



УДК 577.182.26'17.012

КОНФОРМАЦИОННЫЕ СОСТОЯНИЯ ДИМЕРНЫХ АНАЛОГОВ ГРАМИЦИДИНА А

Сычев С. В., Фомина Л. А., Иванов В. Т.

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Методами ИК- и КД-спектроскопии исследованы конформационные состояния в растворе бис-производных грамицидина А, в которых взаимное расположение концевых групп фиксировано по принципу N-конец — N-конец, N-конец — С-конец и С-конец — С-конец путем введения ковалентных мостиков. Найдено, что в условиях, при которых удается избежать межмолекулярной ассоциации, конформация этих аналогов представляет собой структуру Рамачандрана — Урри $\pi_{LD}\pi_{LD}$ (ранее предлагавшуюся для грамицидина А) либо структуры, также состоящие из одиночных π_{LD} -спиралей $\pi_{LD}\pi_{LD}$ или $\pi_{LD}\pi_{LD}$ в зависимости от положения ковалентной сшивки. При межмолекулярной ассоциации образуются антипараллельные двойные спирали. На основании полученных данных обсуждается механизм образования антипараллельной двойной спирали в грамицидине А и его аналогах.

Известно, что каналобразующий антибиотик грамицидин А находится в сложном конформационном равновесии. Помимо мономера в растворах образуются по крайней мере четыре димерные формы, весьма медленно переходящие друг в друга и поэтому легко разделяемые на тонкослойной пластинке [1]. Каждая из указанных форм, по данным работы [2], в свою очередь представляет собой в неполярной среде (диоксан) смесь трех более быстро конвертируемых конформеров. Все димерные формы имеют спиральную структуру, различаясь типом стыковки (одиночные спирали Рамачандрана — Урри [3—6] или двойные спирали Витча и Блаута [1]), направлением закручивания (правые или левые), числом остатков на виток (4,4; 6,3 или 8,2 для одиночной спирали [6, 7] и 5,6; 7,2 или 9,0 для двойной спирали [1]) и соответственно длиной (36—18 Å) и диаметрами осевой полости (1,2—6,6 Å), предназначенной для транспорта иона щелочного металла или протона. Кроме того, одиночные спирали могут ассоциировать по типу «голова к голове», «голова к хвосту» и «хвост к хвосту», а двойные спирали могут быть параллельными или антипараллельными.

С целью упростить конформационное равновесие грамицидина А была синтезирована серия ковалентно сшитых бис-грамицидинов, в которых концевые фрагменты двух молекул грамицидина А соединены мостиками различной длины по принципу «голова к голове», «голова к хвосту» и «хвост к хвосту» [8]. В настоящей работе представлены результаты исследования пространственной структуры в растворе части полученных производных (см. схему), представляющих все три типа кросс-сшивок.

Form-Val-Gly-Ala-Leu-Ala-Val-Val-Val-Trp-Leu-Trp-Leu-Trp-Leu-Trp-EA

Грамицидин А Form — CHO; EA — C₂H₅ONH₂

EA-(15—1)-CO(CH₂)_nCO-(1—15)-EA

«голова к голове» $n = 2, 4, 6$

Form-(1—15)-EA-CO-(CH₂)_nCO-(1—15)-EA

«голова к хвосту» $n = 1, 2, 6, 7$

Form-(1—15)-EA-CO(CH₂)_nCO-EA-(1—15)-Form

«хвост к хвосту» $n = 2, 3$

Как и в работе [2], основная информация о структуре пептидов была получена путем разложения экспериментального ИК-спектра на составляющие компоненты, рассчитанные ранее методом [9, 10] для спиралей

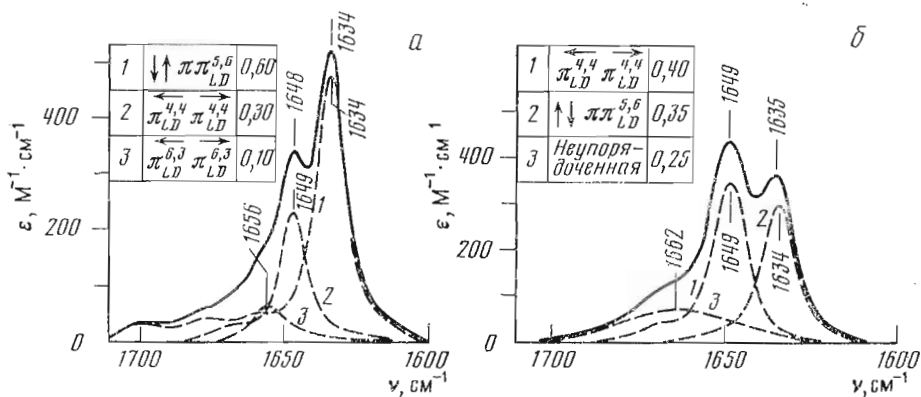
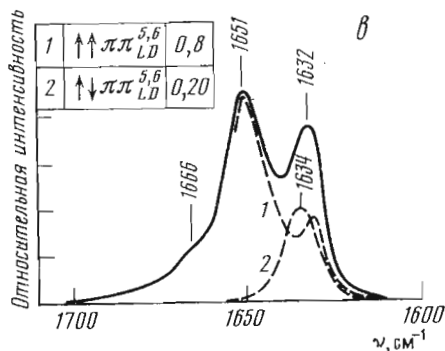


