



УДК 539.199

О КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИИ ВАЛИНОМИЦИНА
В МАЛОПОЛЯРНОЙ ФАЗЕ*Хуторский В. Е.**Институт теоретической физики Академии наук УССР, Киев**Иванов В. Т.**Институт биорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР, Москва*

Методами теоретического конформационного анализа проведено исследование пространственной структуры катионного комплекса валиномицина с учетом различных расположений ионов относительно конформационно подвижной молекулы. Показано, что реакция валиномицина с K^+ сопровождается образованием промежуточного комплекса. При этом происходит конформационная перестройка молекулы, заключающаяся в изменении ориентации лигандных групп относительно центра внутримолекулярной полости.

Известно, что структура свободного валиномицина в неполярных средах близка к браслетной структуре K^+ -комплекса валиномицина в растворе [1, 2] и кристаллическом состоянии [3, 4] и характеризуется наличием оси симметрии третьего порядка. В браслетной конформации дипольные моменты лигандных групп направлены отрицательно заряженными концами к оси симметрии третьего порядка. Образование браслетной конформации у свободных депептидов валиномицинового ряда возможно и в кристаллическом состоянии [5].

Методами теоретического конформационного анализа нами проведено исследование пространственной структуры катионного комплекса валиномицина с учетом различных расположений ионов относительно конформационно подвижной молекулы (молекула валиномицина оставалась в пределах браслетной конформации).

Структура валиномицина рассматривалась в рамках группы симметрии C_3 при постоянных длинах связей и валентных углах. В этом случае пространственную структуру его катионного комплекса можно задать с помощью 16 переменных. 13 из них определяют конформацию молекулы [6], а 3 — положение катиона. Конформационные параметры, задающие структуру валиномицина, следующие: τ — угол поворота лигандных групп D -остатков относительно L -остатков вокруг оси симметрии; d — расстояние между плоскостями, проходящими через карбонильные кислороды лигандных групп; $D^{D,L}$ — расстояние от оси симметрии до этих кислородов; $\theta^{D,L} = (\theta_x^{D,L}, \theta_y^{D,L}, \theta_z^{D,L})$ — углы, задающие ориентацию лигандной группы (рис. 1); $\chi_A^{D,L}, \chi_O^D$ — углы, задающие ориентацию изопропильных групп амино- и оксикислотных остатков. Пространственное положение

иона удобно задавать в цилиндрической системе координат с помощью переменных D_I , d_I , τ_I (рис. 1).

Энергия внутримолекулярных взаимодействий в валиномицине в рамках метода атом-атомных потенциалов равнялась сумме ван-дер-ваальсовой, электростатической, торсионной энергий и энергии водородных связей [7]. Взаимодействие катиона с валиномицином рассчитывали с учетом электростатической и поляризационной энергии, а также энергии близкого действия отталкивания между ионом и лигандными кислородами. Это обосновано неэмпирическими квантовомеханическими расчетами, показывающими, что взаимодействие между ионом и карбонильной группой на расстояниях, больших равновесного, хорошо описывается суммой вкладов классических электростатического и поляризационного потенциалов [8]. Параметры потенциала подбирали, ориентируясь на данные квантовомеханических расчетов взаимодействия катионов с молекулами, содержащими карбонильную группу [8, 9].

На начальном этапе расчета проводили минимизацию конформационной энергии в пространстве 15 конформационных параметров при различных фиксированных значениях параметра d_I (катион обладал степенями свободы в плоскости, перпендикулярной оси симметрии третьего порядка). Для валиномицина в качестве начальной принимали оптимальную браслетную конформацию свободной молекулы [6]. Начальные значения параметров D_I и τ_I , определяющие положение катиона в плоскости, перпендикулярной оси симметрии, варьировались (см. рис. 1). Начальные положения ионов задавали как в пределах внутримолекулярной полости, так и вне ее. В результате минимизации энергии выяснилось, что оптимальные положения ионов K^+ и Na^+ в плоскостях, перпендикулярных оси симметрии, находятся в точках пересечения плоскостей с осью. Следовательно, координатой реакции комплексообразования для ионов K^+ и Na^+ является ось симметрии третьего порядка. Что касается иона Li^+ , то при минимизации энергии он отклоняется от оси симметрии. Минимизация энергии в полном пространстве 16 переменных для Li^+ -комплекса показала, что при оптимальном расположении относительно валиномицина ион Li^+ отклоняется от оси симметрии примерно на 0,5 Å и «прилипает» к карбонильным кислородам двух лигандных групп, находясь приблизительно в плоскости, проходящей через лигандные кислороды.

