

УДК 535.34

АНАЛИЗ КОЛЕБАТЕЛЬНОГО СПЕКТРА ПОЛИ-L-АЛАНИНА

С. А. СТЕПАНЯН, Л. А. ГРИБОВ

(Кафедра физики)

Изучение полипептидов представляет большой научный интерес, так как они являются синтетическими полимерами, моделирующими белковые молекулы. Для выявления структурных особенностей полипептидов широко применяется ИК-спектроскопия. Современный уровень ее развития позволяет использовать расчетные методы для получения наиболее полной информации. Однако теоретические расчеты полипептидов немногочисленны, а расчеты интенсивностей проводятся сравнительно недавно. В работе [8] коротко сообщалось о построении спектральной кривой распределения коэффициента поглощения α -спирали поли-L-аланина. В данном сообщении будут подробно изложены результаты этого расчета, а также проведенного впоследствии расчета второго конформера поли-L-аланина, т. е. β -структуры, которая, как известно, представляет собой почти плоскую конформацию.

Расчет α -спирали поли-D-аланина был выполнен одновременно М. Кришнаном [17] и К. Итохом [15] в 1970 г. Позже К. Итохом рассчитан спектр поли-L-аланина [16]. Им введена точечная масса, заменяющая CH_3 группу, и использовано силовое поле Юри-Брэдли. В его работе дана интерпретация спектра для частот, лежащих ниже 900 см^{-1} , и притом очень схематичная, геометрические параметры заимствованы из модели Полинга и Кори для α -спирали, а не из рентгеновских данных. М. Кришнан и В. Гупта также применили поле Юри-Брэдли, но отнесения полос, приведенные ими, более подробны, хотя не указаны частоты, связанные с боковым радикалом. Результаты, полученные авторами, отличаются как в интерпретации спектра, так и в дисперсионных кривых, особенно в области $700\text{—}500 \text{ см}^{-1}$.

Наибольшего внимания заслуживают работы С. Кримма с сотрудниками [20, 21], выполненные с использованием валентно-оптической схемы силового поля и учетом водородных связей. Удивление вызывает лишь то обстоятельство, что геометрические параметры заимствованы из работы [14], в которой предложена модель стандартной α -спирали, в то время как уже имелись рентгенографические данные, полученные для полиаланина [11]. При сопоставлении форм колебаний двух кристаллических модификаций полиаланина, полученных нами и С. Криммом, обнаружены значительное сходство результатов, относящихся к основной части спектра, и некоторое расхождение в длинноволновой области,

где, по данным С. Кримма, большое место занимают деформационные колебания, а по нашему мнению — неплоские колебания.

Отметим, что экспериментальные значения полос поглощения в спектре α -структуры полиаланина, приведенные разными авторами, различны. Так, например, частота валентных колебаний NH связи у М. Кришнана 3293 см^{-1} , у С. Кримма — 3279 см^{-1} . У М. Кришнана приведена частота 440 см^{-1} , которая отсутствует в работах других авторов.

При расчете нами использованы те же геометрические параметры, что и в дипептидах, методика расчета соответствует таковой в [1]. Исходные силовые постоянные взяты из простейших соединений [3—7]. В дальнейшем система этих параметров была уточнена на основании предварительного исследования димера [9]. Уточненное поле практически без изменений перенесено на полимерную структуру. Аналогичный подход применен для выбора системы электрооптических параметров.

Углы внутреннего вращения ϕ и ψ для α -спирали заимствованы из [10], для β -структуры — из [11]. Они равны соответственно $\phi = 113,1^\circ$, $\psi = 136,3^\circ$ и $\phi = 41,4^\circ$, $\psi = -45,3^\circ$. Экспериментальный спектр поли-L-аланина, имеющего форму α -спирали, заимствован из [15]. Удовлетворительной спектральной кривой β -структуры полиаланина найти не удалось. На рис. 1 приведены экспериментальный и рассчитанный спектры α -спирали [1, 2], а также рассчитанный спектр β -структуры.

