

УДК 541.12.038.2:536.75:536.728

**ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ ТЕТРАПЕПТИДА  
NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe ПО ДАННЫМ ДВУМЕРНОЙ  
<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ**

*М.Н. Шамсутдинов, А.Р. Юльметов, А.В. Клочков, С. Бергер,  
А.В. Аганов, В.В. Клочков*

**Аннотация**

Межпротонные расстояния и пространственное строение тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в смеси 10% D<sub>2</sub>O / 90% H<sub>2</sub>O определены методом двумерной спектроскопии ЯМР (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H) NOESY с использованием подавления сигнала протонов растворителя (метод предварительного насыщения). В работе обсуждается соответствие определенных методом двумерной ЯМР NOESY спектроскопии межпротонных расстояний в тетрапептиде и их значений, рассчитанных для наиболее выгодной конформации олигопептида, определенной с помощью программы MORAC 93 (метод РМ 3).

**Ключевые слова:** ЯМР-, <sup>1</sup>H ЯМР-, <sup>13</sup>C ЯМР-, 2D NOESY ЯМР-спектроскопия, пространственная структура, олигопептиды.

**Введение**

Белки или протеины представляют собой чрезвычайно сложные органические молекулы – биополимеры (полипептиды), структурными единицами которых являются аминокислоты. Хорошо известно, что биологическая активность протеинов связана с их пространственным строением. Исследование строения биологических макромолекул методом ЯМР в растворах основано на величинах констант спин-спинового взаимодействия (J), позволяющих определять торсионные углы. Кроме того, используют и двумерную ЯМР NOESY спектроскопию, дающую возможность устанавливать пространственное расположение магнитных ядер, отстоящих друг от друга на расстоянии до 5 Å [1–4]. Изучение конформаций олигопептидов, содержащих в цепи от трех до восьми аминокислотных остатков, представляет интерес, поскольку их можно рассматривать в качестве структурных блоков протеинов и знание их строения может быть использовано для предсказания конфигурации цепей полипептидов [5].

Ранее [6] с использованием подхода, основанного на анализе величин констант остаточного диполь-дипольного взаимодействия [7, 8] между магнитными ядрами <sup>13</sup>C и <sup>1</sup>H, разделенными одной химической связью (<sup>1</sup>D), было определено пространственное строение относительно небольшой молекулы – тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe. Применение этого подхода для определения пространственного строения небольших органических соединений, подпадающих под условие предельного сужения ( $\omega_0 \cdot \tau_c \ll 1$ , где  $\tau_c$  – время корре-

ляции молекулярного движения,  $\omega_0$  – угловая скорость прецессии магнитных ядер), в растворе начали появляться в литературе недавно [9–13]. Значимость этого подхода возрастает, если учесть, что применение вышеназванного метода двумерной ЯМР NOESY спектроскопии к относительно малым молекулам не всегда эффективно [3, 4]. Это обусловлено малыми временами корреляции  $\tau_c$  таких молекул в растворе, что приводит к слабым по интенсивности кросс-пикам в спектрах NOESY и затрудняет получение количественной информации о межпротонных расстояниях.

В той же работе [6] для определения межпротонных расстояний, напрямую характеризующих пространственную геометрию тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе D<sub>2</sub>O, использовался метод 2D NOESY ЯМР-спектроскопии. Однако наблюдать кросс-пики между протонами, принадлежащими к различным аминокислотным фрагментам, в спектрах 2D NOESY не удалось. Это объяснялось тремя причинами:

- а) удаленностью друг от друга  $\alpha\text{CH}$  или  $\alpha\text{CH}_2$  протонов, принадлежащих различным аминокислотным остаткам;
- б) отмеченной неэффективностью метода двумерной ЯМР NOESY спектроскопии в исследовании строения относительно малых молекул;
- в) участием амидных протонов в межмолекулярном обмене.

Использование инструментальных возможностей ЯМР-спектрометра “AVANCE ПТМ-500” (Bruker) позволило исключить последний фактор и наблюдать в спектрах ЯМР 2D NOESY кросс-пики между протонами, относящимися к различным аминокислотным фрагментам, что дало, в свою очередь, возможность определить некоторые межпротонные расстояния в тетрапептиде NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе.

### Экспериментальная часть

Регистрация ЯМР <sup>1</sup>H (500 МГц) и <sup>13</sup>C (125.69 МГц) спектров тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в смеси 10% D<sub>2</sub>O / 90% H<sub>2</sub>O или в D<sub>2</sub>O (100%) проводилась на ЯМР-спектрометре “AVANCE ПТМ-500” фирмы “Bruker”. Спектрометр работает в режиме внутренней стабилизации по линии резонанса <sup>2</sup>H. При записи спектров ЯМР <sup>1</sup>H использовали 90-градусные импульсы, а задержки между импульсами равнялись 2 с; ширина спектра была 15 м. д.; число накоплений от 10 и более. При записи спектров ЯМР <sup>13</sup>C применялись 45-градусные импульсы и использовали широкополосную развязку от протонов; задержки между импульсами равнялись 2 с; ширина спектра была равной 200 м. д., число накоплений от 4000 до 8000, применяли цифровую экспоненциальную фильтрацию с константой, равной 2–4 Гц. Двумерные спектры 2D HSQC и COSY [14] использовались для отнесения сигналов в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe. Образцы представляли собой растворы соединения в соответствующих растворителях, концентрации вещества 2–5% (весовых) при записи спектров ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C. При проведении двумерных ЯМР-экспериментов (NOESY-модификация) в молекулярной системе NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe спектры записывались с использованием фазочувствительной методики для 1024 точек F2-координаты и 256 точек F1-координаты; использо-

вალასь экспоненциальная фильтрация вдоль обеих координат. Параметр времени смешивания  $\tau_m$  изменялся от 0.2 до 0.8 с.

### Обсуждение результатов

Как уже отмечалось, ранее [6] нами была проведена попытка количественного исследования пространственного строения NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе D<sub>2</sub>O методом двумерной ЯМР NOESY спектроскопии. Одной из проблем, приводящей к невозможности извлечения информации об относительном расположении различных аминокислотных остатков в цепи олигопептида является участие амидных протонов в межмолекулярном обмене. Растворение тетрапептида в D<sub>2</sub>O приводит к исчезновению в спектре сигналов обменивающихся с дейтерием амидных протонов, которые являются связующим звеном между различными аминокислотами. Увеличение же количества обычной воды в растворителе приводит к доминированию сигнала протонов H<sub>2</sub>O над сигналами исследуемого соединения, что делает невозможным регистрацию спектров ЯМР <sup>1</sup>H и, соответственно, регистрацию двумерных <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H ЯМР NOESY спектров тетрапептида.

Для решения этой проблемы необходимо применение импульсных последовательностей для подавления сигнала протонов воды в спектре ЯМР <sup>1</sup>H, что позволило бы использовать в качестве растворителя смесь 10% D<sub>2</sub>O / 90% H<sub>2</sub>O. Была рассмотрена эффективность различных импульсных последовательностей, входящих в пакет программ ЯМР-спектрометра "AVANCE ПТМ-500" фирмы "Bruker" [14]: а) метод предварительного насыщения (образец до начала эксперимента облучается импульсом длительностью порядка секунды на частоте растворителя); б) импульсная последовательность, подавление сигнала протонов воды в которой осуществлялось селективным составным 90-градусным импульсом; в) методика подавления сигнала протонов воды WATERGATE со стандартным 180-градусным импульсом {3-9-19-19-9-3}.

Сравнение полученных результатов применения указанных последовательностей показало, что различия в интенсивностях остаточных сигналов протонов воды в рамках этих способов минимальны, и, следовательно, можно применять любую из них. В дальнейшем за основу брали метод предварительного насыщения как наиболее простой и удобный при проведении экспериментов.

Приложение указанного метода подавления сигнала протонов воды в спектрах ЯМР <sup>1</sup>H позволило определить некоторые межпротонные расстояния в тетрапептиде NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe (**1**) в растворе, интерес к исследованию которого (и его производных) достаточно высок [15] (рис. 1).

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe (**1**), представленный на рис. 2, описан ранее [15], однако с целью упрощенного описания двумерного ЯМР NOESY спектра этого соединения на рисунке приводится сопоставление сигналов в спектре ЯМР <sup>1</sup>H.

Необходимо заметить, что сигнал, отмеченный звездочкой с  $\delta$  4.80 м. д., относится к сигналу протонов воды, и, как видно из рис. 2, интенсивность этого сигнала существенно меньше, чем интенсивности сигналов протонов тетрапептида. Использование растворителя с высоким содержанием воды в сочетании

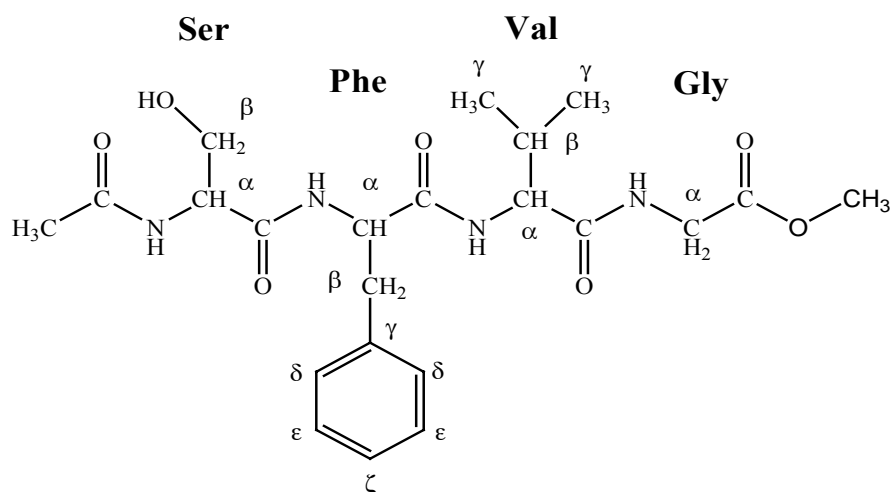
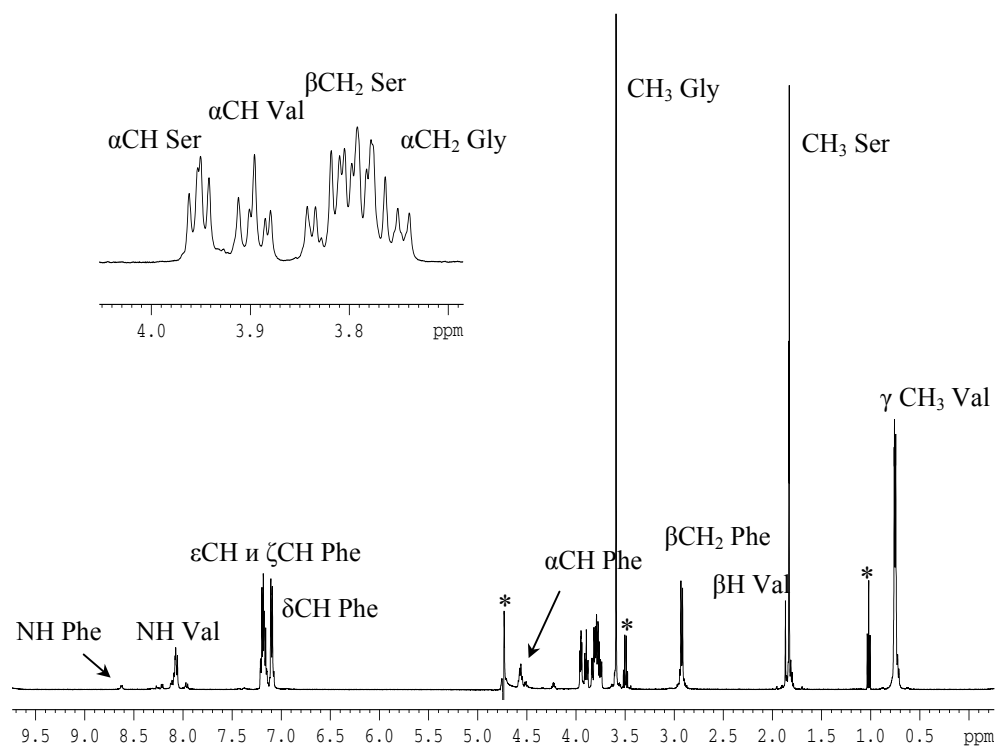


Рис. 1. Структурная формула тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe

Рис. 2. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе 10%  $\text{D}_2\text{O}$  / 90%  $\text{H}_2\text{O}$  (звездочкой отмечены сигналы примесей)

с методикой подавления сигнала растворителя позволяет наблюдать в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  олигопептида сигналы амидных протонов ( $\delta$  7.80÷8.70 м. д). К сожалению, из всех возможных сигналов амидных протонов однозначно был отнесен лишь сигнал протона NH Val, который связан с атомом азота пептидной связи валина.

Табл. 1

Химические сдвиги ЯМР  $^{13}\text{C}$  атомов углерода ( $\delta_{\text{C}}$ , м. д., относительно ТМС) для тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe, растворенного в изотропном растворителе ( $\text{D}_2\text{O}$ )

$\alpha$ CH Ser	$\beta$ CH <sub>2</sub> Ser	$\alpha$ CH Phe	$\beta$ CH <sub>2</sub> Phe	2,6-CH Phe	3,5-CH Phe	4-CH Phe	$\alpha$ CH Val	$\beta$ CH Val	$\alpha$ CH <sub>2</sub> Gly
54.2	59.9	55.1	36.9	128.6	129.0	127.0	59.1	30.1	40.9

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe (растворенного в  $\text{D}_2\text{O}$ ) состоит из десяти синглетных сигналов (нами рассматривались лишь метиновые и метиленовые атомы углеродов), химические сдвиги которых сведены в табл. 1. Отнесение сигналов в спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  сделано в соответствии с литературными данными [1, 16] и на основании двумерных экспериментов 2D HSQC [14].

ЯМР-спектроскопия позволяет описать пространственное строение олигопептидов в терминах расположения аминокислотных фрагментов относительно связей  $\text{C}(\text{O})\text{--NH}$ . Это связано с тем, что вращение вокруг этих связей сопряжено с преодолением высокого барьера (75–80 кДж/моль [17–19]), что позволяет в шкале ЯМР наблюдать «вымороженные» спектры *транс*- и *цис*- (ориентация  $\text{C}(\text{O})$ - и  $\text{NH}$ -связей) конформеров, как это наблюдалось для бензол замещенных триглицеринов [20]. Поскольку для исследуемого соединения наблюдаются лишь индивидуальные спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  в воде, можно сделать вывод, что тетрапептид NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe, по данным ЯМР-спектроскопии, существует в растворе в виде одного из возможных конформеров относительно этих связей.

Для определения межпротонных расстояний и выявления пространственного строения тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe были записаны двумерные спектры ЯМР ( $^1\text{H}\text{--}^1\text{H}$ ) NOESY с вариацией времени смешивания  $\tau_m$ . В спектрах ЯМР 2D NOESY (рис. 3) удалось выявить кросс-пики между протонами, относящимися к различным аминокислотным фрагментам, что дало, в свою очередь, возможность определить некоторые межпротонные расстояния в молекуле NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе. Как уже отмечалось, для молекул с малым временем корреляции относительная интегральная интенсивность кросс-пигов невелика. В связи с этим использовалась методика сокращения времени задержки между сериями импульсов и нормирование кросс-пигов на диагональные пики, что в совокупности позволяет уменьшить время эксперимента и увеличить точность получаемых результатов [21].

На практике зависимость константы скорости кросс-релаксации от времени смешивания определяется из соотношения:

$$\sigma_{ij}\tau_m = \frac{1}{2} \left( \left| \frac{a_{ij}(\tau_m)}{a_{ii}(\tau_m)} \right| + \left| \frac{a_{ji}(\tau_m)}{a_{jj}(\tau_m)} \right| \right), \quad (1)$$

где  $\sigma_{ij}$  – константа скорости кросс-релаксации;  $a_{ij}$  – интегральные интенсивности диагональных ( $i = j$ ) и кросс-пигов в двумерном спектре ЯМР NOESY. Экспериментальные значения, согласно выражению (1), можно легко аппроксимировать линейной зависимостью. Тангенс угла наклона линейной зависи-

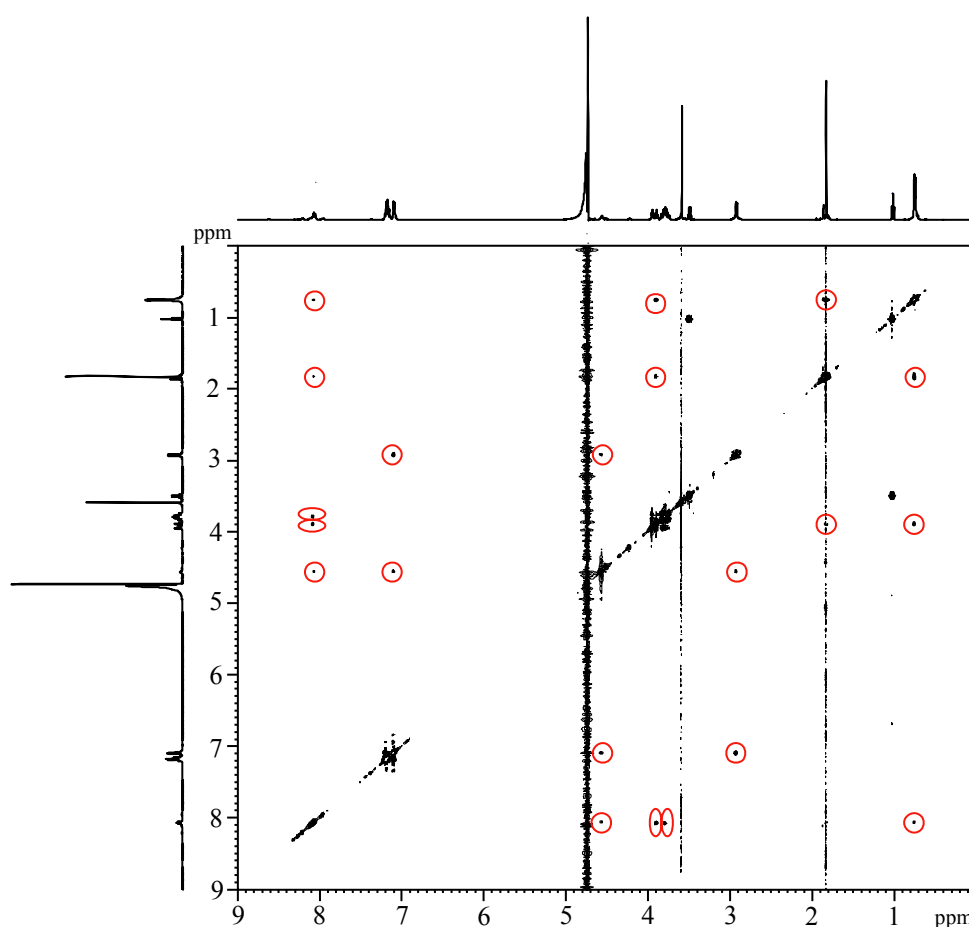


Рис. 3. Спектр ЯМР ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) NOESY тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe в растворе 10%  $\text{D}_2\text{O}$  / 90%  $\text{H}_2\text{O}$  с подавлением интенсивного сигнала растворителя ( $T = 288$  К, время смешивания  $\tau_m = 0.3$  с). Кружками отмечены кросс-пики, показывающие NOE взаимодействия между соответствующими протонами или группами протонов.