Рис. 1. ИК-спектры в области полосы Амид I аналога «хвост к хвосту» ($n=3$) в диоксане при $c=7,45 \cdot 10^{-4}$ (а) и $7,55 \cdot 10^{-5}$ М (б). Штрихом здесь и на других рисунках показаны кривые, полученные разложением сложного контура полосы на рассчитанные спектры конформаций, перечисленных на рисунке. Вместо ИК-спектра структуры $\overrightarrow{\pi}_{LD}^{4,4} \overleftarrow{\pi}_{LD}^{4,4}$ (спектр которой не считался) взят расчетный спектр близкой к ней конформации $\overrightarrow{\pi}_{LD}^{4,4} \overleftarrow{\pi}_{LD}^{4,4}$, а – синтез сложного контура полосы с целью получения максимального приближения к наблюдаемому спектру при использовании спектра $\uparrow\uparrow\pi_{LD}^{5,6}$ -спирали



различного типа. В табл. 1 приведены рассчитанные частоты колебания Амид I. Частоте 1634 см^{-1} отвечает конформация $\uparrow\downarrow\pi_{LD}^{5,6}$ -спирали (табл. 1), однако ее отличие от частоты, рассчитанной для $\uparrow\downarrow\pi_{LD}^{7,2}$ -спирали (1636 см^{-1}), составляет лишь 2 см^{-1} , так что эта частота может указывать на присутствие обеих антипараллельных двойных спиралей. Намного выше ($1647\text{--}1649 \text{ см}^{-1}$) лежат частоты, соответствующие конформациям димеров, построенных из π_{LD} -спиралей: $\overrightarrow{\pi}_{LD}\overleftarrow{\pi}_{LD}$ и $\overleftarrow{\pi}_{LD}\overrightarrow{\pi}_{LD}$. При этом изменение стыковки π_{LD} -спиралей в димере грамицидина А практически не изменяет частоту основного компонента полосы Амид I.

Дополнительную информацию, в частности о наличии ассоциатов, получили из изменения спектров КД с разбавлением растворов. Большинство спектров снимали в диоксане; в отдельных случаях использовали спирты (метанол, этанол, 2-хлорэтанол). ИК-спектры измеряли в интервале концентраций $10^{-2}\text{--}10^{-5}$ М; большая чувствительность метода КД позволяла работать и с более разбавленными растворами ($\sim 10^{-6}$ М).

ИК-спектры аналогов «хвост к хвосту» ($n=2$ и 3) в диоксане не зависят от длины сшивки, но меняют свой вид при разбавлении раствора от

Таблица 1

Расчетные частоты основного компонента полосы Амид I

Конформация	$\nu, \text{см}^{-1}$	Конформация	$\nu, \text{см}^{-1}$
$\uparrow\downarrow\pi_{LD}^{5,6}$	1634	$\overrightarrow{\pi}_{LD}^{4,4} \overleftarrow{\pi}_{LD}^{4,4}$	1647
$\uparrow\downarrow\pi_{LD}^{7,2}$	1636	$\overrightarrow{\pi}_{LD}^{6,3} \overleftarrow{\pi}_{LD}^{6,3}$	1656
$\uparrow\uparrow\pi_{LD}^{5,6}$	1651	$\overrightarrow{\pi}_{LD}^{4,4} \overleftarrow{\pi}_{LD}^{4,4}$	1649
$\uparrow\uparrow\pi_{LD}^{7,2}$	1655	$\overrightarrow{\pi}_{LD}^{6,3} \overleftarrow{\pi}_{LD}^{6,3}$	1656

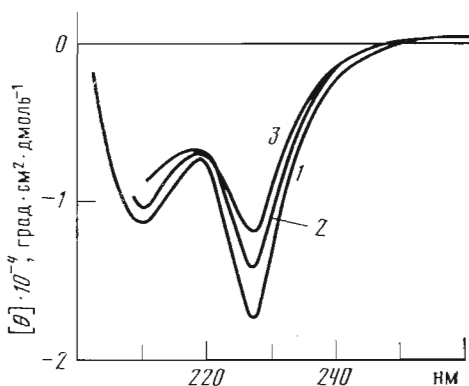


Рис. 2. Спектр КД (200–250 нм) диоксанового раствора аналога «хвост к хвосту» ($n=3$) при $c=1,0 \cdot 10^{-4}$ (1), $1,0 \cdot 10^{-3}$ (2) и $2,0 \cdot 10^{-6}$ М (3)

$\sim 10^{-3}$ до $\sim 10^{-4}$ М (рис. 1а, б), что указывает на образование ассоциатов. Судя по спектрам КД (рис. 2), от ассоциатов не удается полностью избавиться даже при концентрации $\sim 10^{-6}$ М. В ассоциатах доминируют антипараллельные двойные спирали (60% при $\sim 10^{-4}$ М), в то время как при разбавлении они уступают свое место мономерной односторонней $\pi_{LD}^{4,4}\pi_{LD}^{4,4}$ -спирали, а именно $\pi_{LD}^{4,4}\pi_{LD}^{4,4}$ спирали — в соответствии с положением ковалентной сшивки. Из рис. 1в видно, что допущение об участии в равновесии параллельных двойных ($\uparrow\downarrow\pi_{LD}$) спиралей не позволяет удовлетворительно воспроизвести экспериментальный спектр, т. е., как и в случае самого грамицидина А [2], такие структуры не реализуются. В 2-хлорэтанол (10^{-3} М) доминирует неупорядоченная структура обоих производных.

ИК-спектры аналогов «голова к голове» ($n=2, 4$ и 6) в диоксане (рис. 3а) близки друг к другу и не зависят от концентрации в исследованном интервале ($1,0 \cdot 10^{-3}$ – $2,5 \cdot 10^{-6}$ М), что свидетельствует об устойчивости ассоциатов. Судя по спектрам КД, у аналога с $n=2$ ассоциаты начинают разрушаться, начиная с разбавления до $\sim 10^{-5}$ М (рис. 4а). Изменения в спектрах КД аналога с $n=4$ (рис. 4б) менее выражены, хотя они также свидетельствуют о диссоциации агрегатов. Анализ ИК-спектров на рис. 3а указывает на присутствие пестрого набора структур; некоторые из возможных структур показаны на рис. 5. В 2-хлорэтанол разрушение ассоциатов происходит при более высоких концентрациях ($10^{-2} \rightarrow 10^{-3} \rightarrow 10^{-4}$ М, рис. 4б), т. е. по сравнению с диоксаном равновесие смещается в сторону мономера. При этом возрастает доля $\pi_{LD}\pi_{LD}$ -спиралей и убывает доля $\uparrow\downarrow\pi_{LD}$ -спиралей (ср. рис. 3а и 3б). В обоих растворителях присутствует $\sim 50\%$ неупорядоченной структуры (или сильно искаженных спиральных структур, которые в ИК- и Раман-спектрах проявляются в области полосы Амид I как «неупорядоченная» конформация [11]). При переходе к другим спиртам (трифторэтанол, этанол, метанол, см. рис. 3б) возрастает доля компонента ~ 1660 см^{-1} , отвечающего неупорядоченной структуре [11, 12].

Практически неразличимые ИК-спектры производных «голова к хвосту» ($n=1, 2, 6$ и 7) в диоксане при высоких (10^{-3} М) концентрациях указывают на присутствие больших количеств (65%, см. рис. 6а) $\uparrow\downarrow\pi_{LD}^{5,6}$ -спиралей. Разрушение ассоциатов хорошо выражено у производных с длинным мостиком ($n=6$ и 7 , рис. 6) и значительно слабее — у производных с коротким мостиком (в качестве примера приведены ИК- и КД-данные для $n=1$, рис. 7); во всех случаях диссоциация сопровождается снижением доли $\uparrow\downarrow\pi_{LD}$ -конформеров. В 2-хлорэтанол (10^{-3} М) преобладают неупорядоченные формы.

Данные о структуре изученных бис-производных собраны в табл. 2.

При постановке работы предполагалось, что исключение из равновесия ряда структур, например $\uparrow\downarrow\pi_{LD}$ -спиралей у производных типа «голова к голове» и «хвост к хвосту» или $\pi_{LD}\pi_{LD}$ -спиралей в серии производных

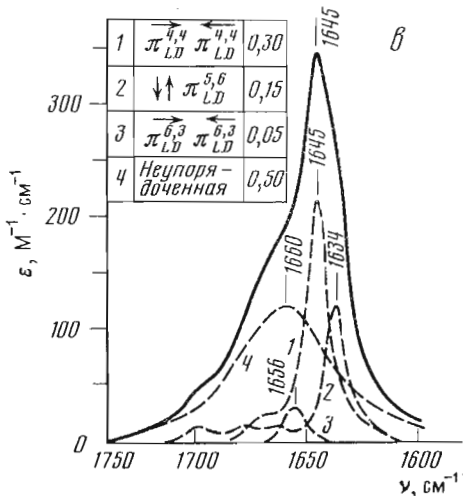
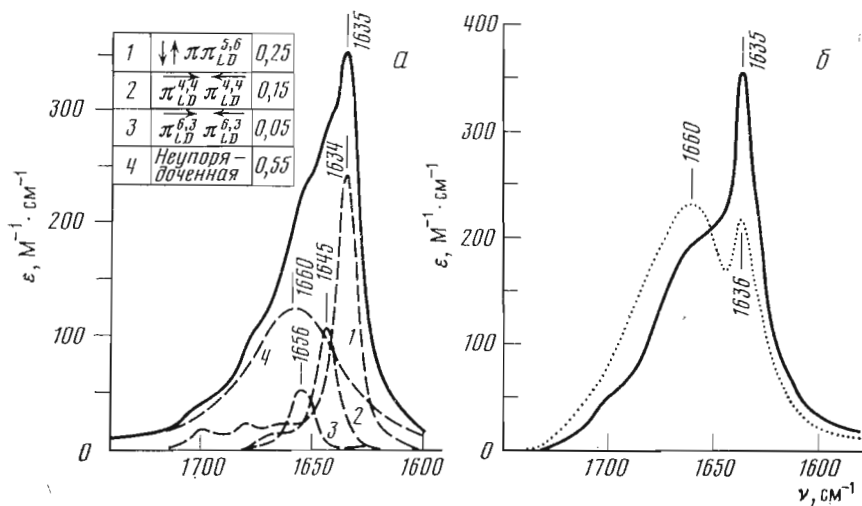


Рис. 3. ИК-спектры в области полосы Амид I аналога «голова к голове» ($n=2$) в диоксане при $c=2,1 \cdot 10^{-4}$ М (а), в этаноле (сплошная линия) и метаноле (пунктирная линия) при $c=2,3 \cdot 10^{-4}$ М (б), в 2-хлорэтанолe при $c=1,0 \cdot 10^{-3}$ М (в)

типа «голова к хвосту», позволит уменьшить конформационную гетерогенность пептидов. Однако данные КД- и ИК-спектров свидетельствуют о сложном характере конформационного равновесия, схематически представленного на рис. 5. Все бис-производные обнаруживают склонность к ассоциации. В ассоциатах присутствуют как одиночные, так и двойные спирали; у производных типа «голова к голове», кроме того, присутствует значительная доля неупорядоченных структур. Высокий процент двойных спиралей (60%) по сравнению с одиночными (30%) в аналогах «хвост к хвосту» (табл. 2) указывает на присутствие ассоциатов больших порядков, чем димер, но построенных по тому же принципу.

Мономерное состояние, преобладающее в диоксане при концентрации $< 10^{-5}$ М, характеризуется равновесием одиночных спиралей ($\overleftarrow{\pi}_{LD}\overleftarrow{\pi}_{LD}$, $\overleftarrow{\pi}_{LD}\overleftarrow{\pi}_{LD}$ или $\overleftarrow{\pi}_{LD}\overleftarrow{\pi}_{LD}$, в зависимости от положения мостика) и неупорядоченных конформеров. Спирали типа $\overleftarrow{\pi}_{LD}\overleftarrow{\pi}_{LD}$ и $\overleftarrow{\pi}_{LD}\overleftarrow{\pi}_{LD}$ ранее не наблюдались в пептидных системах, а лишь обсуждались теоретически [5, 13].

Спектры КД (рис. 4 и 7б) имеют отрицательные эффекты в области триптофанового хромофора при 228 нм, указывающие на левую закрученность соответствующих спиралей. Единственное исключение составляет ассоциат аналога «голова к голове», $n=2$ (рис. 4а). Аналогичная ситуация наблюдается и у грамицидина А, где как в мономерном, так и в димерном состоянии преобладают левые спирали.

Наиболее неожиданным результатом настоящей работы был тот факт, что при разбавлении растворов аналогов «голова к хвосту» наблюдалось

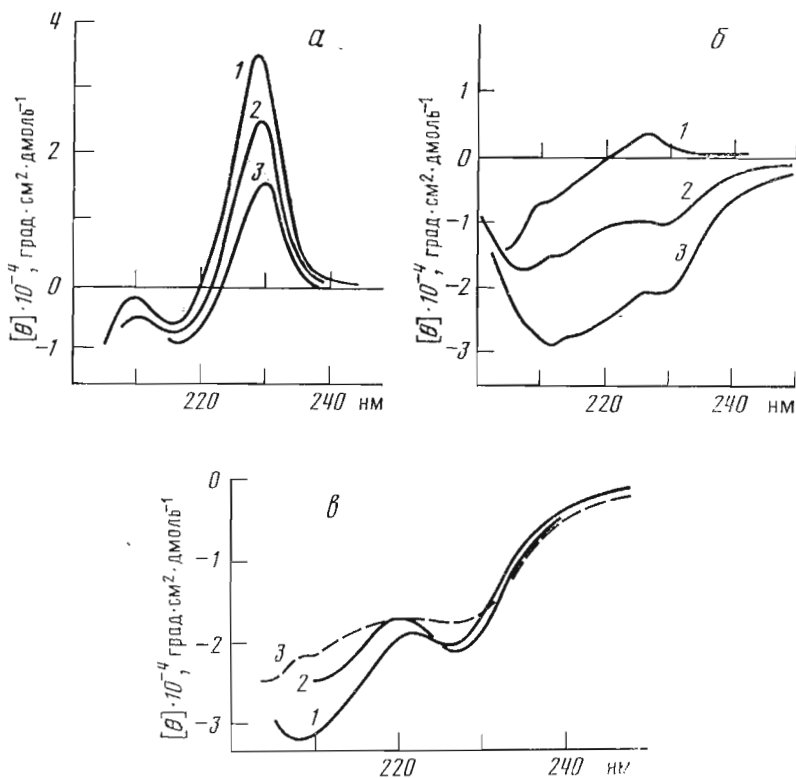


Рис. 4. Спектры КД (200–250 нм) аналога «голова к голове» ($n=2$): а – в диоксане при $c=10^{-3} - 2,1 \cdot 10^{-4}$ (1), $1,0 \cdot 10^{-3}$ (2), $2,0 \cdot 10^{-6}$ М (3), б – в 2-хлорэтанолe при $c=0,95 \cdot 10^{-2}$ (1), $3,0 \cdot 10^{-3}$ (2), $3,0 \cdot 10^{-4}$ М (3). в – спектр КД аналога с $n=4$ в диоксане при $c=2,0 \cdot 10^{-4}$ (1), $1,0 \cdot 10^{-5}$ (2) и в 2-хлорэтанолe при $c=0,95 \cdot 10^{-3}$ М (3)

падение содержания антипараллельных двойных спиралей, хотя, казалось бы, они должны быть еще более стабильными, чем в самом грамицидине А, где они и без того уже доминируют [2]. Анализ полученных данных приводит к выводу, что образование $\uparrow\downarrow\pi\pi_{LD}$ -спиралей в ряду бис-грамицидинов А (и, естественно, самого грамицидина А) является межмолекулярным процессом, для протекания которого необходимо обеспечить «сты-

Таблица 2

Конформации бис-грамицидинов по данным ИК-спектроскопии в диоксане

Соединение	Концентрация, М	Конформация и ее мольные доли			
		$\uparrow\downarrow\pi\pi_{LD}^{5,6}$	$\pi_{LD}^{4,4} \pi_{LD}^{4,4}$	$\pi_{LD}^{6,3} \pi_{LD}^{6,3}$	неупорядоченная форма
«Хвост к хвосту» $n=2, 3$	$(4,8-7,45) \cdot 10^{-4}$	0,60	0,30	0,10	—
	$(5,8-7,55) \cdot 10^{-5}$	0,35	0,40	—	0,25
«Голова к голове» $n=2, 4, 6$	$1,0 \cdot 10^{-3} - 2,5 \cdot 10^{-5}$	0,25	0,45	0,05	0,55
	$1,0 \cdot 10^{-3} *$	0,15	0,30	0,05	0,50
«Голова к хвосту» $n=1, 2$	$(1,0-1,2) \cdot 10^{-3}$	0,60	0,30	0,10	—
	$(0,5-1,1) \cdot 10^{-3}$	0,65	0,20	0,15	—
$n=1, 2$ $n=6$ $n=7$	$(3,3-5,0) \cdot 10^{-5}$	0,55	0,35	0,10	—
	$1,3 \cdot 10^{-4}$	0,15	0,25	0,15	0,45
	$2,5 \cdot 10^{-5}$	0,50	0,45	—	0,05

* 2-Хлорэтанол.

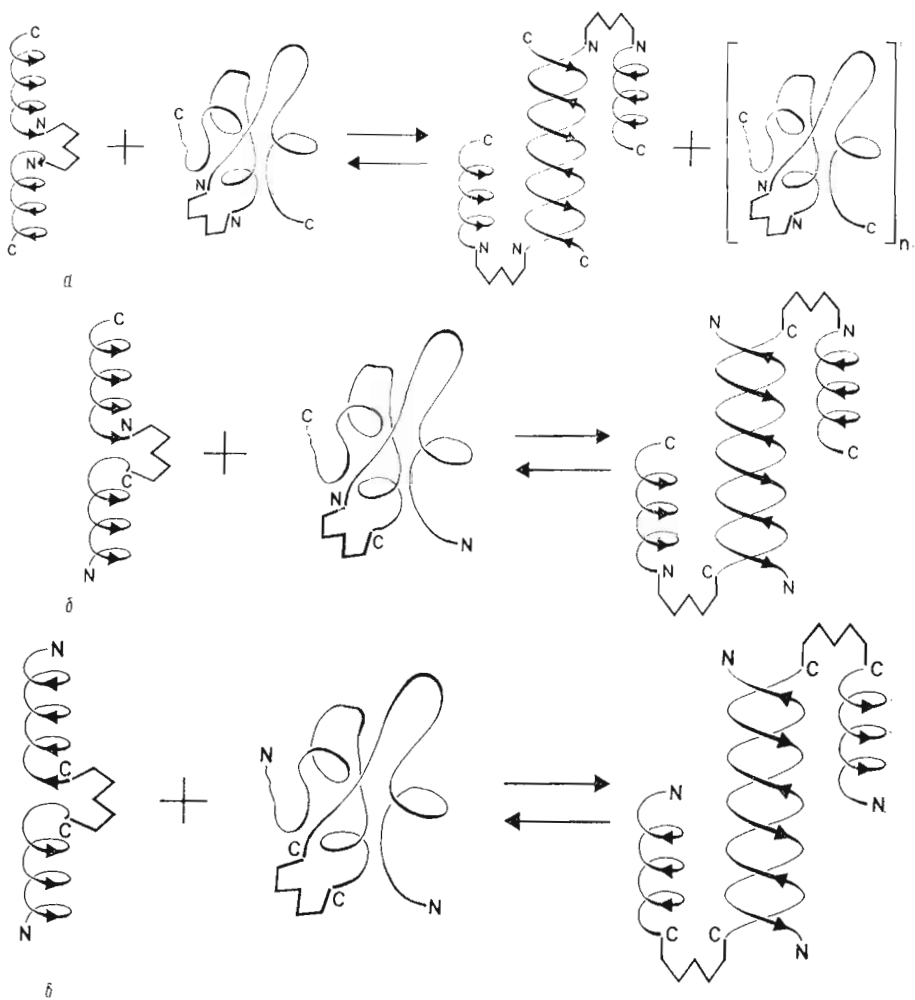


Рис. 5. Схема конформационного равновесия аналогов «голова к голове» (а), «голова к хвосту» (б) и «хвост к хвосту» (в) при низких (слева) и высоких (справа) концентрациях в диоксане

ковку» N- или C-концевых фрагментов грамицидина А. Развивая эту мысль, естественно предположить, что одиночные $\pi_{LD}\pi_{LD}$ - или $\pi_{LD}\pi_{LD}$ -спирали являются промежуточными формами при переходе от мономерного полипептида к $\uparrow\downarrow\pi_{LD}\pi_{LD}$ -димеру, а переход $\pi_{LD}\pi_{LD} \rightarrow \uparrow\downarrow\pi_{LD}\pi_{LD}$ происходит путем «вкручивания» одной π_{LD} -спирали в другую по так называемому «скользящему», или «зиппер» (от английского «zipper» — застежка-молния), механизму (рис. 8), включающему последовательную замену внутримолекулярных водородных связей на межмолекулярные, а также синхронное ступенчатое перераспределение большого числа межмолекулярных водородных связей (рис. 9).

Такой механизм в гипотетическом плане рассматривался Урри и сотр. еще в 1975 г. [14]. Отметим, что в пользу «зиппер»-механизма свидетельствует тот факт, что стабильность $\uparrow\downarrow\pi_{LD}\pi_{LD}$ -спирали сильно зависит от модификации N-конца молекулы. Например, равновесная константа димеризации D-Leu-[L-Val¹]грамицидина в неполярном растворителе на 2 порядка ниже, чем в самом грамицидине А, хотя доминирующей конформацией аналога остается $\uparrow\downarrow$ -двойная спираль [2]. Кроме того, реализация такого перехода может быть облегчена тем обстоятельством, что, по данным теоретического конформационного анализа [15], одной из наиболее низкоэнергетических структур грамицидина является π_{LD}^5 -спираль, промежу-

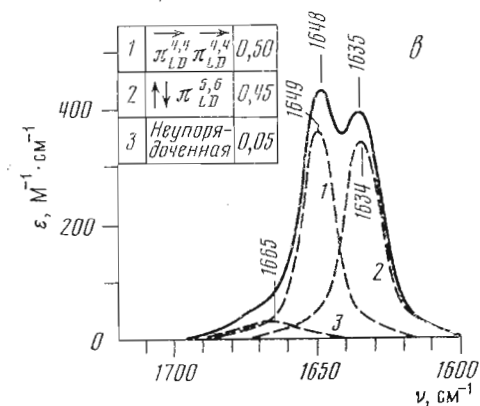
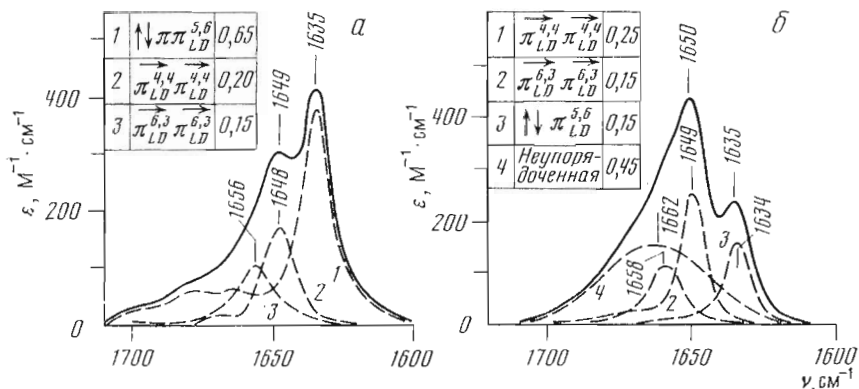


Рис. 6. ИК-спектры в области полосы Амид I аналога «голова к хвосту» ($n=6$) в диоксане при концентрации $1,1 \cdot 10^{-3}$ (а) и $1,3 \cdot 10^{-4}$ М (б) и аналога с $n=7$ при $c=2,5 \cdot 10^{-5}$ М (в). Спектры получены через 5 (б) и 9 сут (в) после разбавления раствора