Расчет частот и форм колебаний полимеров проводился в нулевом приближении теории. Повторяющаяся ячейка полимера обладает 30 степенями свободы. Система естественных координат представлена на рис. 2. Переход от α формы к β осуществлен путем изменения углов внутреннего вращения ϕ и ψ с сохранением геометрических параметров, а также силовых и электрооптических параметров. Кинематические коэффициенты элементарного звена и соответствующие постоянные взаимодействия с соседним звеном задавались путем расчета матрицы T полимерного фрагмента. Кинематические коэффициенты учитывались с точностью до 5-го знака. Решение задачи в нулевом приближении теории без дальнейшего уточнения частот оказывается вполне удовлетворительным, так как при большом числе степеней свободы повторяющейся ячейки разница между двумя последовательностями частот сопоставима с точностью расчета.

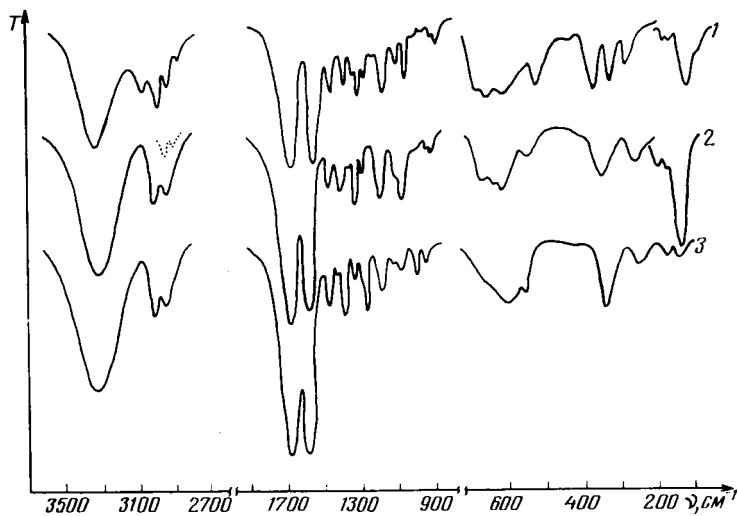


Рис. 1. Экспериментальный (1) и теоретические спектры α -спирали (2) и β -структуры (3) полиаланина.

В таблице приведены частоты и формы колебаний полиаланина для двух значений S , отвечающих наиболее активным в спектре частотам. Рассчитанные частоты удовлетворительно совпадают с экспериментальными. Характер колебаний примерно тот же, что и в дипептидах.

Согласно экспериментальным данным [20, 21], частоты, соответствующие валентным NH и CH колебаниям в спектрах двух кристаллических форм поли-L-аланина, несколько отличаются друг от друга по вполне понятным причинам. Поскольку эти формы рассчитаны нами без изменения силового поля, то частоты указанных выше колебаний в теоретических спектрах α - и β -форм одинаковы, отсюда понятно совпадение частот основных амидных полос в области 1500–1700 см^{-1} .

Хорошо согласуются с экспериментальными данными частоты, связанные с симметричными и ассимметричными колебаниями CH_3 группы, $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ связи. В этой области — 1500–1200 см^{-1} , помимо указанных колебаний, некоторое участие принимает NH деформационное колебание, причем в ИК-спектре β -формы оно значительнее, чем в случае α -спирали.

Полосы, наблюдаемые в области 1100–900 см^{-1} , обусловлены скелетными валентными колебаниями и деформационными колебаниями бокового радикала. В обеих полимерных структурах эти полосы и соответствующие им рассчитанные частоты

довольно близки друг к другу.

Сравнение форм колебаний двух конформаций полиаланина показывает, что максимальное различие обнаруживается в области ниже 700 см^{-1} , где проявляются неплоские и деформационные скелетные колебания, а также деформационные колебания углов при C^{α} и бокового радикала.