Из анализа результатов минимизации в 15-мерном конформационном пространстве (при различных фиксированных значениях параметра d_I) стало ясно, что для K^+ на оси C_3 имеются три устойчивых положения (два из них являются изоэнергетичными и расположены симметрично относительно центра молекулы, поэтому в дальнейшем мы будем говорить только о двух минимумах), конформационные параметры которых затем уточнялись минимизацией энергии в полном 16-мерном конформационном пространстве K^+ -комплекса. Одно из них, соответствующее глобальному минимуму энергии, находится в центре внутримолекулярной полости, другое — за пределами полости приблизительно на 1 Å выше (или ниже) плоскости, проходящей через лигандные кислороды. Конформация валиномицина в этих двух состояниях различна. В состоянии, соответствующем глобальному минимуму энергии (положение K^+ в центре полости), лигандные группы ориентированы к центру полости. Конформация молекулы практически не выходит за рамки группы симметрии S_6 . В состоянии, соответствующем локальному минимуму энергии, лигандные группы ориентированы от центра полости, молекула менее сжата в аксиальном направлении и также весьма близка к группе симметрии S_6 .

Наличие локального минимума энергии объясняется тем, что на границе внутримолекулярной полости ион K^+ находился бы в стерически недопустимых контактах с тремя лигандными кислородами (соответствующее расстояние от кислорода до катиона ~2,2 Å, а равновесное расстояние $K^+ \dots O$, следующее из неэмпирических квантовомеханических

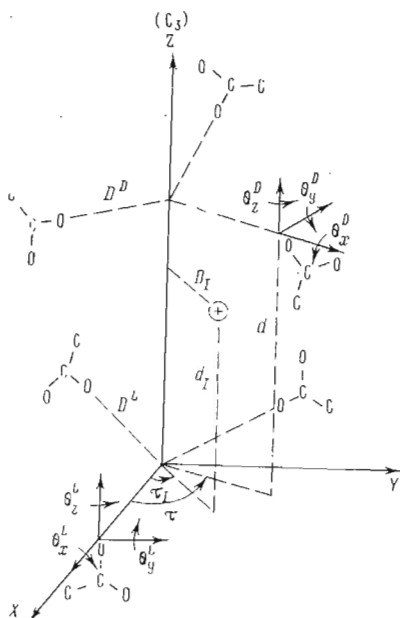


Рис. 1

Рис. 1. Обозначения конформационных параметров катионного комплекса валиномицина

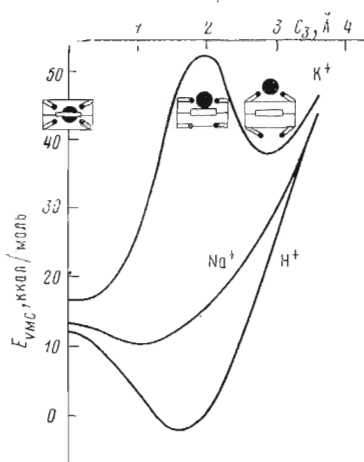


Рис. 2

Рис. 2. Энергетический профиль комплексообразования вдоль оси симметрии третьего порядка (начало отсчета в центре валиномицина)

расчетов, $\sim 2,5 \text{ \AA}$ [9]). По мере выхода из пределов внутримолекулярной полости стерическое отталкивание ослабевает, энергия взаимодействия лигандных групп с K^+ падает, но затем вновь начинает расти, так как ослабевают ион-дипольные взаимодействия между K^+ и лигандными группами. Отсюда следует, что реакция комплексообразования валиномицина с K^+ сопровождается образованием менее устойчивого промежуточного комплекса. Различие между энергиями двух состояний K^+ -комплекса весьма существенно — около 20 ккал/моль. Однако можно предположить, что учет влияния растворителя приведет к менее ощутимой разнице, поскольку в промежуточном состоянии K^+ , находящийся вне пределов внутримолекулярной полости, может вступить в эффективное взаимодействие с молекулами растворителя.

