



УДК 539.199

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРАТАЦИИ  $K^+$ -КОМПЛЕКСА  
ВАЛИНОМИЦИНА  
МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

*Хуторский В. Е., Маковский Н. Н.*

*Институт теоретической физики Академии наук УССР, Киев*

Методом Монте-Карло проведено исследование гидратации браслетной конформации  $K^+$ -комплекса валиномицина. Расчеты свидетельствуют о резко асимметричной гидратации, особенно в области карбонильных лигандных групп. Выявлена структура гидратной оболочки комплекса. Наиболее сильно связываются две молекулы воды, расположенные у торцов браслета, примерно на оси симметрии третьего порядка.

Известно, что при транспорте ионов щелочных металлов, индуцированном валиномицином, связывание этих ионов молекулами ионофора является гетерогенной реакцией, протекающей на границе раздела мембрана — вода [1]. Поэтому изучение взаимодействия валиномицина и его катионного комплекса с водой представляет интерес для понимания молекулярных механизмов не только комплексообразования в растворе, но и функционирования этого ионофора в мембране.

В данной работе исследована гидратация комплекса валиномицина в браслетной конформации, при которой ион калия расположен в центре молекулы. С этой целью использован развитый в статистической теории жидкости метод математического моделирования, получивший название метода Монте-Карло [2]. Сущность метода состоит в том, что в конфигурационном пространстве молекул жидкости реализуется такая последовательность перемещений, что в пределе при бесконечном числе перемещений в каждой точке этого пространства система побывает с вероятностью, равной бальцмановской, что дает возможность непосредственно вычислить средние статистические значения физических величин, т. е. термодинамические параметры системы. Можно провести аналогию между наблюдением термодинамических параметров в реальной системе (эксперимент) и расчетом с помощью метода Монте-Карло. В первом случае усреднение проводит природа, в то время как в машинном эксперименте это усреднение моделируется. В принципе вычислительный эксперимент имеет то преимущество перед реальным, что с его помощью можно выявить детали структуры, которые не могут быть наблюдаемы в реальном эксперименте в силу несовершенства применяемых методик. К недостаткам метода Монте-Карло можно отнести затруднения, возникающие при расчете энтропии системы, поскольку с его помощью генерируется последовательность состояний, распределенных по энергиям в том интервале, который практически не дает вклад в энтропийное слагаемое свободной энер-

гии [3]. Однако об энтропии системы можно делать качественные заключения при анализе ее структурных характеристик.

Мы рассматривали кластер из 123 молекул воды (это количество находится на пределе возможностей ЭВМ БЭСМ-6), окружающих  $K^+$ -комплекс валиномицина (при температуре  $T$  289К), структура которого была найдена путем минимизации конформационной энергии [4]. Положение каждой молекулы воды характеризуется радиус-вектором центра инерции и тремя углами Эйлера. Суммарная энергия взаимодействия складывается из трех взаимодействий: вода — вода, валиномицин — вода и  $K^+$  — вода. Расчет взаимодействия типа вода — вода осуществлялся с помощью потенциала Роулисона, апробированного на чистой воде [5, 6], взаимодействия типа валиномицин — вода оценивались как сумма ван-дер-ваальсовой и электростатической энергии, а также энергии водородных связей [7], а взаимодействия типа  $K^+$  — вода вычислялись с использованием потенциала, подобранного на основании эмпирических квантовомеханических расчетов взаимодействия молекулы воды с ионом калия, ранее проведенных Клементи [8].