Следует отметить, что в случае спиральной структуры скелетные колебания проявляются более отчетливо при большем количестве частот. К деформационным скелетным колебаниям относятся колебания, связанные с координатами α_{10}^8 , α_{12}^{10} , α_8^5 . Они проявляются в частотах 672, 621, 553, 534, 344, 181 см^{-1} в теоретическом спектре α -спирали и в 693, 299 см^{-1} в спектре β -формы. По-видимому, для развернутой β -структуры характерно более сильное перекрывание деформационных колебаний неплоскими колебаниями.

Деформации углов, связанных с боковым радикалом, представлены координатами α_6^5 , α_7^5 , α_8^5 , α_7^8 , α_7^6 . Они достаточно четко проявляются в спектрах обеих конформаций с той лишь разницей, что в спектре α -спирали имеется ряд более высоких частот, в которых участвуют колебания, связанные с перечисленными выше координатами. К ним относятся частоты 672, 553, 534, 504, 344, 318, 181 см^{-1} . В спектре β -структуры к таким относятся частоты 326, 319, 299, 232, 205, 196 см^{-1} . Соответствующие им экспериментальные частоты указаны в таблице.

К плоскостным деформационным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ группы (амид IV) в какой-то мере относятся частоты 672 см^{-1} (α) и 667 см^{-1} (β). В спектре α -полиаланина имеются еще частоты 504 и 344 см^{-1} с участием этого колебания (таблица).

Расчет интенсивностей, помимо своей основной цели — корреляции теоретических и экспериментальных спектров, представляет интерес с точки зрения анализа чувствительности этой характеристики к изоморфным превращениям.

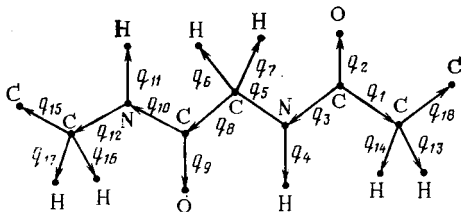


Рис. 2. Фрагмент полимерной цепи поли-L-аланина.