Конечный этап расчета, состоящий в моделировании процесса комплексообразования, строился следующим образом. Катyon перемещался вдоль оси симметрии третьего порядка; при этом проводилась оптимизация по энергии геометрии молекулы валиномицина в пространстве 13 переменных, определяющих его структуру.

Процесс комплексообразования, заключающийся в движении K^+ из удаленного положения на оси симметрии третьего порядка в центр внутримолекулярной полости, сопровождается конформационной перестройкой молекулы (табл. 1). Когда K^+ удален от молекулы, что соответствует свободному валиномицину, диполи лигандных групп ориентированы отрицательно заряженными концами от центра внутримолекулярной полости. Эта ориентация сохраняется вплоть до вхождения K^+ в пределы внутримолекулярной полости. При движении K^+ в пределах полости к ее центру дипольные моменты постепенно меняют свою ориентацию, и при достижении катионом центральной точки молекула переходит в более сжатую в аксиальном направлении конформацию (на $\sim 0,5 \text{ \AA}$ относительно свободной), в которой дипольные моменты ориентированы уже к центру полости.

Геометрические параметры валиномицина для некоторых положений иона K^+ на оси C_3
 Расстояния в Å, углы в град., энергии в ккал/моль

d_{C_3}	d	DD	DL	τ	θ_x^D	θ_x^L	θ_y^D	θ_y^L	θ_z^D	θ_z^L	E_{VMC}	E_C	E_{VM}
3,6	3,7	2,2	2,1	59	3	2	4	-2	12	11	46	-36	82
2,8	3,6	2,2	2,1	59	3	2	2	-1	12	11	38	-45	83
2	3,5	2,2	2,1	60	2	2	0	0	13	12	52	-33	85
1	3,3	2,1	2,1	60	2	2	-2	2	14	14	27	-62	89
0	3,3	2,1	2,1	60	2	2	-3	3	15	15	17	-75	92

Примечание. Боковые цепи остатков Val и Hui находятся в *транс*- и *госи*-ориентациях соответственно. $d_{C_3} = d_I - \frac{d}{2}$ — расстояние от центра молекулы до катиона, E_{VMC} — общая энергия комплекса, E_C — энергия взаимодействия лигандов с K^+ , E_{VM} — энергия внутри молекулярных взаимодействий в валиномицине. Конформации во второй и пятой строках соответствуют локальному и глобальному минимумам энергии, конформация в третьей строке — вершине активационного барьера.

Таблица 2

Конформационные параметры K^+ -комплекса валиномицина в рамках группы симметрии S_6
 Расстояния в Å, углы в град., энергии в ккал/моль

Структурные параметры молекулы					Конформационные углы						
D	d	θ_x	θ_y	θ_z	D -Val			D -Hui (D -Lac)			E_{VMC}
					ψ	ϕ	ω	ψ	ϕ	ω	
2,2	3,7	2	3	12	-108	57	-178	5	92	174	20
2,1	3,4	2	-1	12	-109	53	-171	2	92	169	18
2,1	3,2	2	-4	15	-110	52	-171	2	89	169	18
2,1	3,1	1	-6	16	-111	51	-170	2	87	168	21
2,1	3,0	1	-8	18	112	51	-169	1	85	168	26

Примечание. Катион располагается в центре молекулы, боковые цепи остатков Val и Hui находятся в *транс*- и *госи*-ориентациях соответственно, торсионные углы остатков в L -конфигурациях имеют противоположный знак. E_{VMC} — общая энергия K^+ -комплекса.

