

양자화학적 계산에 의한 올리고펩티드 수화물의 구조분석

심재호

한라대학교 공과대학 신소재화학공학과

Conformational Analyses for Hydrated Oligopeptides by Quantum Chemical Calculation

Jae-Ho Sim

Department of Advanced Material and Chemical Engineering, Halla University

요 약 이성질체의 형태는 수용액 상태에서 종종 안정성과 반응성 등의 기본상태 뿐만 아니라 사슬성장 및 접힘 과정으로 인하여 형태형성에 영향을 주기 때문에 올리고펩티드의 형태를 이해하는 것이 중요하다. 본 논문에서는 L-알라닌(LA), 글리신(G) 5량체 모델의 무수 및 수화물(수화율; h/1) 상태의 구조와 에너지를 4가지 형태이성질체 (베타-확장형;= t-/t+, PP_{II}형; g-/t+, PP_{II}-유사형; g-/g+ 및 알파-나선형; g-/g-)에 대하여 B3LYP/6-31G(d,p)를 이용하여 양자화학계산(QCC) 방법으로 분석하였다. 구조최적화는 밀도함수 이론(DFT)으로써 B3LYP를 사용하였으며, 기본설정(Basic set)으로는 6-31G(d,p)를 이용하였다. 이미노 양성자(NH)를 갖는 LA와 G에서 베타-확장형, PP_{II}-유사형, 알파-나선형의 3가지 형태가 얻어졌으며, 대부분 물 분자가 PP_{II}-유사형과 알파-나선형에서는 CO-HN 분자 내 수소결합 사이에 주로 삽입되었고, 베타-확장형은 CO기에 부착되었다. 또한, LA와 G에서 PP_{II}-유사형 형태이성질체가 무수 및 수화물 상태에서 가장 안정적이었으며, PP_{II} 형태이성질체는 얻어지지 않았다. LA에 대한 결과는 알라닌 올리고펩티드의 안정적인 형태가 주로 PP_{II}라고 보고한 다른 연구의 실험적 및 이론적인 결과와는 상이했다. 올리고펩티드 형태이성질체의 생성패턴과 안정성이 CO-HN의 분자 내 수소결합의 존재 여부 또는 출발 아미노산 내 NH₂기의 존재 여부에 강한 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

Abstract The structures and energies of the anhydrate and hydrate (hydrate rate: h of 1) states of L-alanine (LA) and glycine (G) were calculated by quantum chemical calculations (QCCs) using B3LYP/6-31G(d,p) for four types of conformers (β -extended: $\phi/\psi = t-/t+$, PP_{II}: g-/t+, PP_{II}-like: g-/g+, and α -helix: g-/g-). In LA and G, which have an imino proton (NH), three conformation types of β -extended, PP_{II}-like, and α -helix were obtained, and water molecules were inserted mainly between the intra-molecular hydrogen bond of CO...HN in PP_{II}-like and α -helix, and attached to the CO group in β -extended. In LA and G, PP_{II}-like conformers were most stable in the anhydrate and hydrate states, and the result for LA was different from some experimental and theoretical results from other studies reporting that the main stable conformation of alanine oligopeptide was PP_{II}. The formation pattern and stability of the conformation of the oligopeptide was strongly dominated by the presence/absence of intra-molecular hydrogen bonding of CO...HN, or the presence/absence of an NH₂ group in the starting amino acid.

Keywords : Quantum Chemical Calculation, Conformation, Hydrated oligopeptide, Intra-molecular, Hydrogen Bond

1. 서론

기체 또는 수용액 상태에서 올리고펩티드의 형태에

대한 많은 실험적, 이론적 연구가 보고되었다. 예를 들어, Shi *et al.*[1]은 이성질체의 형태는 수용액 상태에서 종종 안정성과 반응성 등의 기본상태 뿐만 아니라, 사슬

본 논문은 한라대학교 교비 학술연구 지원과제(2016)로 수행되었음.

*Corresponding Author : Jae-Ho Sim(Halla Univ.)

Tel: +82-33-760-1494 e-mail: jhsim@halla.ac.kr

Received April 24, 2018

Revised June 1, 2018

Accepted July 6, 2018

Published July 31, 2018

Table 1. Anhydrate pentamer models

No	Type	Molecular formula	Molecular weights
LA	L-alanine pentamer	CH ₃ CO-[NHC ^α H(CH ₃)CO] ₅ -NHCH ₃	428.56
G	glycine pentamer	CH ₃ CO-[NHCH ₂ CO] ₅ -NHCH ₃	358.41

성장 및 접힘 과정으로 인하여 형태형성에 영향을 주며, ¹H-NMR로부터 알려진 7량체가 지배적으로 폴리프롤린 II 나선형 형태를 가진다는 것을 보고하였다. 또한, Eker *et al.*[2-3]과 Graf *et al.*[4]은 실험적 연구를 통해 수용액 내 알려진 3량체가 PP_{II}-나선형 및 β-확장형 형태를 혼합하여 가지고 있음을 보고 하였다. Kentsis *et al.*[5] 등은 알려진 7량체 및 14량체에 대한 MD(분자동역학) 연구에 관하여 보고하였다.

선행연구[6]에서 QCC계산을 이용한 알려진 2량체 모델로부터 시작한 수렴 계산으로부터 L-알라닌 5량체(LA)의 무수물은 안정도 순으로 수축 폴리프롤린 II(이하, PP_{II}-유사형), α-나선형, β-확장형 형태이성질체를 갖는다는 것을 확인하였다. 또한, 이러한 3종류의 안정한 형태이성질체에 대하여 밀도함수이론 B3LYP/6-31G(d,p) 방법을 통한 QCC 계산에서 2, 3, 6개의 물 분자를 가진 LA의 구조 및 결합에너지를 계산하였고, 무수물 상태에서 가장 안정한 PP_{II}-유사형 형태이성질체가 수화물 상태에서도 가장 안정한 형태이성질체임을 발견하였으며, PP_{II}형은 얻어지지 않았다[7].

본 논문에서는 LA의 형태이성질체의 안정성을 비교하기 위해 LA 및 LA와 같은 펩티드기 사이에 분자 내 수소결합을 갖는 글리신 5량체(G)의 수화물 및 무수물에 대하여 QCC에 의한 형태분석을 수행하였다.

물 분자 0개(무수물) 및 6개(수화물)를 갖는 상기 2종류의 5량체에 대하여 밀도함수이론을 이용한 구조 최적화를 통해 구조와 에너지를 조사하였고, 펩티드기 사이의 수소결합과 물 분자에 대하여도 논의하였다.

2. 양자화학적 계산(QCC)

2.1 무수물 모델

양자화학적 계산의 무수물 모델로써는 LA 및 G의 5량체 모델의 4종류의 형태 (β-확장형: φ_n/ψ_n = t-/t+, PP_{II}형: g-/t+, PP_{II}-유사형: g-/g+, α-나선형: g-/g-)를 사용하였다. φ_n/ψ_n은 CN-CαC/NCa-CN 결합마다 반복되

Table 2. Dihedral angles designated for each conformation

No.	Type(φ/ψ)	(χ _n /φ _n /ψ _n) _{n=1-5} (°) ^a
β	β-extended(t-/t+)	177/-160/164
PP _{II}	PP _{II} (g-/t+)	-180/-60/140 [4]
P-like	PP _{II} -like(g-/g+)	-174/-85/69
α	α-helix (g-/g-)	-178/-72/-14

^aThe(χ_n/φ_n/ψ_n)_{n=1-5} is the combinations of dihedral angles(τ_n) repeated for the unit of (C^αC-NC^α)/(CN-C^αC)/(NC^α-CN) bonds.

는 2면각(τ_n)의 결합을 나타내고, 그 형태는 IUPAC 규칙[8]에 따라 trans(t±)의 τ_n이 ±120°에서 ± 180°, gauche(g±)의 τ_n은 ±0°에서 ±120°로 하였다.

φ_n/ψ_n(n=5)의 종류는 φ_n/ψ_n(n=1-5)의 평균값을 이용하여 trans는 t/t로, gauche는 g/t, t/g, g/g로 하였다. Table 1 및 2는 각 모델의 분자식과 구조를 나타내었다. β-확장형, PP_{II}-유사형, α-나선형의 (χ_n/φ_n/ψ_n)_{n=1-5} 값은 5량체에 대해 알려진 2량체 모델에서 수렴계산[6]으로 구한 값을 사용하였다. PP_{II}의 (χ_n/φ_n/ψ_n)_{n=1-5} 값에 대해서는 Graf, *et al.*[4]가 보고한 값을 이용하였다. 또한, 아세틸(CH₃CO-) 및 메틸아미노(-NHCH₃)기를 아미노 및 카복실 말단의 말단기로 각각 이용하였다.

2.2 수화물 모델

수화물 모델은 기본적으로 펩티드기(CONH) 내 산소 원자 주변에 물 분자를 위치시켜 각 무수물 모델에 최적화된 구조를 이용해 만들었다.

CONH의 O와 H₂O의 H간 비 부착 길이인 d_{O-H}를 1.5Å로 설정하였으며, 수화물(h)은 H₂O/CONH로 정의하였다.

수화물 모델의 물 분자의 값과 위치는 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Hydrate pentamer models

Number of water: N _w	Hydration rate: h	Locations of water, to O ⁿ of CO group ^a
6	1.00	O ⁰ ,O ¹ ,O ² ,O ³ ,O ⁴ ,O ⁵

^aEach water molecule (HO-H) was located to an oxygen atom (Oⁿ) of CO group with d_{H-O}=1.50Å, Oⁿ (n=0-5): CH₃CO⁰-(NHC^αCO¹-NHC^αCO²-NHC^αCO³-NHC^αCO⁴-NHC^αCO⁵)-NHCH₃

2.3 구조 최적화

QCC를 통해 각 모델에 대한 구조최적화 분석은 “Gaussian 03W”(Gaussian Inc.) 소프트웨어[9]를 이용하였다. 구조최적화는 밀도함수이론(DFT)으로써 B3LYP를

사용하였으며, 기본설정(Basic set)으로는 6-31G(d,p)를 이용하였다. 최적화된 구조에 대한 에너지(E: HF, 1 Hartree = 627.51 kcal/mol) 및 2면각, 분자길이, 수소결합 등의 구조 파라미터를 얻었다. 그 형태는 “무수물 모델”절에 언급한바와 같이 결정하였다. 분자 길이는 L(Å)로 정의하였고, L은 N말단의 N원자 및 C말단(CO)의 C원자간 비 부착 길이를 나타낸다. CO/NH(분자내) 수소결합 길이는 계산 결과에 따라 $d_{O-H}(d_{OH} \leq 2.30 \text{Å})$ 로 정의하였다.

2.4 결합에너지(Ea)의 계산

수화된 LA 및 G 5량체 모델의 생성에너지 (이하 총 에너지: Et) 와 물 분자의 생성에너지 (Ew, 수소 결합 또는 비 수소 결합 시스템 내)간의 결합에너지(Ea)는 아래의 식(1) 및 (2)에 의하여 계산하였다[10-11].

$$E_a = E_t - \sum E_w \quad (1)$$

$$\sum E_w = \sum E_w(n) + \sum E_w(h) \quad (2)$$

여기서, $\sum E_w$ 는 물 분자의 총 생성에너지이며, $\sum E_w(n)$ 와 $\sum E_w(h)$ 는 각각 비 수소 결합 및 수소결합 내 물 분자의 총 생성에너지를 나타낸다. 그 값은 B3LYP/6-31G(d,p) 방법으로 계산하였다. 물 분자 간 수소결합의 생성은 물 분자 간 비 결합 O...O길이(d_{O-O})로 확인하였다. 물 2량체의 O...O길이(d_{O-O})는 참고문헌에 의하면, 균일한 얼음에서 2.74Å, 액체에서 2.85Å[12], 증기에서 2.98Å[13-14]를 참고하여, 수소 결합 물 분자 내 d_{O-O} 값은 3Å 보다 낮게 설정하였다. 이에 따라 비 수소 결합된 물 분자 내 d_{O-O} 값은 3Å 보다 높게 설정되었다. $E_w(n)$ 및 $E_w(h)$ 는 각각 물 분자 내 비 수소 및 수소 결합된 n개의 물 분자에 대한 모델을 이용해 계산하였고, Table 4에 계산된 $E_w(n)$ 및 $E_w(h)$ 값을 나타내었다.

Table 4. Energies(E_w , HF) of water molecules calculated by B3LYP/6-31G(d,p)

N^a	$E_w(n)^b$	$E_w(h)^c$
1	-76.4197	-
2	-152.8394	-152.8489
3	-229.2591	-229.2810
4	-305.6788	-305.714
5	-382.0985	-382.1482
6	-458.5182	-458.5824

^a Number of water molecules.

^b Energies of non-hydrogen bonded water molecules.

^c Energies of hydrogen-bonded(linearly) water molecules (d_{O-O} :2.71~2.85Å).

2.5 CPCM(Conductor-like Polarizable Continuum Model)의 계산

물의 상대적인 유전율($\epsilon=78.39$)을 사용하여 B3LYP/6-31G(d,p)를 기본으로 LA의 무수물 형태이성질체 모델의 CPCM 계산을 수행하였다[9]. 구조최적화시에 빈도수 계산에서 허수가 나오지 않는 것을 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 L-알라닌 5량체(LA)

3.1.1 구조 및 에너지 분석

서론에서 언급한 바와 같이 몇몇 연구에서 알라닌 올리고머의 주요 형태는 기체 및 수용액 상태에서 $PP_{II}(\phi/\psi=g-/t+)$ 라고 보고 되어 진 바가 있다[1-5]. 반면 선행 연구[7]에서는, PP_{II} -유사형($\phi/\psi = g-/g+$) 형태이성질체가 무수물 및 수화물 상태에서 가장 안정적 이었으며 PP_{II} 형태이성질체는 얻어지지 않았다.

Fig. 1은 무수물($h=0$)과 수화물($h=1$) 상태의 LA의 β -확장형, PP_{II} -유사형, α -나선형 형태이성질체의 최적화된 구조를 나타낸다.

무수물 및 수화물에서 PP_{II} 형태이성질체는 얻어지지 않았다. 이에 대해서는 뒤에서 자세히 설명하였다. CO/NH(분자 내 수소결합), CO/H₂O, H₂O/H₂O의 수소결합 길이(d_{H-O})는 각각 1.99~2.30Å, 1.77~1.92Å, 1.72~1.80Å 이었다.

Fig. 1에서와 같이 α -나선을 제외하고 각각의 물 분자는 돌출된 CO기 주변 사슬의 바깥에 위치하였다 ($h=1$ 에서 사슬 축).

Fig. 1에 나타낸 바와 같이 무수물 β -확장 형태이성질체는 C=O...HN(CO/NH) 수소결합을 포함하는 5개의 5원자 고리를 가졌다. 물 분자가 추가되었을 때 5번째 고리(물 분자와 9원자 고리)를 제외하고 카르보닐 산소에 부착되어 C=O...HOH(CO/H₂O) 수소결합을 만드는 물 분자와 5원자 고리는 변화가 없었다. 반면, 무수물 PP_{II} -유사형 형태이성질체는 CO/NH 수소결합을 포함하는 5개의 7원자 고리를 가졌다. 물 분자가 추가되었을 때, 각각의 7원자 고리는 C=O...H(OH)...HN(CO/H₂O+NH/H₂O)의 2개의 수소결합을 생성하여 9원자 고리로 변형되었다.

CO/NH 수소결합이 포함된 수화된 모든 10원자 고리는 사라진 반면, 무수 α -나선형 형태이성질체는 CO/NH

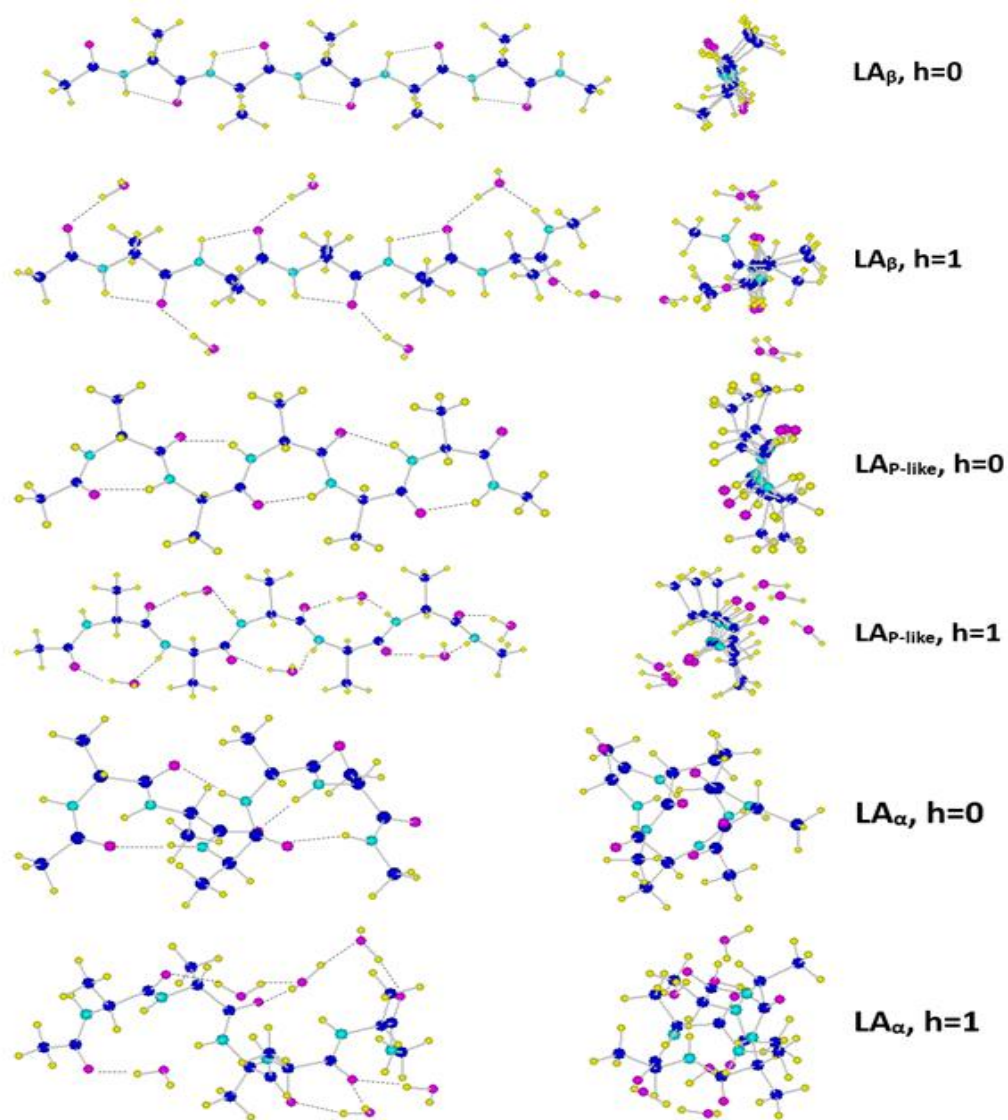


Fig. 1. Structures of L-alanine pentamers(LA) calculated by B3LYP/6-31G(d,p). Left and right figures show the stereo oblique and chain axis projections, respectively. In right side, “P-like” of subscript mean PP_{II} -like conformer. Each hydrogen bond(---) in left figures is shown for CO/NH (intra-molecular hydrogen bonds having 1.99~2.30 Å of d_{O-H}), CO/H₂O(d_{O-H} =1.77~1.92 Å), NH/H₂O (d_{H-O} =1.84~1.96Å), and H₂O/H₂O(d_{H-O} : 1.72~1.80Å).

수소결합을 포함하는 4개의 10원자 고리를 갖고, C=O···HOH···O=C, NH···(OH)H···(OH)H···O=C 그리고, NH···(OH)H···(OH₂)···HN형 수소결합을 갖는 9원자 고리가 생성되었다[7]. 이러한 결과는 β-확장형을 제외한 수화된 형태이성질체가 C=O···HN 결합사이에 물 분자를 삽입하여 더 큰 고리를 갖는다는 것을 나타낸다.

Table 5는 β-형태이성질체 및 각각의 최적화된 형태이성질체 간 평균 ϕ_n/ψ_n 값, 수소결합 수($N_{CO/NH}$ 및 N_{CO/H_2O}), 분자길이, 생성(h=0) 또는 결합(h=1) 에너지를 나타낸다.

Table 5에서 나타낸 바와 같이 PP_{II} 를 지정된 타입 (Designated Type)으로 설정하여 최적화 하였을 때, 무

Table 5. QCC results for L-alanine pentamers(LA)

Designated	h = 0 (N _w =0, anhydrate)					h = 1 (N _w =6, hydrate)					
	Optimized	H-bonds ^a		Formation energy		Optimized	H-bonds ^a		Association energy		
type(φ/ψ)	type[φ/ψ,Av(°)]	N _{CO/NH}	L(Å) ^b	E(HF)	ΔE ^c	type [φ/ψ,Av(°)]	N _{CO/NH}	N _{CO/H₂O}	L(Å) ^b	E _a (HF)	E _s ^c
β (t-t)	β [-160/169]	5	16.73	-1485.2273	0.00	β [-145/150]	5	6(1)	16.45	-1485.3282	-12.7
PP _{II} (g-/t+)	β [-160/169]	5	16.73	-1485.2273	0.00	P-like ^d [-100/105]	0	6(5)	15.16	-1485.3493	-15.3
P-like ^d (g-/g+)	P-like ^d [-84/68]	5	3.81	-1485.2351	-0.98	P-like ^d [-108/110]	0	6(5)	15.24	-1485.3574	-16.3
α (g-/g-)	α [-74/-11]	4	10.05	-1485.2334	-0.77	P-like ^d [-106/14]	0	7(4)	10.84	-1485.3499	-15.4

^a N_{CO/NH} and N_{CO/H₂O} are the number of hydrogen bonds in CO/NH(intra-molecular, d_{OH}:1.99~2.30Å) and CO/H₂O(d_{OH}: 1.77~1.92Å), respectively.

The values in () are the number of hydrogen bonds due to the insertion of water molecules between NH and CO groups.

^b L: Non-bonding distances between N atom in N-end(NH) and C atom in C-end(CO).

^c ΔE, ΔE_a: kcal/mol/mu(mu: monomer unit). The ΔE and ΔE_a values were calculated based on the value of β at h = 0.

^d P-like: PP_{II}-like.

수물 상태에서는 β-확장형으로, 수화물 상태에서는 PP_{II}-유사형으로 변형되었으며, PP_{II} 형태이성질체는 얻을 수 없었다. N_{CO/NH}는 CO/NH형 수소결합의 수를 나타내며, 무수물에서 모든 종류 형태의 수소결합 수(N_{CO/NH})는 4 또는 5이고, 각 펩티드기는 분자 내 수소결합에 의해 결합되었다. β-확장형을 제외하고는 수화물의 수소결합 수(N_{CO/NH})는 감소하였다. N_{CO/H₂O}는 CO/H₂O형 수소결합의 수를 나타내며, 팔호안의 숫자는 NH 및 CO기 사이의 물 분자 삽입에 의한 수소결합의 수를 나타낸다.

Table 5 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 β-확장형을 제외하고 CO와 NH기 사이에 물 분자가 삽입되었다. 물 분자가 β-확장형 형태이성질체 내 CO/NH 수소결합을 통과하기 어려운 이유는 CO/NH 수소결합이 Fig. 1에 보이는 안정한 5원자 고리로 이루어졌기 때문이다. β-확장형을 제외하고 수화물의 φ_n/ψ_n 평균값 및 분자길이(L)는 무수물에 비해 커졌다.

이 결과는 물 분자가 삽입된 분자 내 수소결합으로 인하여 수화된 PP_{II}-유사형 및 α-나선형 형태이성질체의 구조가 확대되었음을 나타낸다. 수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체(φ/ψ = -108°/110°)의 구조는 PP_{II}(φ/ψ=-60°~-120°/120°~ 180°)와 가까웠다.

물 분자의 삽입으로 h=1에서 α-나선형 형태이성질체(φ/ψ=-74°/-11°)가 PP_{II}-유사형 형태이성질체(φ/ψ=-106°/14°)로 변형된 것이 특징적이다.

올리고머와 물 분자 간 결합에너지의 지표인 결합에너지(E_a)는 식(1) 및 (2)를 이용해 총 생성에너지(E_t)에서 물의 생성에너지(E_w)를 뺀 값으로 정의하였다[12]. 주로 물 분자의 생성에너지 때문에 수화에 의해서 총 생성에너지(E_t)가 감소되었다. Table 5와 같이 무수물 및 수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체는 각각 최소 상대 생성에너지 ΔE=-0.98 kcal/mol/mu 와 결합에너지 ΔE_a=

-16.3 kcal/mol/ mu를 나타냈다. h=0 및 1에서 β-확장형 형태이성질체의 높은 에너지를 약한 수소결합으로 설명할 수 있다.

물 분자 사이의 수소결합은 수화된 α-나선형 형태이성질체에서만 발견되었다(Table 1. LAα, h=1). 물 분자 간 수소결합의 생성은 펩티드 및 물 분자 간 수소결합의 세기를 저하시킨다[7-13].

3.1.2 CPCM 결과와의 비교

올리고머의 구조 및 생성에너지에 대한 용매 효과는 보통 SCRf(Self-Consistent Reaction Field) [14-15]와 상대 유전율(ε)에 기반 한 PCM (Polarizable Continuum Mode) [16] 방법으로 예상할 수 있다. Table 6에 CPCM 방법(ε=78.39)으로 얻은 결과를 나타내었다[10-11].

기체(ε=1)에서 가장 안정된 형태는 PP_{II}-유사형(ΔE=-0.98 kcal/mol/mu)이다. 지정된 타입인 PP_{II}는 PP_{II}-유사형으로 변형되었고, 그 구조와 에너지는 최적화된 PP_{II}-유사형의 값과 동일했다. 지정된 타입인 PP_{II}는 물속에서 그 형태를 유지하였다. 이는 분자 내 수소결합이 없는 PP_{II}가 극성 용매 내에서 안정화된 것을 나타낸다. 그러나 이는 4종류 중 가장 불안정하였다. QCC 계산(표 5)에 따른 물속에서 가장 안정한 형태는 PP_{II}-유사형인 반면 CPCM에 따른 물속에서 가장 안정한 형태는 α-나선형(ΔE=-5.25 kcal/mol/mu)이다. 이러한 차이의 한 가지 유력한 원인은 CPCM 계산에서는 용매 분자의 구조 효과가 무시되기 때문이다. 이는 Table 6에서 보는 바와 같이 CPCM에서 같은 형태 내에서 기체와 물 사이의 N_{CO/NH}의 값은 PP_{II}를 제외하면 변화가 없었으나, QCC 계산에서는 β-확장형 제외하고 5에서 0으로 변화가 크게 나타났다.

Table 6. CPCM results for LA by B3LYP/6-31G(d,p)

Designated type (ϕ/ψ)	e = 1.0 (gas)					e = 78.39 (water)				
	Optimized structure			Formation energy		Optimized structure			Formation energy	
	Type [$\phi/\psi, Av(^{\circ})$]	$N_{CO/NH}^a$	L(\AA) ^b	E(HF)	ΔE^c	Type [$\phi/\psi, Av(^{\circ})$]	$N_{CO/NH}^a$	L(\AA) ^b	E(HF)	ΔE^c
β (t-/t)	β [-160/171]	5	16.73	-1485.2273	0.00	β [-158/162]	5	16.70	-1485.2562	-3.63
PP _{II} (g-/t+)	P-like [-84/68]	5	13.81	-1485.2351	-0.98	PP _{II} [-69/153]	0	14.58	-1485.2440	-2.10
P-like ^d (g-/g+)	P-like [-84/68]	5	13.81	-1485.2351	-0.98	P-like [-85/66]	5	13.76	-1485.2607	-4.19
α (g-/g-)	α [-74/-11]	4	10.05	-1485.2334	-0.77	α [-70/-17]	4	9.91	-1485.2691	-5.25

^a $N_{CO/NH}$ is the number of hydrogen bonds in CO/NH(intra-molecular, d_{O-H} : 1.99–2.30 \AA)

^b L: Non-bonding distances between N atom in N-end(NH) and C atom in C-end(CO).

^c ΔE (kcal/mol/mu) is energy per a molecular unit, and was calculated to E of β (e = 1.0).

^d P-like: PP_{II}-like.

Table 7. QCC results for glycine pentamers(G) by B3LYP/6-31G(d,p)

Designated type (ϕ/ψ)	h=0 (Nw=0, anhydrate)					h=1 (Nw=6, hydrate)					
	Optimized	H-bonds ^a		Formation energy		Optimized	H-bonds ^a		Association energy		
	type [$\phi/\psi, Av(^{\circ})$]	$N_{CO/NH}$	L(\AA) ^b	E(HF)	ΔE^c	type [$\phi/\psi, Av(^{\circ})$]	$N_{CO/NH}$	N_{CO/H_2O}	L(\AA) ^b	E_a (HF)	ΔE_a^c
β (t-/t)	β [-180/180]	5	16.88	-1288.6296	0.00	β [-178/179]	3	6(2)	16.78	-1288.7172	-11.0
PP _{II} (g-/t+)	β [-180/180]	5	16.88	-1288.6296	0.00	(Error terminated)					
P-like ^d (g-/g+)	P-liked[-81/62]	5	13.88	-1288.6351	-0.69	P-liked[-105/115]	0	6(5)	15.38	-1288.7548	-15.7
α (g-/g-)	α [-72/-35]	4	10.14	-1288.6340	-0.55	(Error terminated) ^e					

^a $N_{CO/NH}$ and N_{CO/H_2O} are the number of hydrogen bonds in CO/NH(intra-molecular, d_{O-H} : 1.99–2.30 \AA) and CO/H₂O(d_{O-H} : 1.77–1.92 \AA), respectively. The values in () are the number of hydrogen bonds due to the insertion of water molecules between NH and CO groups.

^b L: Non-bonding distances between N atom in N-end(NH) and C atom in C-end(CO).

^c ΔE , ΔE_a : kcal/mol/mu(mu: monomer unit). The ΔE and ΔE_a values were calculated based on the value of β at h = 0.

^d P-like: PP_{II}-like.

^e The optimization encountered an “error termination,” and a water molecule was detached from the oligopeptide(see Fig. 2).

3.2 글리신 5량체(G)

3.2.1 구조 및 에너지 분석

이미노 양성자(NH)를 갖는 글리신 5량체(G)에 대해 L-알라닌 5량체(LA)와 같이 동일한 방법을 이용하여 QCC 분석을 수행하였다.

Fig. 2는 무수물 및 수화물 내에서 G의 β -확장형, PP_{II}-유사형, α -나선형의 최적화된 구조를 나타낸다. 뒤에 자세히 설명하듯 무수물 및 수화물에서 PP_{II} 형태이성질체는 얻어지지 않았다. 물 분자의 위치는 그림의 우측부분에 나타내었다(h=1에서 사슬 축). LA에서와 같이 α -나선형을 제외하고 각각의 물 분자는 돌출된 CO기 주변의 사슬 밖에 위치하였다.

G는 LA에서와 동일하게, 무수물 β -확장형 형태 이성질체로써 C=O...HN(CO/NH) 수소결합을 포함하는 5개의 5원자 고리를 가졌다. 물 분자가 추가될 때 4번째 고리(2개의 물 분자를 포함한 11원자 고리) 및 5번째 고리(1개의 물 분자를 포함한 7원자 고리)를 제외하고 C=O...HOH (CO/H₂O) 수소결합을 생성하기 위해 물 분자가 카르보닐 산소에 부착되었고 5원자 고리는 변경되지 않았다. 무수 PP_{II}-유사형 형태이성질체는 CO/NH 수

소결합을 포함한 5개의 7원자 고리를 가졌으며, LA에서와 같이 각 7원자 고리는 2개의 수소결합을 포함한 물 분자(CO/H₂O+H₂O/NH)를 더하여 9원자 고리로 변형되었다.

LA에서와 같이 무수 α -나선형 형태이성질체는 CO/NH 수소결합을 포함하는 4개의 10원자 고리를 가졌다. 6개의 물 분자를 갖도록 지정된 α -나선 형태의 최적화는 “오류 종결”이 되고 물 분자는 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 올리고펩티드에서 분리되었다.

Table 7에 G에 대한 QCC 결과를 나타내었다. 무수물에서 PP_{II} 형태이성질체는 얻어지지 않았으며 LA에서와 마찬가지로 지정된 PP_{II}는 최적화 후 β -확장형으로 변형되었다.

수화된 PP_{II}와 α -나선형 형태이성질체는 최적화 과정의 “오류 종결”로 인해 얻어지지 않았다. “오류 종결”의 원인이 분명하지는 않지만 무수물 G의 확장된 구조에 관련이 있을 것이다.

결사슬에 메틸기가 없는 무수물 G는 LA 대비 확장된 ψ 값을 가진다. [β -확장형: $\psi=180^{\circ}$ (LA: $\psi=169^{\circ}$, Table 5), α -나선: $\psi=-35^{\circ}$ (LA: $\psi=-11^{\circ}$, Table 5)].

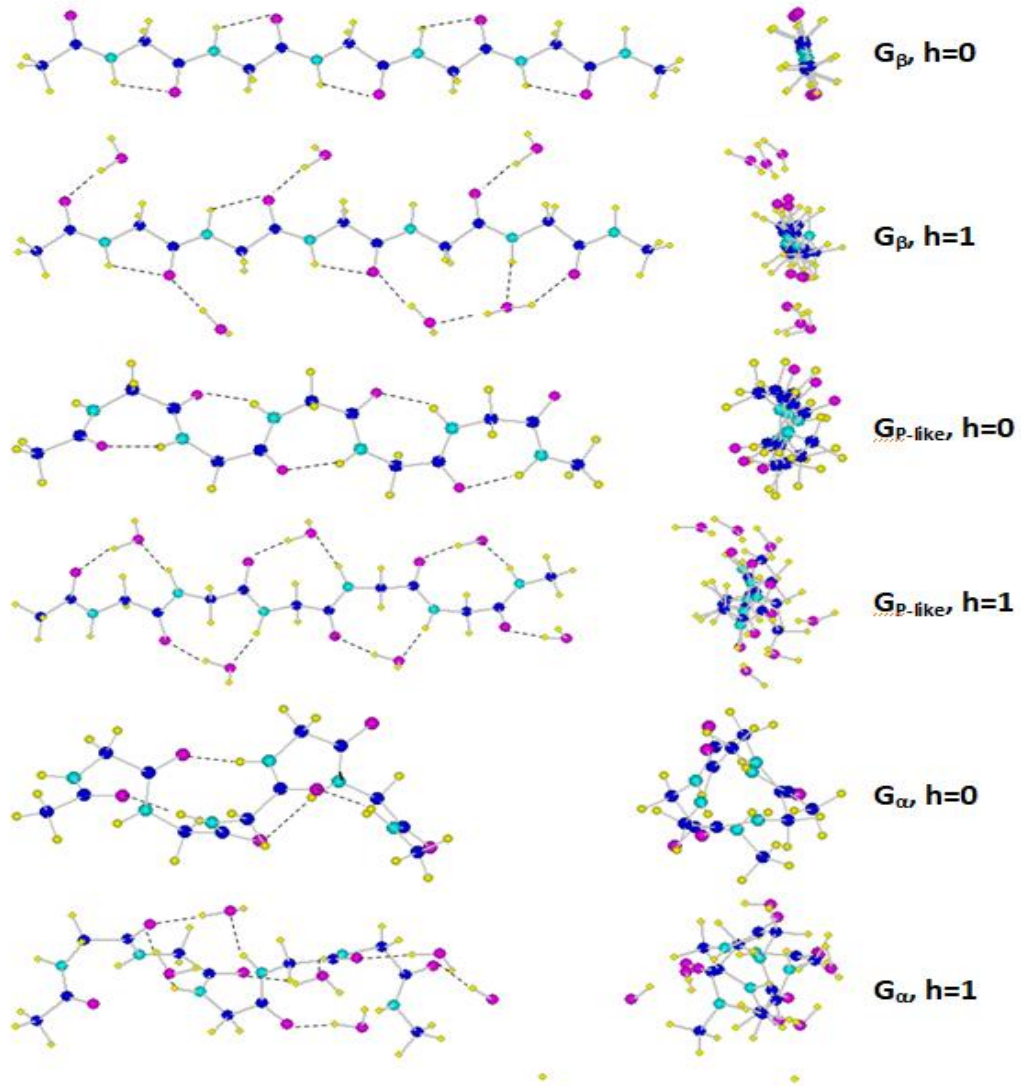


Fig. 2. Structures of glycine pentamers(G) calculated by B3LYP/6-31G(d,p). Left and right figures show the stereo oblique and chain axis projections, respectively. In right side, “P-like” of subscript mean PP_{II}-like conformer. Each hydrogen bond(---) in left figures is shown for CO/NH (intra-molecular hydrogen bonds having 1.99~2.30 Å of d_{O-H}), CO/H₂O(d_{O-H}=1.77~1.92 Å), NH/H₂O (d_{H-O}=1.84~1.96Å), and H₂O/H₂O(d_{H-O}: 1.72~1.80Å).

Table 7과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 무수물 형태이 성질체의 CO/NH형 N_{CO/NH}의 값은 모든 형태에서 4 또는 5이며, 각 펩티드기는 분자 내 수소결합으로 결합된다.