S = 1	S = 21
3303 q_{11}	3303 q_{11}
2994 q_{15}, q_{16}, q_{17}	2994 q_{15}, q_{16}, q_{17}
2993 q_{15}, q_{16}, q_{17}	2993 q_{15}, q_{16}, q_{17}
2934 q_{15}, q_{16}, q_{17}	2934 q_{15}, q_{16}, q_{17}
2890 q_{16}	2890 q_{16}
1667 $q_9, \alpha_{11}^{10}, \alpha_{10}^8$	1660 $q_9, q_{10}, \alpha_{11}^{10}, \alpha_{10}^8$
1552 q_{10}, α_{11}^{10}	1556 $q_{10}, q_{12}, \alpha_{11}^{10}$
1447 $\alpha_{15}^{17}, \alpha_{15}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_{16}^{15}$	1446 $\alpha_{17}^{15}, \alpha_{15}^7$
1413 $\alpha_{16}^{15}, \alpha_{17}^{15}, \alpha_{15}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7$	1409 $\alpha_{16}^{15}, \alpha_{16}^7, \alpha_{15}^7$
1384 $\alpha_7^6, \alpha_{15}^{17}, \alpha_{17}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{15}^7$	1364 $\alpha_{17}^7, \alpha_7^6, \alpha_{16}^7, \alpha_{15}^7, \alpha_{17}^{15}$
1351 $\alpha_{17}^{15}, \alpha_{17}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{15}^7, \alpha_6^5$	1343 $\alpha_{11}^{10}, \alpha_{10}^9, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7$
1318 $\alpha_7^6, \alpha_5^5, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_{17}^{15}$	1315 $\alpha_7^6, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^{15}$
1246 $\alpha_6^5, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_{11}^{10}, \delta_{6,8}^{8,10}$	1281 $\alpha_7^6, \alpha_{17}^7, \alpha_{16}^{15}$
1202 $q_{12}, \alpha_{17}^7, \alpha_6^5, \alpha_{16}^{15}, \delta_{6,8}^{8,10}$	1172 $q_{12}, q_8, \alpha_{10}^8, \alpha_{15}^7, \alpha_{17}^{15}, \alpha_6^5$
1078 $q_7, \alpha_7^6, \delta_{5,6}^{3,5}$	1084 $q_8, q_7, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_7^6$
1057 $\alpha_{15}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \delta_{8,17}^7$	1046 $\alpha_{15}^7, \alpha_{16}^7, \delta_{8,17}^7$
972 $\alpha_{15}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_{17}^{15}, \alpha_6^5$	1014 $\alpha_{15}^7, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_{17}^{15}$
928 $q_8, \alpha_{16}^7, \alpha_{10}^9, \alpha_{12}^{10}, \delta_{8,17}^7$	908 $q_8, \alpha_{16}^7, \alpha_{17}^7, \alpha_{10}^9$
668 $\rho_{11,12}^{10}, \rho_{9,8}^{10}, \delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}, \delta_{9,8}^{11,12}$	672 $\rho_{9,8}^{10}, \rho_{11,12}^{10}, \alpha_{10}^9, \alpha_7^7, \alpha_{12}^{10}$
609 $\rho_{9,8}^{10}, \delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}, \delta_{9,8}^{11,12}$	621 $\rho_{9,8}^{10}, \rho_{11,12}^{10}, \delta_{6,8}^{8,10}, \alpha_8^5$
553 $\rho_{9,8}^{10}, \delta_{9,8}^{11,12}, \alpha_{10}^8, \alpha_7^6$	596 $\rho_{11,12}^{10}, \delta_{9,8}^{11,12}$
504 $\rho_{11,12}^{10}, \alpha_7^5, \alpha_{10}^9$	534 $\alpha_7^6, \alpha_{10}^8, \alpha_6^5, \alpha_7^5, \alpha_8^5$
322 $\rho_{11,12}^{10}, \delta_{5,6}^{3,5}$	344 $\alpha_{10}^9, \alpha_8^5, \alpha_{12}^{10}, \alpha_7^5$
254 $\rho_{11,12}^{10}, \delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}$	318 α_7^5
212 $\delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}, \rho_{11,12}^{10}, \delta_{8,17}^7$	233 $\delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}$
181 $\delta_{6,8}^{8,10}, \delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{8,17}^7, \alpha_8^7, \alpha_8^5$	223 $\delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}, \rho_{11,12}^{10}$
131 $\delta_{8,17}^7, \delta_{6,8}^{8,10}$	190 $\delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{6,8}^{8,10}$
118 $\delta_{5,6}^{3,5}, \delta_{8,17}^7, \rho_{11,12}^{10}, \alpha_7^5$	159 $\delta_{8,17}^7, \rho_{11,12}^{10}$
70 $\delta_{8,17}^7$	120 $\delta_{8,17}^7$

При расчете интенсивностей использовалось основное соотношение между значением первой производной от дипольного момента по нормальной координате и рядом параметров, характеризующих структуру, силовое и электрическое поле молекулы [1].

Производные $\frac{\partial \mu_i}{\partial Q_i}$ предварительно вычисляются программой расчета интенсивностей мономерного звена, а затем используются в качестве исходных данных при расчете интенсивностей полимерной цепи в соответствии с [2].

На основании данных, полученных при расчете интегральных интенсивностей, были построены спектральные кривые поглощения для α - и β -форм поли-L-аланина. Каждая полоса, отвечающая одному нормальному колебанию, аппроксимировалась гауссовой

кривой. Результирующий спектр получался как огибающая по большому числу нормальных колебаний. Значения полуширин полос приближенно оценивались на основании экспериментальных кривых. Сумма полуширин отдельных гауссовых компонент с учетом их перекрывания подбиралась равной экспериментальной полуширине. При этом распределение интенсивностей среди компонент должно быть таково, чтобы огибающая максимально приближалась к экспериментальной кривой. Следует отметить, что контуры полос в полимерном спектре зависят, например, от статистического распределения цепей по длинам, от локальной конформации, окружения сегментов и т. д. Все это затрудняет корреляцию теоретического и экспериментального спектров. Тем не менее, опираясь на эксперимент и опыт с малыми молекулами, все же удает-

ся подобрать значения полуширин. Результаты получаются вполне удовлетворительными, если не задаваться целью точно воспроизвести экспериментальную кривую.