Расчитанная структура K^+ -комплекса (глобальный минимум; см. табл. 1) хорошо согласуется со структурой, полученной экспериментально [2, 4], причем значения рассчитанных двугранных углов (табл. 2) наиболее близки к углам, определенным при исследовании K^+ -комплекса валиномицина в растворе [2]. Подтверждается также полученное изменение ориентации лигандных групп в процессе комплексообразования в малополярном растворителе [2].

Из рис. 2 видно, что выход K^+ из пределов внутримолекулярной полости в малополярной фазе невозможен, поскольку на своем пути он должен преодолеть большой активационный барьер. С другой стороны, для более полярного растворителя правая ветвь кривой для K^+ должна пройти ниже (это обусловлено более эффективной сольватацией K^+). При этом высота барьера снизится и выход K^+ за пределы полости станет более вероятным, что подтверждается экспериментально наблюдаемыми фактами по понижению устойчивости K^+ -комплекса валиномицина при увеличении полярности растворителя.

Вышеприведенное позволяет детализировать основные этапы транспортного механизма ионов K^+ через фосфолипидную мембрану — гетерогенную реакцию комплексообразования и эстафетную передачу. Известно, что связывание катионов происходит на поверхности искусственных и биологических мембран, содержащих валиномицин [1]. В соответствии с экспериментальными данными следует предположить, что валиномицин во внутренней малополярной зоне мембраны находится в браслетной кон-

формации. Допустим, что на границе мембраны образуется стабильный комплекс между валиномицином и K^+ , находящимся в пространственном положении, соответствующем локальному минимуму промежуточного комплекса. Дополнительным стабилизирующим фактором в данной ситуации является эффективная гидратация доступного молекулам воды иона K^+ . В этом состоянии возможен переход из водного раствора во внутримолекулярную полость, и наоборот. Переход K^+ -комплекса от границы во внутреннюю гидрофобную зону мембраны делает невозможным выход K^+ из внутримолекулярной полости. K^+ может покинуть пределы внутримолекулярной полости либо на противоположной стороне мембраны, либо при непосредственном контакте с другой молекулой переносчика. В этом случае, если отсутствуют стерические затруднения, лигандные группы контактирующей молекулы могут включаться в эффективное взаимодействие с выходящим из полости ионом K^+ , что должно привести к понижению высоты активационного барьера. Возможно, в образующемся затем сэндвич-комплексе ион K^+ по отношению к обеим молекулам переносчика находится в пространственном положении, соответствующем локальному минимуму энергии, что в принципе может привести к превращению этого минимума в глобальный или по крайней мере к резкому увеличению его глубины.

На рис. 2 представлен также энергетический профиль вдоль координаты реакции комплексообразования для Na^+ -комплекса. Незначительное изменение энергии в пределах внутримолекулярной полости свидетельствует о том, что Na^+ либо «болтается» в полости вдоль оси симметрии, либо, что более вероятно, «прилипает» к ее краю, оставаясь на оси симметрии, чтобы вступить в более тесный контакт с молекулами растворителя. Это согласуется с экспериментальными данными, указывающими на то, что в Na^+ -комплексе валиномицина ион взаимодействует лишь с частью лигандных групп [10].

Чтобы наглядно показать трансформацию энергетического профиля при изменении кристаллографического радиуса катиона, на рис. 2 приводится сечение энергии вдоль оси симметрии для H^+ . У иона водорода отсутствует электронная оболочка, поэтому можно считать, что его кристаллографический радиус равен нулю. Видно, что энергия имеет ярко выраженный минимум у края внутримолекулярной полости, а ее центр энергетически запрещен. Отсюда очевидна роль стерических факторов в удержании катионов с большим значением кристаллографического радиуса в центре полости.