Расчет строился следующим образом. Сначала генерировалась последовательность конфигураций (являющаяся реализацией цепи Маркова) путем многократного повторения такого составного шага: 1) рассчитывается энергия взаимодействия для заданной конфигурации, 2) изменяется случайным образом положение и ориентация одной из молекул воды, 3) рассчитывается энергия для пробной конфигурации, 4) если изменение энергии в результате сдвига и поворота молекулы выгодно, пробная конфигурация включается в последовательность, 5) если изменение энергии невыгодно, переход в новое состояние определяется результатом сравнения одношаговой вероятности перехода  $P = \exp(-\Delta E/kT)$  (где  $\Delta E$  — разность энергий пробной и предыдущей конфигураций) со случайным числом  $\xi$ , лежащим в промежутке (0,1): при  $P \geq \xi$  пробная конфигурация принимается, а при  $P < \xi$  повторяется предыдущая конфигурация. Генерирование начальной конфигурации осуществлялось следующим образом: в кубе, содержащем 123 молекулы воды в одной из равновесных конфигураций, размещался  $K^+$ -комплекс валиномицина. Те молекулы воды, которые имели стерпчески недопустимые контакты с атомами  $K^+$ -комплекса, выносились за пределы куба, а затем вновь полученная конфигурация молекул воды вокруг комплекса заключалась в новый, больший по размерам куб, в центре которого находился ион калия. Эта конфигурация использовалась как начальная при реализации процедуры Монте-Карло.

Расчеты показали, что выход на равновесный участок осуществляется при переборе примерно 200 000 конфигураций, на что требуется около 50 ч машинного времени на ЭВМ БЭСМ-6. Общая средняя потенциальная энергия рассматриваемого кластера около  $-800$  ккал/моль. Из этой величины  $-79$  ккал/моль приходится на взаимодействие комплекса с водой, что примерно на порядок меньше вклада взаимодействий типа вода — вода. Это обстоятельство служит гарантией того, что рассмотрено количество молекул воды, достаточное для корректного описания гидратации. Энергия взаимодействия типа  $K^+$  — вода для иона, находящегося в центре комплекса и тем самым экранированного от непосредственных контактов с молекулами воды, составляет существенную величину ( $-37$  ккал/моль), и, следовательно, эти взаимодействия наряду с ион-дипольными взаимодействиями иона калия с лигандными группами валиномицина вносят существенный вклад в стабилизацию комплекса. Анализ взаимодействий идентичных полярных группировок валиномицина с водой (табл. 1) свидетельствует о резко асимметричной гидратации молекулы, особенно в области карбонильных лигандных групп. Напротив, конформационные расчеты показывают, что в результате внутримолекулярных взаимодействий молекула стремится перейти в высшую возможную для нее группу симметрии  $S_6$  [4]. Отсюда ясно, что наблюдаемое отклонение структуры ком-

Энергия взаимодействия (ккал/моль) полярных групп валиномицина с водой

Группа	D-Val			D-Hyi			L-Val			L-Lac		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
C=O	-12	0	-12	-3	-3	0	-2	2	-8	-6	-5	2
N=H	4	5	4				6	8	3			

Таблица 2

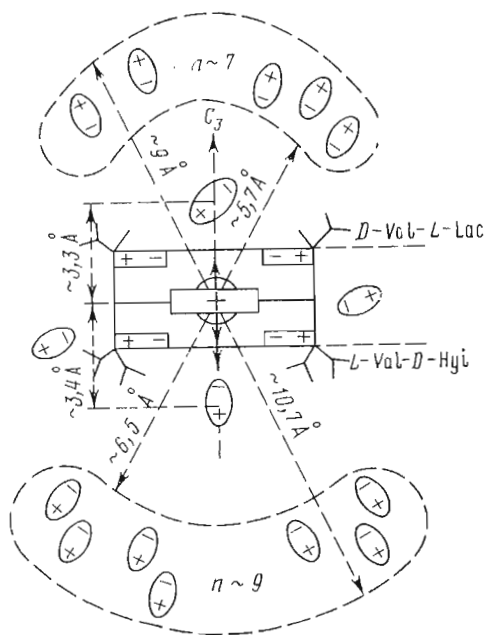
Энергия взаимодействия (ккал/моль)  $K^+$ -комплекса валиномицина с молекулами воды, формирующими гидратные слои со стороны фрагмента *D-Val-L-Lac* (8 молекул воды) и фрагмента *L-Val-D-Hyi* (10 молекул воды)