мости будет пропорционален значению константы скорости кросс-релаксации ( $\sigma_{ij}$ ) для данных групп протонов. На рис. 4 в качестве примера приведены зависимости усредненных относительных интегральных интенсивностей кросс-пиков для пар протонов  $\beta\text{CH Val} - \gamma\text{CH Val}$  и  $\alpha\text{CH Phe} - \delta\text{CH Phe}$  от времени смешивания  $\tau_m$ .

Использование зависимости константы скорости кросс-релаксации  $\sigma_{ij}$  от расстояния между взаимодействующими протонами  $r_{ij}$ , согласно [3], позволяет вычислить относительные значения межпротонных расстояний в молекуле исследуемого вещества. Если одно из значений расстояния, полученное иным методом, известно, то из отношения констант скорости кросс-релаксации можно

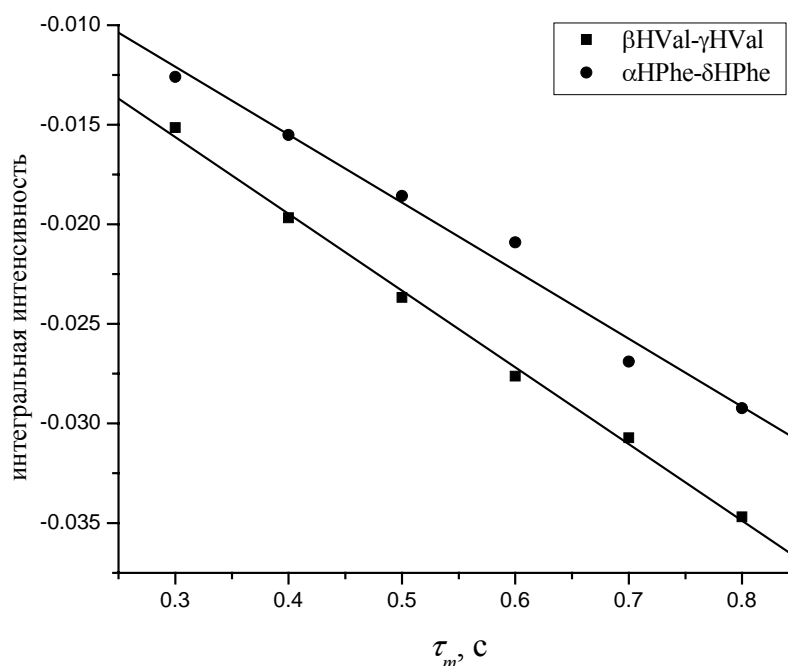


Рис. 4. Зависимости усредненных относительных интегральных интенсивностей кросс-пиков для пар протонов  $\beta\text{CH Val} - \gamma\text{CH Val}$  и  $\alpha\text{CH Phe} - \delta\text{CH Phe}$  от времени смешивания  $\tau_m$

вычислить абсолютные значения расстояний между  $i$  и  $j$  протонами:

$$r_{ij} = r_k \left( \frac{\sigma_k}{\sigma_{ij}} \right)^{1/6}, \quad (2)$$

где  $\sigma_k$  – скорость кросс-релаксации для калибровочной пары протонов, а  $r_k$  – расстояние между калибровочными протонами. В качестве калибровочного выбиралось расстояние между соседними протонами фенильного кольца фенилаланина  $r_k = 2.49 \text{ \AA}$ . Такой выбор обусловлен тем, что бензольное кольцо представляет собой жесткую молекулярную структуру и расстояние между протонами соседних атомов углерода можно считать неизменным в любых растворителях.