Конформационная жесткость комплексона является одной из основных характеристик, определяющих его катионную избирательность [10]. Мы исследовали потенциальные возможности лигандных групп вступать в более эффективные взаимодействия с катионом. Катион располагался в центре молекулы. Исследования проводились в рамках группы симметрии S_6 . При этом $\tau=60^\circ$, $D^D=D^L=D$, $\theta_x^D=-\theta_x^L=\theta_x$, $\theta_y^D=-\theta_y^L=\theta_y$, $\theta_z^D=\theta_z^L=\theta_z$,

$\chi_A^D=-\chi_A^L=\chi_A$, $\chi_O^D=\chi_O$. Следовательно, структуру комплекса в случае

S_6 -симметрии можно описать с помощью 7 независимых переменных: D , d , θ_x , θ_y , θ_z , χ_A , χ_O .

Исследовались зависимости энергии от каждого из параметров D , d , θ_x , θ_y , θ_z , определяющих положение и ориентацию лигандных групп комплекса. По остальным шести переменным проводилась минимизация конформационной энергии. В результате расчетов было установлено, что к параметрам, варьирование которых наиболее сильно сказывается на изменении энергии комплексообразования, относятся d (расстояние между плоскостями, проходящими через лигандные кислороды) и θ_y (угол наклона лигандной группы к плоскости, перпендикулярной оси сим-

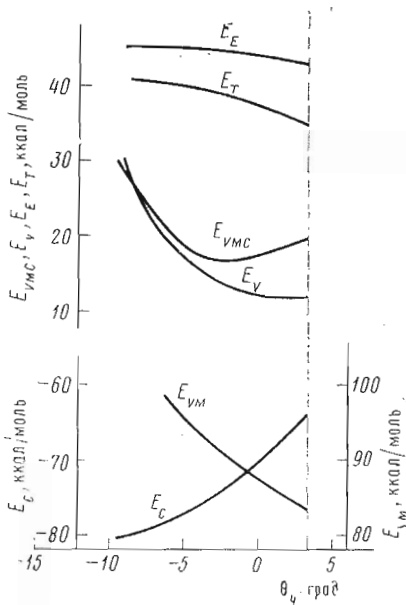


Рис. 3

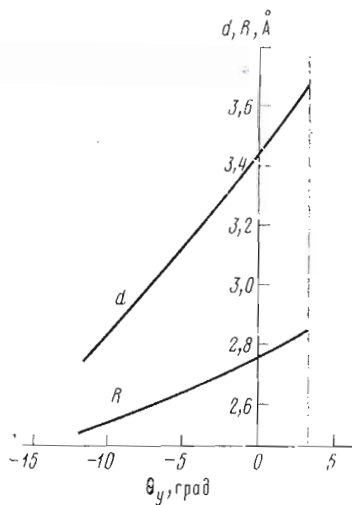


Рис. 4

Рис. 3. Сечения общей энергии и ее составляющих вдоль два энергетического оврага K^+ -комплекса валиномицина как функции параметра θ_y ; E_{VMC} — общая энергия, E_{VM} — энергия внутримолекулярных взаимодействий, E_C — энергия взаимодействия между ионом K^+ и лигандами, E_V — ван-дер-ваальсова, E_E — электростатическая и E_T — торсионная составляющие общей энергии. Энергетическая функция водородной связи, характеризующаяся слабой зависимостью от θ_y (~ -7 ккал/моль), не приведена

Рис. 4. Соотношения между конформационными параметрами θ_y , d и R

метрии). Значениями именно этих параметров в наибольшей степени определяется размер внутримолекулярной полости R (расстояние от центра полости до лигандного кислорода).

Выяснилось, что на энергетической поверхности катионного комплекса имеется овраг. Изменение энергии вдоль этого оврага невелико. Следовательно, возможен непрерывный набор близкоэнергетических структур с различным положением и ориентацией лигандных групп относительно катиона. На рис. 3 приводится сечение энергетической поверхности вдоль дна оврага в зависимости от параметра θ_y (значения остальных параметров для некоторых конформаций можно найти в табл. 2). С одной стороны овраг упирается в область конформационного пространства (она отделена пунктиром), в которой не существует решений уравнений для определения структуры депептидной цепи по заданному положению лигандных групп [6].

