'ev,  
I. L. Rodionov, L. N. Rodionova, and V. T. Ivanov

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

**Abstract**—The conformations of H-Lys-Asp-OH and H-Glu-Lys-OH cyclic dipeptides were subjected to theoretical analysis by the method of atom–atom potentials with flexible geometry. Constants of spin–spin coupling of vicinal protons were calculated for the theoretical conformers of both dipeptides. CD and NMR spectra were measured for both peptides synthesized, and the calculated and experimental values of spin–spin coupling constants were compared. These coincided well for the dipeptide containing Asp residue, and we concluded that it exists in solution as one conformer. For the Glu-containing dipeptide, the existence of minor conformers, which increase the difference between experimental and theoretical spin–spin coupling constants, was shown to be possible.

**Key words:** cyclic dipeptide, peptide lactam bond, conformational analysis,  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy