

CNDO/S-CI-Rechnungen zum Circulardichroismus von Disulfidbrücken in Proteinen im nahen UV

Herbert Niephaus, Wolfgang Schleker und Jörg Fleischhauer

Lehr- und Forschungsgebiet Theoretische Chemie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

Z. Naturforsch. **40a**, 1304–1310 (1985); eingegangen am 30. Oktober 1985

CNDO/S-CI-Calculations on the Circular Dichroism of Disulfide Linkages in Proteins in the Near UV

CNDO/S-CI-calculations of rotational strengths of the disulfide moieties in Ribonuclease A, 2-zinc- and 4-zinc-insuline-dimers based on X-ray data have been performed. Appropriate R_2S_2 -conformations ($R = H, CH_3, C_2H_5, CH_2CH(NH_2)CHO$) have been considered as models for the disulfide linkages.

The sign of the calculated rotatory strength of the longest wavelength transition coincides in most cases with that predicted by the quadrant rule for disulfides. For dihedral angles near 90° the energies of the two longest wavelength transitions are found to be nearly degenerate. However there is a net contribution of their rotatory strengths whereas with the quadrant rule this is expected to be negligible.

Einleitung

Disulfidbrücken in organischen und Biomolekülen können aufgrund ihrer inhärenten Chiralität große Beiträge zum Circulardichroismus im nahen UV liefern. Diese werden auf die beiden langwelligsten Disulfidübergänge zurückgeführt.

Linderberg und Michl [1] haben durch Anwendung des Bergson-Modells [2] und auf der Grundlage von CNDO-Rechnungen an C_2 -symmetrischen H_2S_2 -Konformationen eine Quadrantenregel abgeleitet, die das Vorzeichen der Rotationsstärke des langwelligsten elektronischen Übergangs in Abhängigkeit vom Dieder-Winkel wiedergibt (vgl. Abbildung 1). Hiernach hat für ein rechtshändiges Disulfid im Dieder-Winkelbereich von $0^\circ < \delta < 90^\circ$ der langwelligste Übergang mit B-Symmetrie eine positive, der zweitlangwelligste mit A-Symmetrie eine negative Rotationsstärke. Mit dem Anwachsen von δ nähern sich diese beiden Übergänge energetisch an und sind bei 90° entartet. An dieser Stelle heben sich ihre Rotationsstärken entgegengesetzten Vorzeichens auf. Im Dieder-Winkelbereich von $90^\circ < \delta < 180^\circ$ ist der Übergang mit A-Symmetrie der langwelligste und die zugehörige Rotationsstärke negativ. Diese Quadrantenregel wurde zur Abschätzung des Disulfidbeitrags zum Circulardi-

chroismus im nahen UV z. B. von 2-Zink-Insulin [3] und von Ribonuclease S [4] angewandt.

Woody [5] hat ausgehend vom Bergson-Modell Ausdrücke für elektrische und magnetische Übergangsmomente, die in einfacher Weise nur vom Dieder-Winkel abhängen, sowie Monopolpositionen und -ladungen für das Disulfid angegeben. Diese wurden in Rechnungen an Gliotoxin und verwandten Antibiotika [6] und an Ribonuclease S [7] benutzt. Die beiden langwelligsten Übergänge mit B- bzw. A-Symmetrie werden im Rahmen dieses Modells als $n_1 \sigma^*$ bzw. $n_4 \sigma^*$ bezeichnet. Für $\delta = 0^\circ$ haben n_1 bzw. $n_4 \pi^*$ - bzw. π -Symmetrie, bei $\delta = 180^\circ$ π -bzw. π^* -Symmetrie. Die Symmetrie des σ^* -MO ist vom Dieder-Winkel unabhängig.

Mit MO-Rechnungen wird gefunden, daß bei einem Dieder-Winkel von 90° die beiden langwel-

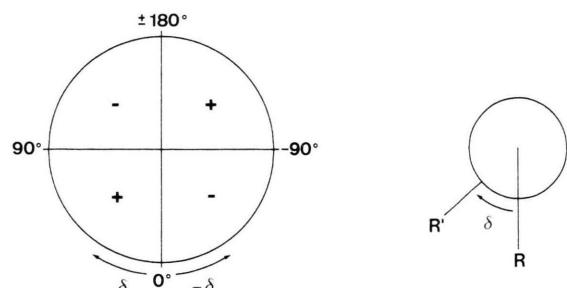


Abb. 1. Quadrantenregel nach [1] und Newman-Projektion einer rechtshändigen RSS'R'-Konformation (P-chiral) zur Definition des Dieder-Winkels δ .

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. J. Fleischhauer, Lehr- und Forschungsgebiet Theoretische Chemie der RWTH Aachen, Prof.-Pirlet-Straße 1, D-5100 Aachen.

0340-4811 / 85 / 1200-1304 \$ 01.30/0. – Please order a reprint rather than making your own copy.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

ligsten Übergänge nicht genau entartet sind und daß sich auch die zugehörigen Rotationsstärken nicht ganz aufheben. So verweisen Linderberg und Michl darauf, daß der Dieder-Winkel, bei dem diese Übergänge entartet sind, sowohl von der CNDO-Parametrisierung als auch vom SSH-Bindungswinkel abhängt. Kahn [8] hat mit iterativen EHT-Rechnungen an CSSC-Konformationen eine Verschiebung des Entartungspunktes in Abhängigkeit vom SSC-Bindungswinkel auf bis zu 107° gefunden.

Die Abhängigkeit der Ergebnisse vom SSR-Bindungswinkel, wie sie in MO-Rechnungen an C_2 -symmetrischen Molekülen gefunden werden, legt die Untersuchung asymmetrischer Disulfidmoleküle

nahe, wie sie aus Röntgen-Strukturdaten von Proteinen hervorgehen.

Die Strukturparameter der CSS'C'-Ketten aus den Röntgen-Strukturdaten für Ribonuclease A [9] sowie für 2-Zink- und 4-Zink-Insulin [10] sind in den Tab. 1 bis 3 wiedergegeben. Aus Abb. 1 ist das Vorzeichen des Dieder-Winkels ersichtlich. Die ungestrichenen Atomindizes beziehen sich auf den in den Tab. 1 bis 3 in der Spalte 1 erstgenannten Cysteinrest.

In verschiedenen Arbeiten [3, 4, 7] ist auf die starke Abhängigkeit der ermittelten Dieder-Winkel der Disulfidbrücken von der Auflösung der Röntgen-Strukturanalyse hingewiesen worden. Dies wird

Tab. 1. Strukturparameter der CSS'C'-Ketten in Ribonuclease A aus den Röntgen-Strukturdaten nach [9].

Cystein-reste	Dieder-Winkel	Bindungslängen [pm]			Bindungswinkel	
		S-S'	C-S	S'-C'	C-S-S'	S-S'-C'
26– 84	–77,2	201,3	181,1	180,9	103,9	101,5
40– 95	–77,8	189,5	184,8	180,6	107,4	109,6
58–110	–87,4	209,3	180,8	184,8	107,6	107,4
65– 72	111,3	206,1	181,0	181,0	100,6	98,2

Tab. 2. Strukturparameter der CSS'C'-Ketten in 2-Zink-Insulin aus den Röntgen-Strukturdaten nach [10]. Die Zeilen 1–3 beziehen sich auf das Monomer I, die Zeilen 4–6 auf das Monomer II.

Cystein-reste	Dieder-Winkel	Bindungslängen [pm]			Bindungswinkel	
		S-S'	C-S	S'-C'	C-S-S'	S-S'-C'
A6–A11	107,6	207,9	180,6	181,0	100,6	99,3
A7–B7	98,8	207,9	180,8	181,0	101,5	99,1
A20–B19	–79,0	207,7	180,6	180,9	102,6	101,1
C6–C11	106,4	207,9	180,8	181,1	98,9	100,5
C7–D7	102,6	207,7	180,8	181,0	101,8	99,7
C20–D19	–86,1	207,4	180,2	180,8	103,2	103,0

Tab. 3. Strukturparameter der CSS'C'-Ketten in 4-Zink-Insulin aus den Röntgen-Strukturdaten nach [10]. Die Zeilen 1–3 beziehen sich auf das Monomer I, die Zeilen 4–6 auf das Monomer II.

Cystein-reste	Dieder-Winkel	Bindungslängen [pm]			Bindungswinkel	
		S-S'	C-S	S'-C'	C-S-S'	S-S'-C'
A6–A11	–89,2	200,9	187,2	174,4	101,3	107,7
A7–B7	–89,3	199,7	180,9	183,0	106,8	101,3
A20–B19	–78,2	203,2	180,6	177,9	101,5	97,9
C6–C11	92,4	203,8	175,6	173,1	106,5	111,6
C7–D7	92,6	200,9	186,4	180,8	115,2	108,2
C20–D19	–71,2	205,8	177,4	179,4	103,8	101,9

in ähnlichem Maße auch auf die anderen Geometrieparameter zutreffen. Die Rechnungen, über die hier berichtet wird, sind daher in erster Linie als Test dafür zu sehen, wie kleinere und größere Abweichungen von einer C_2 -Symmetrie sich auf Anregungsenergien und Rotationsstärken auswirken und inwieweit das Vorzeichen der Rotationsstärke mit der oben beschriebenen Quadrantenregel in Einklang steht.

In dieser Arbeit wird über CNDO/S-CI-Rechnungen [11] mit der Programmversion CNDUV99 [12] mit einem sp-Basisatz berichtet. Die Modifikationen zur Berechnung der Übergangsmomente erfolgten wie in der Literatur [13] beschrieben. Das elektrische Übergangsmoment wurde mit dem Velocity-Operator-Formalismus [14] bestimmt.

Rechnungen an Molekülen mit C_2 -Symmetrie

Zunächst werden Ergebnisse unserer Rechnungen an C_2 -symmetrischen H_2S_2 - und $(CH_3)_2S_2$ -Konformationen im Dieder-Winkelbereich von 60° bis 120° angegeben. Die Rechnungen wurden einmal mit festen Bindungslängen und -winkeln (H_2S_2 : S-S 205 pm, S-H 134 pm, \angle SSH 92°; $(CH_3)_2S_2$: S-S 204 pm, S-C 178 pm, \angle SSC 104°) durchgeführt. Diese Werte wurden von verschiedenen Autoren [1, 15] als repräsentativ für organische Disulfide angegeben und kommen den experimentell ermittelten Werten [16, 17] sehr nahe. Zum anderen wurden für die Rechnungen die Moleküle bei festgehaltenem Dieder-Winkel mit der MINDO/3-Methode [18] geometrieeoptimiert. Die ermittelten Bindungslängen und -winkel sind in Tab. 4 in Abhängigkeit vom Dieder-Winkel wiedergegeben.

Die CI-Rechnungen wurden unter Berücksichtigung aller Singuletteinfachanregungen durchgeführt.

Werden die Übergangsmomente mit den MO-Koeffizienten in der orthogonalen Basis unter Einbeziehung der Zweizentrenenterme berechnet, so ergeben sich für die Rotationsstärken der beiden langwelligsten Übergänge die entgegengesetzten Vorzeichen wie in den oben genannten Arbeiten [1, 5, 8]. Dieses Resultat steht auch im Widerspruch zu der von Wagnière und Hug [19] angegebenen Regel, nach der die Rotationsstärke eines C_2 -symmetrischen Moleküls mit rechtshändigem Schraubungssinn für den langwelligsten Übergang in einen Zustand mit B-Symmetrie ein positives und mit A-Symmetrie ein negatives Vorzeichen hat. Unsere Ergebnisse bezüglich des Rotationsstärkevorzeichens ändern sich auch bei Verwendung eines anderen CNDO-Parametersatzes [20] nicht.

Ein übereinstimmendes Vorzeichenverhalten ergibt sich hingegen, wenn wie bei den CNDO-Rechnungen von Linderberg und Michl für das elektrische Übergangsmoment nur Einzentrenenterme berücksichtigt werden.

Unter Beibehaltung aller Zweizentrenenterme stimmen unsere Ergebnisse bezüglich des Vorzeichens auch mit [1, 5, 8] überein, wenn die MO-Koeffizienten in der Slater-Basis verwendet werden, wie dies in den nachfolgend angeführten Rechnungen geschehen ist. Anzumerken ist, daß für C_2 -symmetrische Moleküle wie verdrilltes Butadien oder H_2O_2 die Verwendung von orthogonalen MO-Koeffizienten und solchen in der Slater-Basis vom Betrag her zwar verschiedene Rotationsstärken, jedoch übereinstimmende Vorzeichen liefert, wie dies bereits Wagnière et al. [21] festgestellt haben.

In Tab. 5 sind die Anregungsenergien und Rotationsstärken der beiden langwelligsten Übergänge für die oben beschriebenen Modellmoleküle zusammengefaßt. Diese Übergänge stimmen qualitativ

Tab. 4. Strukturparameter der mit der MINDO/3-Methode bei festgehaltenem RSSR-Dieder-Winkel geometrieeoptimierten H_2S_2 - und $(CH_3)_2S_2$ -Konformationen.

Dieder-Winkel	H_2S_2			$(CH_3)_2S_2$		
	Bindungslängen [pm]		Bindungswinkel	Bindungslängen [pm]		Bindungswinkel
	S-S	S-H	S-S-H	S-S	S-C	S-S-H
60	207,1	134,5	103,9	208,6	173,8	115,7
75	207,0	134,5	103,7	208,2	174,3	114,4
85	206,9	134,5	103,5	208,3	174,3	113,4
90	207,0	134,5	103,4	208,4	174,3	112,9
95	207,1	134,5	102,8	208,5	174,3	112,4
120	207,7	134,4	101,0	209,2	174,2	109,7

Tab. 5. Anregungsenergien ΔE in nm und Rotationsstärken R in DBM/100 (1 DBM = $0,9273 \cdot 10^{-38}$ erg cm 3) für die beiden langwelligsten Übergänge rechtshändiger H_2S_2 - und $(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$ -Konformationen nach CNDO/S-CI-Rechnungen.

Dieder-Winkel	H_2S_2				$(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$			
	Übergang 1		Übergang 2		Übergang 1		Übergang 2	
	ΔE	R	ΔE	R	ΔE	R	ΔE	R
I: Moleküle mit festen Bindungslängen und -winkeln								
60	223,4	16,4	194,4	-21,6	228,7	12,4	201,3	-27,6
75	217,3	19,4	202,5	-20,5	222,7	14,8	208,9	-26,9
85	212,8	21,1	207,6	-19,4	218,0	17,4	213,8	-25,2
90	210,3	21,7	210,1	-18,8	216,4	-25,1	215,9	16,1
95	212,6	-18,1	207,8	22,3	218,7	-23,4	213,2	18,3
120	223,3	-13,9	194,6	22,3	229,7	-19,0	200,9	13,5
II: geometrieoptimierte Moleküle								
60	226,6	11,5	196,4	-30,7	248,4	10,7	215,1	-39,2
75	219,6	12,7	204,0	-28,2	242,2	14,5	223,8	-36,7
85	214,7	13,2	209,1	-26,2	235,8	15,3	228,9	-34,6
90	212,2	13,3	211,7	-25,1	232,7	15,6	231,5	-33,4
95	214,4	-23,9	209,7	13,7	234,1	-32,2	229,6	15,8
120	226,8	-17,6	197,3	13,9	246,1	-24,9	214,5	15,6

mit den $n_1\sigma^*$ - und $n_4\sigma^*$ -Übergängen von Woody [5] überein. Trotz der um bis zu 12° größeren Bindungswinkel in den geometrieoptimierten Molekülen sind die Unterschiede gering: Für das $(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$ -Molekül mit festen Bindungslängen und -winkeln liegt der Entartungspunkt zwischen 85° und 90° , in den drei anderen Fällen zwischen 90° und 95° .

In den von Woody angegebenen und in [6, 7] verwandten Ausdrücken für die Übergangsmomente sind die Komponenten längs der S-S-Bindung für das elektrische und magnetische Übergangsmoment für die beiden genannten Übergänge Null. Dies ergibt sich für den $n_4\sigma^*$ -Übergang angenähert auch aus unseren MO-Rechnungen. Hingegen weist der $n_1\sigma^*$ -Übergang mit wachsendem Dieder-Winkel für das elektrische Übergangsmoment eine größer werdende Komponente in Richtung der S-S-Bindung auf. In geringerem Maße gilt das auch für die entsprechende Komponente des magnetischen Übergangsmoments. So beträgt beispielsweise der Winkel zwischen den nach [5] und den von uns berechneten elektrischen Momenten bei $\delta = 60^\circ$ etwa 30° , bei $\delta = 90^\circ$ etwa 50° und bei $\sigma = 120^\circ$ etwa 60° .

Rechnungen an asymmetrischen Molekülen

Für die Disulfidgruppen der oben genannten Proteine wurden R_2S_2 -Moleküle ($\text{R} = \text{H}$, CH_3 , C_2H_5 ,

$\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CHO}$) betrachtet. Damit sollten mögliche Einflüsse der Disulfidumgebung erfaßt werden. Die aus den Röntgen-Strukturdaten nicht hervorgehenden S-H- und C-H-Bindungen wurden für die betrachteten Moleküle wie folgt erzeugt: Für $\text{R} = \text{H}$ wurden 134 pm lange S-H-Bindungen in Richtung der $\text{S}_\gamma\text{-C}_\beta$ -Bindungen der Röntgen-Struktur gelegt, analog wurden für $\text{R} = \text{CH}_3$ je eine 109 pm lange C-H-Bindung in Richtung der $\text{C}_x\text{-C}_\beta$ -Bindungen sowie für $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$ je zwei C-H-Bindungen in Richtung der $\text{C}_x\text{-C}_\gamma$ - und der $\text{C}_x\text{-N}$ -Bindungen der Röntgen-Struktur verwandt. Die verbleibenden C-H-Bindungen wurden mit Standardbindungswinkeln von $109,5^\circ$ symmetrisch zu den oben definierten Bindungsrichtungen angenommen. Entsprechend wurden bei $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CHO}$ 108 pm lange C-H-Bindungen und 101 pm lange N-H-Bindungen in die Bindungsrichtungen zu den sich an das Cystein anschließenden Peptidresten gelegt.

Die CI-Rechnungen wurden mit einer Beschränkung der Konfigurationsenergie von 16,5 eV bezogen auf den Grundzustand (bei $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CHO}$ von 13,0 eV) durchgeführt. Damit wurden für $\text{R} = \text{H}$ jeweils 16, für $\text{R} = \text{CH}_3$ etwa 60, für $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5$ und $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CHO}$ etwa 110 Konfigurationen berücksichtigt. Rechnungen für die H_2S_2 - und $(\text{CH}_3)_2\text{S}_2$ -Moleküle mit allen Singuletteinfachanregungen ergaben keine nennenswerten Änderungen

bei den berechneten Anregungsenergien und den Rotationsstärken für die langwelligsten Übergänge.

In den Tab. 6 bis 8 sind die Anregungsenergien und Rotationsstärken für die beiden vorwiegend in der Disulfidgruppe lokalisierten langwelligsten Übergänge zusammengefaßt.

In den Abbn. 2 bis 4 sind jeweils unter Verwendung der Ergebnisse für $R = C_2H_5$ die molaren Elliptizitäten in Abhängigkeit von der Wellenlänge wiedergegeben. Dabei wurde für jeden der beiden langwelligsten Übergänge eine Gauß-Kurve nach [8] angenommen:

$$[\theta_{0a}(\lambda)] = [\theta_{0a}] \exp [- ((\lambda - \lambda_a)/\Delta_a)^2]$$

mit

$$[\theta_{0a}] = \frac{R_{0a} \cdot \lambda_a}{0,696 \cdot 10^{-42} \cdot \sqrt{\pi} \cdot \Delta_a}.$$

Hierin bedeuten R_{0a} die Rotationsstärke des elektronischen Übergangs vom Grundzustand 0 in den Zustand a in DBM, θ_a die molare Elliptizität in grad cm²/dmol, λ_a die Wellenlänge des Elliptizitätsmaximums in nm und Δ_a die entsprechende Halbwertsbreite der Gauß-Kurve in nm. Nach Kahn [8] wurde für beide Übergänge eine Halbwertsbreite von 25 nm verwandt. Die $[\theta_{0a}]$ sind in den Abbn. 2 bis 4 als Linien eingezeichnet. Die Größe der

Tab. 6. Berechnete Anregungsenergien ΔE in nm und Rotationsstärken R in DBM/100 für die beiden langwelligsten Disulfidübergänge für Ribonuclease A.

Cystein-reste	Übergang 1		Übergang 2	
	ΔE	R	ΔE	R
26–84	208,3	– 8,8	195,6	22,3 ^a
	216,0	– 13,1	203,9	23,2 ^b
	218,8	– 10,6	203,5	24,1 ^c
	216,4	– 11,6	202,2	23,0 ^d
40–95	196,0	6,4	184,1	12,1
	200,1	5,0	189,4	14,5
	202,4	7,2	188,9	15,6
	201,0	1,5	187,1	10,2
58–110	219,9	– 13,8	216,8	29,4
	228,0	– 18,6	225,2	30,7
	231,6	– 18,5	225,8	30,7
	228,9	– 15,3	223,2	27,5
65–72	219,9	– 18,2	198,9	15,8
	229,6	– 21,7	209,8	24,5
	231,4	– 21,9	212,6	24,7
	230,6	– 23,1	211,9	21,4

^a R = H, ^b R = CH₃, ^c R = C₂H₅, ^d R = CH₂CH(NH₂)CHO

Tab. 7. Berechnete Anregungsenergien ΔE in nm und Rotationsstärken R in DBM/100 für die beiden langwelligsten Disulfidübergänge für 2-Zink-Insulin.

Cystein-reste	Übergang 1		Übergang 2	
	ΔE	R	ΔE	R
A6–A11	221,5	– 20,6	203,8	17,4 ^a
	231,8	– 24,1	214,4	25,0 ^b
	232,0	– 23,9	214,1	24,6 ^c
A7–B7	217,5	– 22,7	208,6	17,5
	229,2	– 25,4	217,7	25,2
	230,7	– 25,6	218,2	24,1
A20–B19	218,4	– 15,4	207,0	27,1
	226,8	– 20,6	217,6	28,5
	228,0	– 18,0	218,8	27,1
C6–C11	221,1	– 20,9	204,6	17,8
	232,1	– 24,2	215,3	26,4
	232,3	– 24,3	214,9	26,1
C7–D7	224,9	– 24,1	211,2	11,6
	229,5	– 24,9	216,6	24,8
	231,9	– 24,8	216,5	22,7
C20–D19	223,0	– 4,3	216,6	22,8
	222,8	– 20,3	220,8	27,6
	223,4	– 16,6	222,0	25,4

^a R = H, ^b R = CH₃, ^c R = C₂H₅

Tab. 8. Berechnete Anregungsenergien ΔE in nm und Rotationsstärken R in DBM/100 für die beiden langwelligsten Disulfidübergänge für 4-Zink-Insulin.

Cystein-reste	Übergang 1		Übergang 2	
	ΔE	R	ΔE	R
A6–A11	203,6	1,2	201,4	12,5 ^a
	212,7	– 0,3	208,3	11,4 ^b
	211,7	– 1,7	208,7	13,8 ^c
	208,7	– 13,9	207,8	23,8 ^d
A7–B7	201,3	1,5	199,4	12,0
	209,2	5,4	206,9	3,3
	213,9	– 6,8	205,1	11,7
	210,4	– 8,3	205,9	9,6
A20–B19	210,5	– 12,6	198,8	22,3
	219,3	– 17,7	209,3	23,8
	222,6	– 15,1	211,8	22,2
	219,7	– 14,9	209,0	20,9
C6–C11	211,3	– 21,0	208,8	3,7
	221,1	– 21,9	217,7	8,4
	220,5	– 24,5	217,6	9,5
	216,6	– 12,0	216,0	0,1
C7–D7	209,7	– 18,6	206,6	– 1,9
	216,1	– 17,9	212,4	– 2,7
	217,3	– 16,1	214,4	– 5,9
	215,6	– 21,7	213,1	– 6,2
C20–D19	218,6	– 12,6	200,1	27,3
	227,4	– 17,0	210,6	27,7
	229,2	– 16,0	212,7	26,8
	226,2	– 17,2	210,0	26,6

^a R = H, ^b R = CH₃, ^c R = C₂H₅, ^d R = CH₂CH(NH₂)CHO

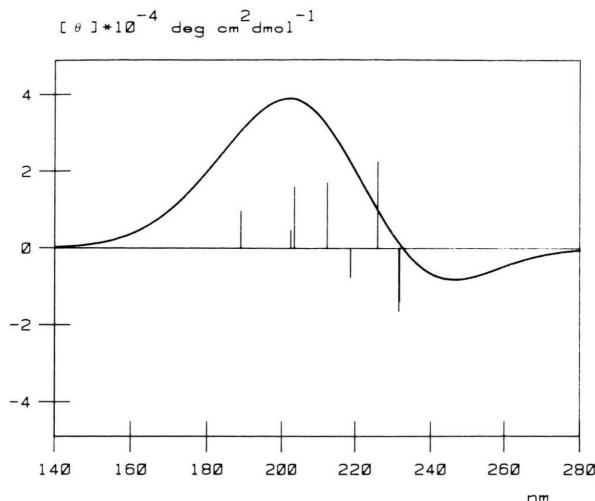


Abb. 2. Inhärenter Beitrag der vier Disulfidbrücken in Ribonuclease A, berechnet aus den Rotationsstärken der beiden langwelligsten Übergänge.

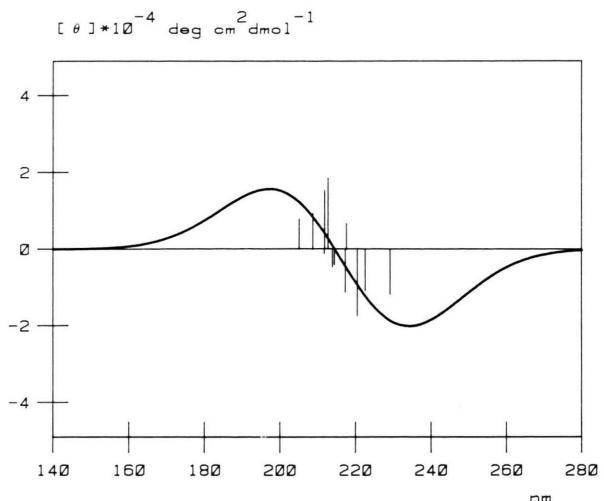


Abb. 4. Inhärenter Beitrag der sechs Disulfidbrücken in 4-Zink-Insulin, berechnet aus den Rotationsstärken der beiden langwelligsten Übergänge.

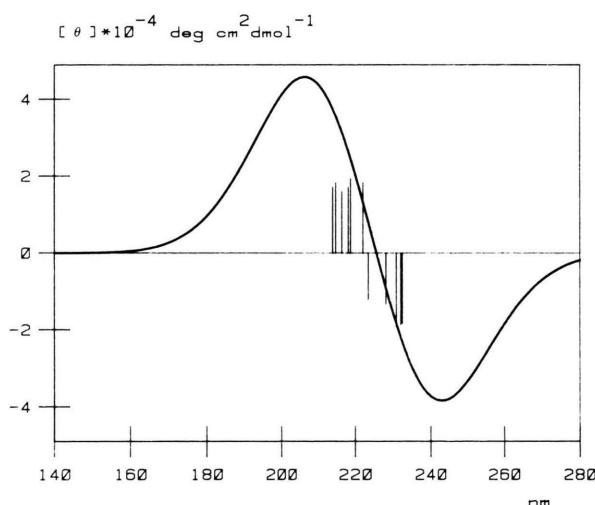


Abb. 3. Inhärenter Beitrag der sechs Disulfidbrücken in 2-Zink-Insulin, berechnet aus den Rotationsstärken der beiden langwelligsten Übergänge.

berechneten Anregungsenergien nimmt mit kürzer werdendem S-S-Abstand deutlich zu. Hierdurch sind für 4-Zink-Insulin die Lagen der berechneten Disulfidbanden kurzwelliger als für die beiden anderen Proteine.

Betrachtet man die Disulfidbrücken im einzelnen, so ergeben mit nur zwei Ausnahmen (siehe Tab. 8) die durchgeführten Rechnungen für die Rotationsstärken jeweils gleiche Vorzeichen und

auch größenumordnungsmäßig gleiche Beträge. Es ergibt sich, daß der intrinsische Beitrag der Disulfidbrücken im wesentlichen vom S₂-Fragment bestimmt wird.

Das Vorzeichen der Rotationsstärke für den langwelligsten Übergang stimmt bis auf das Ergebnis für die Disulfidbrücke 40–95 (siehe Tab. 6) aus Ribonuclease A (deutlich zu kurze Bindungslänge) und für die beiden Ausnahmen (siehe Tab. 8) mit der Quadrantenregel überein.

Weiter ist für $-90^\circ < \delta < 0^\circ$ der Betrag der Rotationsstärke des zweiten Übergangs bis auf eine Ausnahme stets größer als der des langwelligsten, für $\delta > 90^\circ$ sind beide Beträge bis auf zwei Ausnahmen (siehe Tab. 8) in etwa gleich.

Für Dieder-Winkel nahe 90° sind die Anregungsenergien der beiden langwelligsten Übergänge nahezu gleich (Differenz < 0,25 eV), der Betrag der Summe der Rotationsstärken liegt jedoch meist zwischen 0,05–0,2 DBM. Solche Disulfidbrücken liefern nach diesen Resultaten anders als nach der Quadrantenregel deutliche Beiträge zum Circulardichroismus.

Die berechneten Rotationsstärken liegen in einer Größenordnung, wie sie für kleine Disulfidmoleküle gemessen wurden [22] und wie sie auch nach [5] folgen. Diese Resultate stehen nicht im Widerspruch zu den wesentlich kleineren Werten, die für

Proteine im nahen UV gemessen werden, da der inhärente Disulfidbeitrag durch Kopplungen der Disulfidübergangsmomente mit solchen in anderen Gruppen zu großen Teilen kompensiert wird [6].

Wir danken insbesondere der Deutschen For schungsgemeinschaft für die Förderung eines For

schungsprogramms, in dessen Rahmen diese Arbeit erstellt wurde. Herrn Prof. R. W. Woody sowie Herrn Prof. A. Wollmer und Herrn Dr. W. Straßburger danken wir für anregende Diskussionen. Weiter gilt unser Dank dem Fonds der Chemischen Industrie für die gewährte finanzielle Unter stützung und dem Rechenzentrum der RWTH Aachen für die zur Verfügung gestellte Rechenzeit.

- [1] J. Linderberg u. J. Michl, *J. Amer. Chem. Soc.* **92**, 2619 (1970).
- [2] G. Bergson, *Ark. Kemi* **12**, 233 (1958).
- [3] E. H. Strickland, *Biochemistry* **11**, 3465 (1972).
- [4] E. H. Strickland u. D. A. Mercola, *Biochemistry* **15**, 3875 (1976).
- [5] R. W. Woody, *Tetrahedron* **29**, 1273 (1973).
- [6] R. Nagarajan u. R. W. Woody, *J. Amer. Chem. Soc.* **95**, 7212 (1973).
- [7] W. J. Goux u. T. M. Hooker, Jr., *J. Amer. Chem. Soc.* **102**, 7080 (1980).
- [8] P. C. Kahn, Ph.D. Thesis, New York 1972.
- [9] N. Borkatoti, D. S. Moss u. R. A. Palmer, *Acta Cryst. Sect. B* **38**, 2210 (1982).
- [10] G. Dodson, persönliche Mitteilung.
- [11] R. L. Ellis, G. Kuehnlens u. H. H. Jaffé, *Theor. Chim. Acta* **26**, 131 (1972).
- [12] H. Baumann, QCPE 333.
- [13] W. Hug u. G. Wagnière, *Theor. Chim. Acta* **18**, 57 (1970).
- [14] A. Moscowitz, in: *Modern Quantum Chemistry*, Vol. 3, O. Sinanoğlu, Ed., New York 1966, S. 31.
- [15] J. Webb, R. W. Strickland u. F. S. Richardson, *J. Amer. Chem. Soc.* **95**, 4775 (1973).
- [16] G. Winnewisser, M. Winnewisser u. W. Gordy, *J. Chem. Phys.* **49**, 3465 (1968).
- [17] D. Sutter, H. Dreizler u. H. D. Rudolph, *Z. Naturforsch.* **20a**, 1676 (1965).
- [18] R. C. Bingham, M. J. S. Dewar u. D. H. Lo, *J. Amer. Chem. Soc.* **97**, 1285, 1294 (1975).
- [19] G. Wagnière u. W. Hug, *Tetrahedron* **27**, 4765 (1971).
- [20] J. M. Sichel u. M. A. Whitehead, *Theor. Chim. Acta* **11**, 220 (1968).
- [21] W. Hug u. G. Wagnière, *Helv. Chim. Acta* **54**, 633 (1971).
- [22] M. Carmack u. L. A. Neubert, *J. Amer. Chem. Soc.* **89**, 7134 (1967).