G의 이러한 결과는 LA의 결과와 같았다. 물 분자가 추가되었을 때, β-확장형의 N_{CO/NH}는 5에서 3으로 감소했으며, 물을 포함한 분자 내 수소결합은 새로 생성되었다(Table 7). 이 결과는 LA와 달랐으며 원인이 명확하지

는 않지만, 위에서 언급한 무수물 β-확장형의 높은 ψ값과 관련이 있을 것이다. ψ값의 증가는 CO/NH 수소결합을 포함한 5원자 고리의 세기를 감소시켰을 것이라고 여겨진다. 수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체에 대한 N_{CO/NH} 및 N_{CO/H₂O} 결과 값은 LA의 값과 같았으며, 수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체는 삼입된 물 분자를 갖는 분자 내 수소결합을 나타내었다. 이러한 결과는 LA의 결과와 같

Table 8. Conformation type(ϕ/ψ , °) reported as stable conformer of oligopeptides in aqueous state

	Calculation data				Experimental data		
	Present study	Reported by other workers			Reported by other workers		
Alanine	pentamer by QCC, PP _{II} -like (-108/110, h=1)	trimer[17] by MM, PP _{II}	7, 14mers[5] by MC, PP _{II}	16-mer[18] by CD, α -helical	heptamer[1] by NMR, PP _{II} (-70/125~165)	trimer[2,3] by Raman, FTIR, CD, PP _{II} : β (50:50)	trimer [4] by NMR, PP _{II} : β (90:10) ^a
Glycine	pentamer by QCC, PP _{II} -like (-105/115, h=1)	trimer ^b [19] by QCC, PP _{II} -like (80/-70)	trimer[20] by MD, QCC α -helical (-149/17) ^c				

^a Data in gaseous and aqueous(NMR in D₂O)state, ϕ/ψ of PP_{II}: -78~ -70/125~165, and ϕ/ψ of β : -139~ -125/135~145

^b Data in gaseous state

^c by QCC(DFT)

았다.

수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체의 ϕ_n/ψ_n 평균값과 분자길이(L)는 무수물 PP_{II}-유사형 보다 컸다. 이러한 결과는 물 분자가 삽입된 분자 내 수소 결합에 의해 수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체의 구조가 확장되었음을 나타낸다. PP_{II}-유사형 형태이성질체의 구조($\phi/\psi = -105^\circ/115^\circ$)는 PP_{II}의 구조와 유사하였다.

무수물 및 수화된 PP_{II}-유사형 형태이성질체는 각각 최저 상대생성에너지 $\Delta E = -0.69$ kcal/mol/mu 와 결합에너지 $\Delta E_a = -15.7$ kcal/mol/mu 을 나타냈다. $h = 0$ 및 1에서의 β -확장형 형태이성질체의 높은 에너지는 약한 수소결합으로 설명할 수 있다.

무수물 및 수화된 G에 대해 얻어진 결과는, 근본적으로 PP_{II} 형태이성질체가 없는 점, 수소결합 패턴, 가장 안정한 형태이성질체가 PP_{II} 유사형 형태이성질체라는 점에서 LA와 같았다. 이와 같은 LA와 G의 유사점은 결사슬 구조 [-CaH(CH₃) 또는 -CH₂]에 상관없이 이미노 양성자(NH)를 갖는 화학 구조의 유사점으로 인한 분자 내 수소결합 형성의 결과이다.

3.3 이론적, 실험적 데이터와의 비교

기체 또는 액체 상태의 올리고펩티드의 형태에 관한 많은 실험적, 이론적 연구가 보고되었다. Table 8에 올리고펩티드의 안정된 형태이성질체로 보고된 형태 종류와 ϕ/ψ 값이 요약되어 있다.

알라닌 올리고머에 대해 Mu et al.[17]은 MM으로 수용액 상태의 3량체 형태의 개체수를 계산하였으며, 주된 형태는 PP_{II}라고 보고하였다. Kentsis et al.[5]는 Monte Carlo(MC) 방법으로 7량체 및 14량체에 대해 비슷한 결과를 얻었다.

Marqusee et al.[18]는 CD 분광으로 16량체를 연구하였고, 수용액 상태에서 α -나선형 형태가 안정하다고 보고했다. Shi et al.[1]는 ¹H-NMR 스펙트럼으로 2°C에서 7량체는 주로 PP_{II} 구조를 가진다는 것을 발견하였으며, Eker et al. [2], [3] 은 수용액내 3량체의 라만, FTIR, CD 스펙트럼을 연구하였고, PP_{II}와 β -확장형 형태이성질체가 50 : 50으로 섞여 있다고 보고 하였다. Graf et al.[4]는 D₂O 내 3량체의 ¹H-NMR 스펙트럼을 연구하였고, 90%의 PP_{II}와 10%의 β -확장형 구조를 가지며, Table 8에 나타난 것처럼 알라닌 3량체의 ϕ/ψ 값이 PP_{II}에 대해 -78~ -70/125~ 165°, β -확장형에 대해 -139~ -125/135~ 145°라고 보고하였다.

우리의 선행연구에서 LA에 대해 계산한 가장 안정한 수화된 형태이성질체(PP_{II}-유사형, h=1)는 -108°/110°의 ϕ/ψ 값을 가졌다. ϕ 값은 PP_{II} 및 β -확장형에서 본 값의 중간이었고, 계산된 ψ 값은 PP_{II} 및 β -확장형에서 역시 본 값과 가까웠다.

따라서, 계산된 구조는 PP_{II} 및 β -확장형의 평균 특징을 가진 구조이며, 이는 Graf et al. [4]의 연구결과를 뒷받침 하였다. 그러나 우리의 선행연구에서 LA에 대해 얻은 결과는 알라닌 올리고펩티드의 주된 안정한 형태가 PP_{II}라고 보고한 실험적, 이론적 결과들과는 차이가 있었다.

글리신 올리고머에 대해 Table 8에 나타난 바와 같이 Yakubovitch et al.[19]는 QCC(DFT 방법)으로 기체 상태의 3량체와 6량체의 잠재 에너지를 연구했고, 가장 안정한 형태이성질체로 PP_{II}-유사형($\phi/\psi = 80^\circ/-70^\circ$) 임을 발표했다.

이 결과는 우리의 선행 연구의 무수 글리신 5량체(G) 데이터($\phi/\psi = -81^\circ/62^\circ$, 표7)와 부합한다. Balasubramaniam et al.[20]은 MD와 QCC(DFT 방법)으로 수용액내의 3

량체를 연구했고, 가장 안정한 형태이성질체가 α -나선형이며 그 ϕ_2/ψ_2 값은 DFT방법에 의하여 $-149/17^\circ$ (4개의 물 분자) 이라고 보고하였다. 이러한 결과는 우리의 선행 연구 데이터와는 일치하지 않는다. 이러한 차이의 원인 중 하나는 3량체 내 2번째 및 4번째 단위의 수소결합 ($\text{CO}\cdots\text{HN}$)이 계산되지 않기 때문일 수 있다.