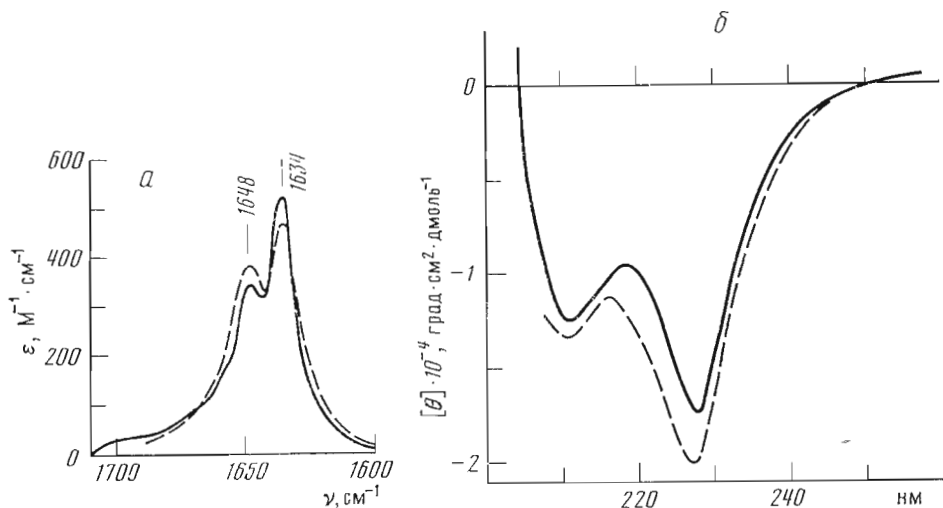


Рис. 7. ИК- (а) и КД- (б) спектры аналога «голова к хвосту» ($n=1$) в диоксане при $c=1,2 \cdot 10^{-3}$ (пунктир) и $1 \cdot 10^{-5}$ М (сплошная линия). Спектр получен через 5 сут после разбавления

точная между $\pi_{LD}^{4,4}$ и $\pi_{LD}^{6,3}$, не содержащая Н-связей и стабилизированная невалентными взаимодействиями.

При сравнении данных табл. 2 и рис. 5 по трем группам бис-производных обращает на себя внимание значительный процент «брака», т. е. неупорядоченных структур при ассоциации производных «голова к голове». По-видимому, «вкручивание» с С-конца протекает менее эффективно, чем с N-конца, что можно объяснить большим объемом С-концевой этано-

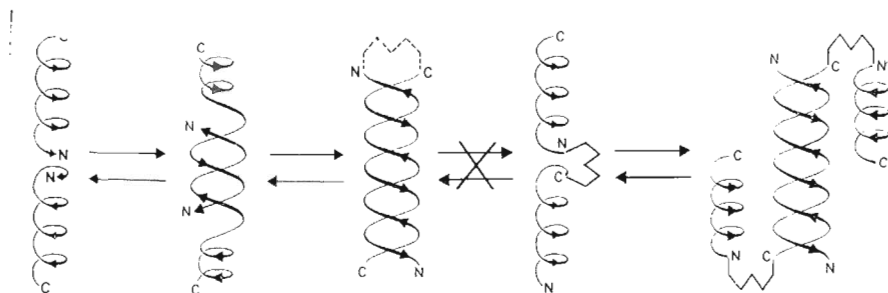


Рис. 8. «Заппер»-механизм образования антипараллельной двойной спирали в грамицидине А и его бис-производных «голова к хвосту». N и C – N- и C-концы полипептидной цепи

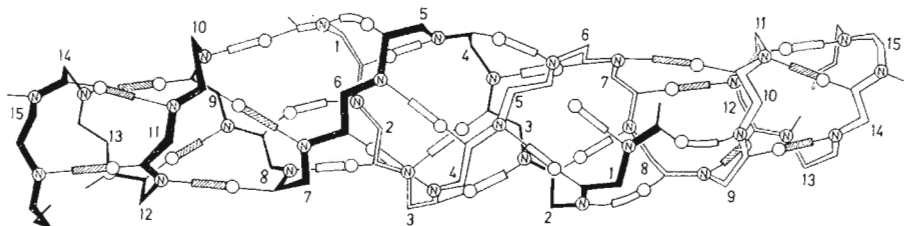


Рис. 9. Образование $14\pi_{LD}^{5,6}$ -спирали из двух $4\pi_{LD}^{4,4}$ -спиралей по «заппер»-механизму. Внутримолекулярные Н-связи $4\pi_{LD}^{4,4}$ -спиралей заштрихованы

ламидной группы, чем N-концевой формильной группы, и связанными с этим пространственными затруднениями.

Полученные результаты имеют прямое отношение к интерпретации мембранных свойств пептидов грамицидинового ряда. Эти аспекты рассмотрены в работах [16–19].

Экспериментальная часть

Метод синтеза и аналитические характеристики бис-грамицидинов приведены в работе [8].

Измерения спектров КД проводили на дихрографе Jobin Yvon III в кварцевых кюветах толщиной 0,01–5 мм. Значения молекулярной эллиптичности приводятся в расчете на один остаток.

ИК-спектры получали на спектрофотометре Perkin – Elmer 180 при разрешении 2–4 см^{-1} в кюветах из CaF_2 толщиной 0,1–1 мм и в кювете толщиной 2,60 мм из NaCl. Ошибка в определении положения максимума полосы была $\pm 0,2 \text{ см}^{-1}$.

Все приводимые в работе ИК- и КД-спектры получены в равновесных условиях, что контролировалось измерением спектров через разные промежутки времени после растворения пептидов.

Разложение сложного контура полосы Амид I на отдельные компоненты – теоретически рассчитанные спектры – выполняли на семиканальном разлагателе кривых СК-2. Разложение спектра считалось законченным, если разница между расчетным и экспериментальным спектром не превышала среднеквадратичной ошибки измерения молярного коэффициента поглощения в максимуме полосы. Поскольку ошибка в определении молярного поглощения ($\sim 50 \text{ M}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$) разбавленных растворов ($\leq 10^{-4} \text{ M}$) соответствует интенсивности слабых компонентов в рассчитанных спектрах, анализ контуров в этих случаях вели только на основании основных компонентов (частоты которых приведены в табл. 1). Точность определения таким способом доли различных конформеров была $\pm 5\%$.