Поскольку изучаемые соединения представляют собой спираль, то в процессе расчета с помощью модели связанных осцилляторов устанавливали значения индексов S , отвечающих разрешенным колебаниям. Эти значения равны $S=1$ и $S=$

$$= \frac{N}{2} + 1 \text{ для } \alpha\text{-формы и } S=1 \text{ и } S=7/8N$$

для β -формы. Интенсивности вычисляли для колебаний с индексами S в данных областях. В связи с тем, что видимый спектр формируется за счет наиболее интенсивных компонент, полосы поглощения с очень малыми интенсивностями не принимались во внимание. Это обстоятельство существенно упрощает задачу.

Получено удовлетворительное совпадение экспериментальной и рассчитанной кривых (рис. 1). Интервал частот в области 200—100 см^{-1} (кривая 2) в 10 раз больше, чем остальной спектр, так как экспериментальный спектр также представлен в увеличенном масштабе. Некоторое расхождение между экспериментом и расчетом в частотах и интенсивностях наблюдается в основной области спектра. Это связано с погрешностями решения задачи в нулевом приближении, недостаточным знанием электрооптических параметров и др. В целом, однако, совпадение кривых можно считать удовлетворительным.

Вопрос о конформационно-чувствительных полосах обсуждается во многих работах. Рассматриваются самые различные области спектра. Одни авторы [13, 18] для диагностики конформации предлагают использовать амидные полосы (амид I, амид II, амид III и т. д.), другие [17] — длинноволновую область, третьи [19] — скелетные колебания. Так Т. Мназава и др. [19], изучив спектры ряда полипептидов, считают полосу около 600 см^{-1} признаком α -конформации, около 700 см^{-1} — β -формы, около 650 см^{-1} — разупорядоченной структуры в спектре полипептидов. К. Итох с сотрудниками [15] нашли характерными для α -спирали полосы 690, 650, 610, 380, 150, 100 см^{-1} , а для β -структуры — 700, 240 и 120 см^{-1} . Как видим, мнения авторов расходятся и противоречат друг другу.

Весьма единодушны авторы, рассматривающие амидные полосы. Поглощение вы-

ше 1655 см^{-1} , 1215 — 1240 см^{-1} , 700—710 см^{-1} относятся за счет присутствия β -структуры, поглощение ниже 1655 см^{-1} и выше 1250 см^{-1} является признаком α -спирали, поглощение в области 1243—48 см^{-1} указывает на существование разупорядоченной структуры.

С. Криммом и сотрудниками [12] был рассчитан фрагмент полимерной цепи полиаланина, воспроизводящий различные типы β -структуры, в частности поворот цепи. Показано, что для этого типа структуры характерны высокие значения частоты полосы амид I (1665, 1690 см^{-1}). Полосы амид II имеют значения максимумов 1535 и 1560 см^{-1} для антипараллельных β -цепей и 1516 и 1545 см^{-1} для α -спирали. Полоса амид III перекрывается поглощением боковой цепи и менее информативна для диагностики конформаций.

Обширная литература по данному вопросу базируется на изучении спектров полипептидов, т. е. искусственно синтезируемых молекул. Для белковых молекул, где каждому звену свойственны своя конформация и свой боковой радикал, характерны специфические закономерности, требующие более глубокого изучения спектров на хорошем теоретическом уровне.