4. 결론

무수 및 수화된 올리고펩티드 모델인 L-알라닌(LA) 및 글리신(G) 5량체에 대한 구조 분석을 QCC로 수행하였다.

LA와 G에서 물 분자는 PP_{II} -유사형($\phi/\psi = g-/g+$, PP_{II}) 및 α -나선형($\phi/\psi = g-/g-$)에서 $\text{CO}\cdots\text{HN}$ 의 분자 내 수소결합 사이에 주로 삽입되고, β -확장형($\phi/\psi = t-/t+$) 내 CO기에 부착되었다.

LA와 G의 가장 안정한 형태는 수화물 ($h=0$ 및 1)과 관계없이 PP_{II} -유사형 이었고, PP_{II} ($\phi/\psi = g-/t+$)형태는 얻어지지 않았다.

무수물 및 수화된 PP_{II} -유사형 형태이성질체는 LA에서는 최소 상대생성에너지($\Delta E=-0.98$ kcal/mol/mu)와 결합에너지($\Delta E_a=-16.3$ kcal/mol/ mu)를 가졌고, G에서는 각각 최저 상대 생성에너지($\Delta E=-0.69$ kcal/mol/mu)와 결합에너지($\Delta E_a=-15.7$ kcal/mol/mu)를 나타내었다.

올리고펩티드 형태이성질체의 생성 패턴과 안정성이 $\text{CO}\cdots\text{HN}$ 의 분자 내 수소결합의 존재여부 또는 시작 아미노산 내 NH_2 기의 존재 여부에 크게 영향을 받는다는 것을 발견하였다.

References

- [1] Z. Shi, C. A. Oison, G. D. Rose, R. L. Baldwin, & N. R. Kallenbach, "Polyproline II structure in a sequence of seven alanine residues", PNAS, 99, 9190-9195, 2002.
- [2] F. Eker, X. Cao, L. Nafie & R. Schweitzer-Stenner, "Tripeptides Adopt Stable Structures in Water. A Combined Polarized Visible Raman, FTIR, and VCD Spectroscopy Study". J. Am. Chem. Soc., 124, 14330-14341, 2002.
- [3] F. Eker, X. K. Griebenow & R. Schweitzer-Stenner, "Stable Conformation of Tripeptides in Aqueous Solution Studied by UV Circular Dichroism Spectroscopy". J. Am. Chem. Soc., 125, 8178-8185, 2003.
- [4] J. Graf, P. H. Nguyen, G. Stock & H. Schwalbe, "Structure and Dynamics of the Homologous Series of Alanine Peptides: A Joint Molecular Dynamics/NMR Study". J. Am. Chem. Soc., 129, 1179-1189, 2007.
- [5] A. Kentsis, M. Mezei, T. Gindin & R. Osman, "Unfolded State of Polyalanine is a segmented Polyproline II Helix". PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics, 55, 493-501, 2004.
- [6] J-H. Sim, "Quantum Chemical Calculation on the Conformational Structure of the Alanine Oligomer Model". J. Korea Academia-Industrial cooperation Soc., 16(2), 1563-1570, 2015.
- [7] M. Kobayashi, J. H. SIM & H. Sato, "Conformational analyses for alanine oligomer during hydration by quantum chemical calculation (QCC)". Polym. Bull., 74, 657-670, 2017.
- [8] J. Rigaudy & S. P. Klesney, Nomenclature of Organic Chemistry, Section E, 483, Pergamon Press, Oxford, 1979.
- [9] <http://gaussian.com/citation/>
- [10] V. Barone & M. Cossi, "Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model". J. Phys. Chem., A, 102(11), 1995-2001, 1998.
- [11] M. Cossi, N. Rega, G. Scalmani & V. Barone, "Energies, structures, and electronic properties of molecules in solution with the C-PCM solvation model". J. Comp. Chem., 24(6), 669-681, 2003.
- [12] M. Kinoshita, Y. Okamoto & F. Hirata, "Solvent Effects on Formation of Tertiary Structure of Protein". Seibutsu-butsuri, Biophysical Society of Japan, 40, 374-378, 2000.
- [13] J. Ireta, "Microsolvation Effects on the Stability of Polyalanine in Extended and Polyproline II Conformation". International Journal of Quantum Chemistry, 112, 3612-3617, 2012.
- [14] P. I. Nagy, "Review, Competing Intramolecular vs. Intermolecular Hydrogen Bonds in Solution". Int. J. Mol. Sci., 15(11), 19562-19633, 2014.
- [15] M. Kobayashi & H. Sato, "Conformational analysis of ethylene oxide and ethylene imine oligomers by quantum chemical calculations: solvent effects". Polymer Bull., 61, 529-540, 2008.
- [16] S. Miertus, J. Tomasi., "Approximate evaluations of the electrostatic free energy and internal energy changes in solution processes". Chem. Phys., 65(2), 239-245, 1982.
- [17] Mu, Y., Kosov, D. S. & Stock, G. Conformational Dynamics of Trialanine in water. 2. Comparison of AMBER, CHARMM, GROMOS, and OPLS Force Fields to NMR and Infrared Experiments. J. Phys. Chem. B107, 5064-5073, 2003.
- [18] Marqusee, S., Robbins, V. H. & Baldwin, R. L. Unusually stable helix formation in short alanine-based peptides. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 5286-5290, 1989.
- [19] Yakubovitch, A. V., Solov'yov, I. A, Solov'yov, A. V. & Greiner, W. Conformational changes in glycine tri- and hexapeptide. Eur. Phys. J. D39, 23-34, 2006.

- [20] Balasubramaniam, Y., Ramasamy, K., Subramaniam, B. & Ponmalai, K. Combined theoretical studies on solvation and hydrogen bond interactions in glycine tripeptide. *Molecular Simulation*, 40, 942-958, 2014.
-

심 재 호(Jae-Ho Sim)

[중신회원]



- 1995년 3월 : 동경농공대학 대학원
기능재료공학 (공학석사)
- 2008년 3월 : 동경농공대학 대학원
BASE 기능재료공학 전공 (공학박사)
- 1995년 4월 ~ 1999년 9월 : 삼성
SDI 종합연구소 선임연구원
- 2011년 3월 ~ 현재 : 한라대학교
신소재화학 공학과 교수

<관심분야>

기능성 고분자, 고분자 합성, 생분해성 고분자