В некоторых случаях при анализе наблюдаемых ИК-спектров бис-аналогов грамицидина А мы допускали частотный сдвиг рассчитанных спектров на 1–2 см^{-1} без изменения контуров полос (т. е. величин резонансного расщепления частот), что означает варьирование так называемых

мой невозмущенной частоты ν_0 [2, 9], определяющей абсолютное положение рассчитанного спектра по шкале частот. Небольшое варьирование невозмущенной частоты ν_0 обусловлено, в частности, варьированием растворителя [19]. Так, при анализе сложного контура полосы в 2-хлорэтанолу частота максимума полосы, отвечающей структуре $\overrightarrow{\pi_{LD}}\overleftarrow{\pi_{LD}}\overrightarrow{\pi_{LD}}\overleftarrow{\pi_{LD}}$ была взята равной 1645 см^{-1} (что соответствует положению полосы Амид I в наблюдаемом спектре) вместо рассчитанного значения 1647 см^{-1} (см. табл. 1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Veatch W. R., Fossel E. R., Blout E. R. *Biochemistry*, 1974, v. 13, p. 5249–5256.
2. Sychev S. V., Nevskaya N. A., Jordanov St., Shepel E. N., Miroshnikov A. I., Ivanov V. T. *Bioorgan. Chem.*, 1980, v. 9, p. 121–151.
3. Ramachandran G. N., Chandrasekaran R. In: *Progress in Peptid Research/Ed. Lande S. N. Y.: Gordon and Breach*, 1972, p. 195–215.
4. Ramachandran G. N., Chandrasekaran R. *Ind. J. Biochem. Biophys.*, 1972, v. 9, p. 1–11.
5. Urry D. W. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 672–676.
6. Urry D. W., Goodal M. C., Glicson J. D., Mayers D. F. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1971, v. 68, p. 1907–1911.
7. Colonna-Cesari F., Premilat S., Heitz F., Spach G., Lotz B. *Macromolecules*, 1977, v. 10, p. 1284–1288.
8. Фомина Л. А., Демина А. М., Сычев С. В., Иванов В. Т., Хлавачек Я. *Биоорганическая химия*, 1984, т. 10, № 8, с. 1073–1079.
9. Chirgadze Yu. N., Nevskaya N. A. *Biopolymers*, 1976, v. 15, p. 607–625.
10. Moore W. H., Krimm S. *Biopolymers*, 1976, v. 15, p. 2439–2464.
11. Painter P. C., Coleman M. M. *Biopolymers*, 1978, v. 17, p. 2475–2484.
12. Chirgadze Yu. N., Sheshtopalov B. V., Venyaminov S. Yu. *Biopolymers*, 1973, v. 12, p. 1337–1351.
13. Bradley R. J., Urry D. W., Okamoto K., Rapaka R. *Science*, 1978, v. 200, p. 435–437.
14. Urry D. W., Long M. M., Jacobs M., Harris R. D. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1975, v. 264, p. 203–220.
15. Попов Е. М., Липкин Г. М. *Мол. биол.*, 1979, т. 13, с. 363–376.
16. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. In: *Conformation in Biology/Eds Srinivasan R., Sarma R. H. Guilderland, N. Y.: Acad. Press*, 1982, p. 155–174.
17. Ivanov V. T. In: *Peptides 1982/Eds Blaha K., Malon P. Berlin – N. Y.: de Guyter*, 1983, p. 73–89.
18. Ivanov V. T., Sychev S. V. *Proc. of VIII Amer. Pept. Symp. Rockford, Illinois, Pierce Chem. Comp.*, 1984.
19. Susi H., Timasheff S. N., Stevens L. J. *Biol. Chem.*, 1967, v. 242, p. 5460–5466.

Поступила в редакцию
14.V.1984

CONFORMATIONAL STATES OF GRAMICIDIN A BIS-DERIVATIVES

SYCHEV S. V., FONINA L. A., IVANOV V. T.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

A series of covalently linked gramicidin A dimers in which the ends are joined by a bridge of variable length in the N-terminus to N-terminus, N-terminus to C-terminus and C-terminus to C-terminus fashion have been studied by IR and CD spectroscopy in dioxane and alcohols. All the bis-derivatives show in dioxane a strong tendency to form antiparallel double ($\uparrow\downarrow\pi\pi_{LD}$) helical aggregates. In the monomeric state (at higher dilution, i.e. at 10^{-5} M or low concentration) they predominantly form single-stranded helices ($\overrightarrow{\pi_{LD}}\overleftarrow{\pi_{LD}}$, $\overleftarrow{\pi_{LD}}\overrightarrow{\pi_{LD}}$ or $\overrightarrow{\pi_{LD}}\overrightarrow{\pi_{LD}}$ depending on the position of the cross-link). The behavior of the «N-terminus to C-terminus» analogues supports the «sliding» or «zipper» mechanism for $\uparrow\downarrow\pi\pi_{LD}$ -helices formation.