Характеристики	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>D-Val-L-Lac</i>										
$E_{\text{ВМС}}$	-15,9	-4,6	-3,8	-2,4	-2,3	-2,2	-2,1	-1,4		
$E_{K^+}$	5,7	-2,4	-3,2	-2,8	-1,6	-1,8	0,3	-1,4		
$R$	3,3	7,5	6,9	7,0	8,3	9,0	5,7	8,6		
<i>L-Val-D-Hyi</i>										
$E_{\text{ВМС}}$	-10,0	-2,6	-2,4	-2,1	-2,1	-1,9	-1,9	-1,7	-1,5	-1,4
$E_{K^+}$	-6,3	-3,4	-1,9	-1,2	-1,1	-1,8	-1,3	-1,4	-1,3	-1,2
$R$	3,4	6,5	7,1	8,0	8,1	7,3	8,6	9,5	9,8	10,7

Примечание.  $E_{\text{ВМС}}$  — общая энергия,  $E_{K^+}$  — энергия взаимодействия молекул воды с ионом  $K^+$ ,  $R(\text{Å})$  — расстояние от центра комплекса до молекул воды.

плекса от  $S_6$ -симметрии, проявляющееся, например, в достаточно высокой оптической активности комплекса [1], обусловлено действием растворителя.

Анализ равновесных конфигураций воды вокруг  $K^+$ -комплекса валиномицина позволил выявить структуру его гидратной оболочки. Оказалось, что основная доля молекул воды слабо взаимодействует с комплексом. С энергией, по абсолютной величине большей, чем энергия теплового поступательного движения молекулы, с комплексом взаимодействует ~20 молекул воды, что составляет ~16% общего их количества. Между тем суммарная энергия взаимодействия с комплексом этих молекул составляет ~88% общей энергии гидратации комплекса. Из указанных 20 молекул 18 располагаются с торцов браслета, и основной вклад в энергию их взаимодействия с комплексом вносят взаимодействия либо с катионом, либо с лигандными группами валиномицина (табл. 2). Лишь две молекулы (с энергией -3,6 и -1,6 ккал/моль) располагаются сбоку браслета, что подтверждает ранее высказанное предположение [9] об эффективном экранировании в комплексе валиномицина внутримолекулярных водородных связей боковыми углеводородными цепями. Наиболее сильно связываются две молекулы воды (табл. 2), которые располагаются по обе стороны комплекса примерно на оси симметрии (рисунок) в наибольшей близости от центра молекулы. Непосредственное связывание с  $K^+$ -комплексом двух молекул воды подтверждается данными о комплексообразовании валиномицина в слабополярном растворителе, содержащем малое количество воды [10]. Характер взаимодействия этих двух молекул с комплексом диаметрально противоположен (табл. 2). Со стороны остатков *D-Val-L-Lac* реализуется эффективное диполь-дипольное взаимодействие между молекулой воды и лигандными группами валиномицина, а энергия взаимодействия этой же молекулы воды с ионом калия положительна. Со стороны остатков *L-Val-D-Hyi*, напротив, имеет место эффективное ион-ди-



Схематическое изображение гидратированного  $K^+$ -комплекса валиномицина

польное взаимодействие между молекулой воды и ионом калия, хотя она и не приближена к иону калия на равновесное расстояние ( $\sim 2,5 \text{ \AA}$ ) из-за экранирующего действия валиномицина. Ясно, что найденное различие объясняется неэквивалентностью боковых групп остатков *L*-Lac и *D*-Hyi. Метильные группы *L*-Lac в меньшей степени, чем изопропильные группы *D*-Hyi, экранируют лигандные группы валиномицина, что позволяет молекуле воды занять наиболее выгодное положение для реализации диполь-дипольного взаимодействия с этими группами (не нарушая связей с другими молекулами воды). В случае изопропильных групп из-за большого экранирования лигандных групп и благодаря тому, что с ростом расстояния диполь-дипольные взаимодействия уменьшаются быстрее, чем поидипольные, основной вклад вносит ион-дипольное взаимодействие молекулы воды с ионом калия. Таким образом, ион калия отталкивается от молекулы воды, находящейся со стороны остатков *D*-Val-*L*-Lac, и притягивается к молекуле воды с противоположной стороны. Суммируя энергии ион-дипольных взаимодействий иона калия с молекулами воды, находящимися по разные стороны от плоскости инверсии, можно показать, что с молекулами, находящимися по ту сторону плоскости, куда выходят остатки *D*-Val-*L*-Lac, ион калия взаимодействует с энергией  $-12 \text{ ккал/моль}$ , а с молекулами по другую сторону — с энергией, примерно вдвое большей ( $-25 \text{ ккал/моль}$ ). Следовательно, равнодействующая двух сил, действующих на ион калия со стороны молекул воды, находящихся по разные стороны от плоскости инверсии, направлена в сторону остатков *L*-Val-*D*-Hyi (рисунок). Таким образом, несмотря на то что структура комплекса с ионом, расположенным в центре молекулярной полости, отвечает глобальному минимуму энергии взаимодействия иона калия с валиномицином, благодаря асимметрии взаимодействия этого иона с водой по разные стороны от плоскости инверсии должно произойти его смещение в сторону остатков *L*-Val-*D*-Hyi. Такое смещение подтверждается наличием в дальних ИК-спектрах  $K^+$ -комплекса валиномицина двух полос валентных колебаний  $O \cdots K^+$  [9]. Если предположить, что в метаноле реализуется тот же эффект, полученные результаты позволяют объяснить повышенную

стабильность  $K^+$ -комплекса аналога валиномицина — мезо-Нуї валиномицина — в этом растворителе [11]. Действительно, в силу более высокой симметрии структуры этого аналога с обеих сторон браслета реализуется та же ситуация, что и со стороны остатков *L-Val-D-Нуї* в валиномицине. Диссоциация  $K^+$ -комплекса валиномицина связана с исчезновением ряда дестабилизирующих взаимодействий иона калия с водой со стороны остатков *D-Val-L-Lас* и стабилизирующих с противоположной стороны. Кроме того, при диссоциации комплекса взаимодействие лигандных групп остатков *D-Val* с водой с этой стороны еще более усилится, поскольку катион не будет больше им препятствовать; это служит дополнительным фактором, понижающим стабильность комплекса. Диссоциация же  $K^+$ -комплекса мезовалиномицина связана с потерей одинаковых стабилизирующих взаимодействий катиона с водой по обе стороны браслета.

Можно привести по крайней мере еще один пример проявления этого же эффекта. Стабильность  $K^+$ -комплекса резко увеличивается при переходе от синтетического пептидного аналога валиномицина *cyclo(-L-Pro-L-Val-D-Ala-D-Val)-<sub>3</sub>* к *cyclo(-L-Pro-L-Val-D-Pro-D-Val)-<sub>3</sub>* [12], поскольку остатки аланина при этом замещаются на остатки пролина, обладающие большим экраняющим действием.

На рисунке схематически изображена структура гидратной оболочки  $K^+$ -комплекса валиномицина. Гидратный слой со стороны остатков *D-Val-L-Lас* более компактен, ближе придвинут к комплексу и включает в себя более низкоэнергетические молекулы воды, чем слой с противоположной стороны (см. табл.2). Эта асимметрия также является следствием стереохимического различия двух сторон браслета.

Максимальный размер гидратированного  $K^+$ -комплекса  $\sim 20 \text{ \AA}$ , что сравнимо с толщиной липидного бислоя. Учитывая сильную ассоциацию воды с  $K^+$ -комплексом валиномицина, можно предположить, что транспорт катиона сопряжен с переносом хотя бы некоторой части воды из ближней гидратной оболочки. Действительно, в работе [13] показано, что вместе с одним ионом калия через фосфолипидный бислой переносится четыре молекулы воды.