Из рис. 4 видно, что между изменениями основных конформационных параметров θ_y , d и R в оптимальных структурах имеются линейные соотношения. Слабое изменение энергии при изменении размера внутримолекулярной полости — следствие двух противоположных эффектов. Здесь резкое увеличение энергии внутримолекулярных взаимодействий при изменении размера внутренней полости валиномицина в определенной степени компенсируется уменьшением энергии взаимодействия между катионом и валиномицином (см. рис. 3). В конечном итоге при малых размерах полости рост энергии внутримолекулярных взаимодействий преобладает над падением энергии взаимодействия между ионом и валиномицином. Этот рост обусловлен в основном ван-дер-ваальсовым компо-

нением энергии, т. е. стерическими напряжениями в молекуле. Возникает вопрос: имеется ли дополнительный, помимо ион-лигандных взаимодействий, фактор, стабилизирующий более «сжатые» конформации комплекса с ориентированными к центру молекулы лигандными группами? Не исключено, что в качестве такого фактора выступает взаимодействие связанного катиона с растворителем, поскольку катион в этих конформациях в меньшей степени экранирован молекулой.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T.* Conformational states and biological activity of cyclic peptides.— *Tetrahedron*, 1975, v. 31, № 9, p. 2177–2209.
2. *Bystrov V. F., Gavrilov Yu. D., Ivanov V. T., Ovchinnikov Yu. A.* Refinement of the solution conformation of valinomycin with the aid of coupling constants from the ^{13}C -nuclear-magnetic-resonance spectra.— *Eur. J. Biochim.*, 1977, v. 63–82, № 1, p. 63–82.
3. *Pinkerton M., Steinrauf L. K., Dawkins P. L.* The molecular structure and some transport properties of valinomycin.— *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1969, v. 35, № 3, p. 512–518.
4. *Neupert-Laves K., Dobler M.* The crystal structure of a K^+ complex of valinomycin.— *Helv. chim. acta*, 1975, v. 58, № 3, p. 432–441.
5. *Плетнев В. З., Галицкий Н. М., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А.* Пространственная структура валиномицинового аналога — *cyclo[-(D-Val-L-HyIV-L-Val-D-HyIV) $_3$]* ($\text{C}_{60}\text{H}_{102}\text{N}_6\text{O}_{18}$) в кристалле.— *Биоорг. химия*, 1977, т. 3, № 10, с. 1427–1429.
6. *Хуторский В. Е.* Теоретический анализ конформационных характеристик катионного комплекса валиномицина.— Препринт ИТФ-80-8Р. Киев, 1980, с. 1–23.
7. *Momany F. A., Carruthers L. M., McGuire R. F., Scheraga N. A.* Intermolecular potentials from crystal data.— *J. Phys. Chem.*, 1974, v. 78, № 16, p. 1595–1630.
8. *Russeger P., Schuster P.* Ab initio calculations on the interaction of oxygen containing ligands with alkali cations. The system $\text{H}_2\text{CO}/\text{Li}^+$.— *Chem. Phys. Lett.*, 1980, v. 19, № 2, p. 254–259.
9. *Perricaudet M., Pullman A.* Ab initio molecular orbital study on the relative affinities of peptide and ester carbonyl groups for Na^+ and K^+ ions.— *FEBS Lett.*, 1973, v. 34, № 1, p. 222–226.
10. *Овчинников Ю. А., Иванов В. Г., Шкроб А. М.* Мембрано-активные комплексы. М.: Наука, 1974, с. 240–249.

Поступила в редакцию
3.IV.1981

ON THE COMPLEX FORMATION BY VALINOMYCIN IN A NONPOLAR PHASE

KHUTORSKY V. E., IVANOV V. T.

*Institute for Theoretical Physics, Academy of Sciences of the
Ukrainian SSR, Kiev; M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic
Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The theoretical conformational analysis methods are used to investigate the spatial structure of the valinomycin cation complex taking into account various positions of ions relative to a conformationally labile molecule. It is shown that the complexation of K^+ is accompanied by the formation of an intermediate complex. This process involves a conformational rearrangement of the molecule resulting in a changed orientation of ligand groups relative to the intramolecular cavity center.