При сравнении кривых поглощения, полученных нами для двух конформаций полиаланина, можно видеть некоторое различие в области 1200 см^{-1} (амид III) и 900 см^{-1} (скелетные колебания), но эта область насыщена частотами, близко отстоящими друг от друга, и поэтому не может быть рекомендована для аналитических целей. Длинноволновая область практически одинакова для двух изомеров. Это свидетельствует, по-видимому, о слабом кинематическом эффекте. Изменения в наблюдаемом спектре обусловлены изменением характера водородных связей межцепных взаимодействий.

Выводы

1. Существующие методы расчета применимы к сложным полимерным системам.
2. Силовые постоянные и электрооптические параметры, подобранные для дипептидов, могут быть с успехом использованы при расчете полимеров.
3. Слабый кинематический эффект не позволяет надежно прогнозировать изомеры в полимерной структуре.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грибов Л. А. Теория инфракрасных спектров полимеров. М.: Наука, 1977. — 2. Кондратов О. И. Расчет частот колебаний олигомеров и полимеров. — Автореф. канд. дис. Минск, 1973. — 3. Попов Е. М., Желтова В. Н., Коган Г. А. Колебательные спектры и силовые поля метиламина, диметиламина и триметиламина. — ЖСХ, 1969, 10, с. 1119—1122. — 4. Попов Е. М., Желтова В. Н., Коган Г. А. Колебательные спектры и силовые поля простейших амидов. — ЖСХ, 1970, 11, с. 1053—1060. — 5. Попов Е. М., Коган Г. А., Стручкова М. И., Желтова В. Н. Колебательные спектры и силовые поля метил-

формата и метилацетата — ЖСХ, 1971, 12, с. 61—66. — 6. Попов Е. М., Желтова В. Н. Электрооптические параметры и интенсивности ИК-полос поглощения метиламина и ацетона — ЖПС, 1970, 13, с. 1046—1052. — 7. Попов Е. М., Желтова В. Н. Электрическое поле формамидов. — ЖПС, 1971, 14, с. 122—128. — 8. Степанян С. А., Попов Е. М., Грибов Л. А. Расчет спектрального распределения коэффициента поглощения поли-L-аланина. — ЖПС, 1975, 23, с. 169—170. — 9. Степанян С. А., Грибов Л. А., Попов Е. М. Расчет инфракрасных спектров дипептидов. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 3, с. 149—160. — 10.

- Arnott S., Wonacott — J. Mol. Biol., 1966, 21, p. 371—383. — 11. Arnott S., Dover S. D. — J. Mol. Biol., 1967, 30, p. 201—208. — 12. Bandekar J., Krimm S. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, 76, p. 774—777. — 13. Baron M. H., de Loze C., Toniolo C., Fasman G. D. — Biopol., 1979, 18, p. 411—424. — 14. Brown L., Trotter I. F. — Trans. Far. Soc., 1956, 52, p. 537—548. — 15. Itoh K., Nakahara T., Shimanouchi T., Oya M., Uno K. — Biopol., 1968, 6, p. 1759—1766. — 16. Itoh K., Shimanouchi T. — Biopol., 1970, 9, p. 383—399. 17. Krishnan M. Y., Gupta V. D. — Chem. Phys. Letters, 1970, 6, p. 231—234. — 18. Lippert J. L., Tyminski D., Desmeules P. J. — J. Am. Chem. Soc., 1976, 98 (22), p. 7075—7080. — 19. Myazawa T., Masuda Y., Fukushima K. — J. Pol. Sci., 1962, 62, (174), S62—S64. — 20. Moore W. H., Krimm S. — Biopol., 1976, 15, p. 2465—2483. — 21. Rabolt J. F., Moore W. H., Krimm S. — Macromolecules, 1977, 10, 1065—1074.

Статья поступила 18 мая 1984 г.

SUMMARY

The article analyses the results of calculating two polyalanine conformations and proves the possibility of applying calculation programmes to complex systems. Spectres of two polymere isomeres are compared which shows the proximity of spectral curves due to wear kinematic effect. The article proves the possibility of applying force constants and electrooptical parametres obtained for dipeptides in polymere calculating.