Авторы выражают благодарность члену-кор. АН СССР В. Т. Иванову за помощь в выборе направления исследований и полезные обсуждения результатов работы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T.* Conformational states and biological activity of cyclicpeptides.— *Tetrahedron*, 1975, v. 31, № 3, p. 2177—2209.
2. *Metropolis N., Rosenbluth A. W., Rosenbluth M. N., Teller A. H., Teller E.* Equation of state calculations by fast computing machines.— *J. Chem. Phys.*, 1953, v. 21, № 6, p. 1087—1091.
3. *Owicki J. C., Scheraga H. A.* Monte Carlo calculations in the isothermal-isobaric ensemble. I. Liquid water.— *J. Amer. Chem. Soc.*, 1977, v. 99, № 3, p. 7403—7412.
4. *Хуторский В. Е.* Теоретический анализ конформационных характеристик катионного комплекса валиномицина. Препринт ИТФ-80-8Р, Киев, 1980, 23 с.
5. *Barker J. A., Watts R. O.* Structure of water; A Monte Carlo calculation.— *Chem. Phys. Lett.*, 1969, v. 3, № 3, p. 144—145.
6. *Маковский Н. Н.* Вычислительный эксперимент в исследовании свойств воды. Препринт ИТФ-79-73Р, Киев, 1979, 36 с.
7. *Motany F. A., Carruthers L. M., McGuire R. F., Scheraga H. A.* Intermolecular potentials from crystal data.— *J. Phys. Chem.*, 1974, v. 78, № 16, p. 1595—1620.
8. *Kistenmacher H., Popkie H., Clementi E.* Study of the structure of molecular complexes. II. Energy surfaces for a water molecule in the field of a sodium or potassium cation.— *J. Chem. Phys.*, 1973, v. 58, № 4, p. 1689—1699.
9. *Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М.* Мембрано-активные комплексоны. М.: Наука, 1974, 463 с.
10. *Haynes D. H., Kowalsky A., Pressman B. C.* Application of nuclear magnetic resonance to the conformational changes in valinomycin during complexation.— *J. Biol. Chem.*, 1969, v. 244, № 2, p. 502—505.
11. *Иванов В. Т., Санасарян А. А., Червин И. И., Яковлев Г. И., Фомина Л. А., Сенявина Л. Б., Сычев С. В., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А.* Зависимость меж-

- ду строением и свойствами циклодепептидов валиномицинового ряда.— Изв. АН СССР. Сер. хим., 1974, № 10, с. 2310—2320.
12. *Davis D. G., Gisin B. F.* Structural, kinetic and mechanistic aspects of cation complexation by cyclo(*L-Pro-L-Val-D-Ala-D-Val*)<sub>3</sub>.— J. Amer. Chem. Soc., 1979, v. 101, № 14, p. 3755—3761.
  13. *Levitt D. G., Elias S. R., Hautman J. W.* Number of water molecules coupled to the transport of sodium, potassium and hydrogen ions via gramicidin, nonactin or valinomycin.— Biochim. et biophys. acta, 1978, v. 512, № 3, p. 436—451.

Поступила в редакцию  
27.IV.1981

## A STUDY ON HYDRATION OF THE VALINOMYCIN K<sup>+</sup>-COMPLEX BY THE MONTE-CARLO METHOD

KHUTORSKY V. E., MAKOVSKY N. N.

*Institute for Theoretical Physics, Academy of Sciences  
of the Ukrainian SSR, Kiev*

The Monte-Carlo method is used to investigate the hydration of the valinomycin-K<sup>+</sup> complex. The study shows that the hydration of the complex is sharply asymmetric, especially in the region of ligand carbonyl groups. The structure of a hydrate shell of the complex is identified. Two water situated approximately along a symmetry axis of third order are most strongly bound to the complex.