Измеренные таким способом межпротонные расстояния приведены в табл. 2. Там же приведены рассчитанные значения усредненных расстояний в наиболее выгодной конформации тетрапептида, определенной в рамках программы MORAS 93 (метод PM 3). Необходимо отметить, что усреднение рассчитанных расстояний там, где это было необходимо, проводилось с учетом зависимости константы скорости кросс-релаксации от расстояния в шестой степени. Сравнение результатов показывает, что значения межпротонных расстояний в тетрапептиде NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe, полученные методом двумерной ЯМР NOESY спектроскопии с использованием подавления сигнала

Табл. 2

Экспериментальные значения некоторых межпротонных расстояний в тетрапептиде NAc-Ser-Phe-Val-Gly-Ome ( $r$ , Å), полученные методом двумерной ЯМР NOESY ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) спектроскопии, величины ошибок ( $\Delta r$ , Å) в определении расстояний и рассчитанные значения ( $r_{\text{теор}}$ , Å) этих величин в наиболее выгодной конформации тетрапептида, определенной с помощью программы МОРАС 93 (метод РМ 3)

	$r$	$\Delta r$	$r_{\text{теор}}$
$\delta\text{CH Phe} - \epsilon\text{CH Phe}$	2.49		2.49
$\delta\text{CH Phe} - \alpha\text{CH Phe}$	2.64	0.09	2.63
$\delta\text{CH Phe} - \beta\text{CH}_2\text{ Phe}$	2.29	0.07	2.34
$\beta\text{CH Val} - \gamma\text{CH}_3\text{ Val}$	2.59	0.10	2.46
$\alpha\text{CH Phe} - \beta\text{CH}_2\text{ Phe}$	2.34	0.12	2.54
$\delta\text{CH Phe} - \beta\text{CH}_2\text{ Ser}$	3.50	0.12	3.24
$\alpha\text{CH Phe} - \text{NH Val}$	2.55 (3.65)	0.08	3.72
$\beta\text{CH Val} - \alpha\text{CH Val}$	2.66 (3.10)	0.06	2.56
$\alpha\text{CH Val} - \gamma\text{CH}_3\text{ Val}$	2.57	0.08	2.41
$\beta\text{CH}_2\text{ Phe} - \text{NH Val}$	3.41	0.11	2.62
$\gamma\text{CH}_3\text{ Val} - \text{NH Val}$	3.06	0.08	2.40
$\beta\text{CH Val} - \text{NH Val}$	3.12 (2.46)	0.13	3.59
$\alpha\text{CH Val} - \text{NH Val}$	2.45 (2.92)	0.09	2.94

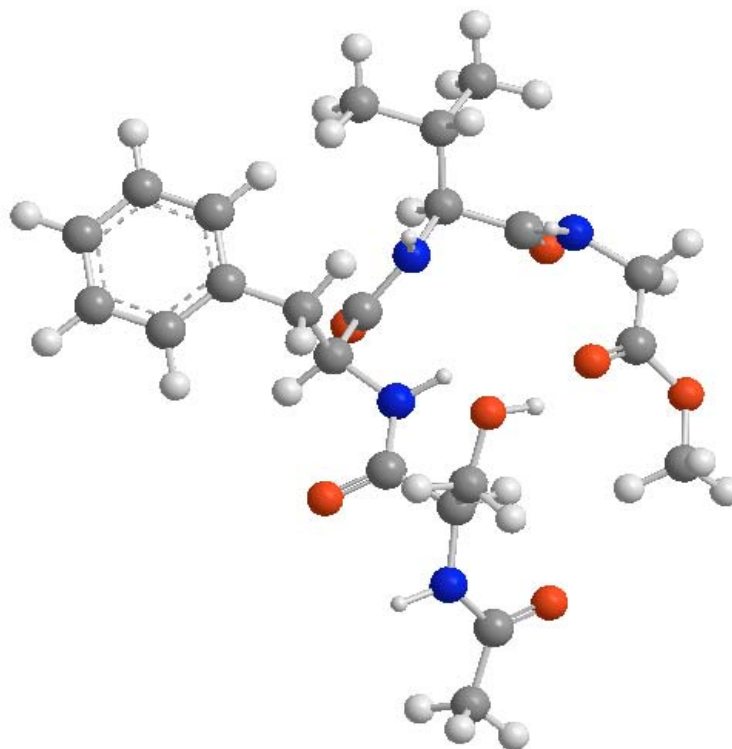


Рис. 5. Конформация тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-Ome, определенная с помощью подхода, основанного на анализе величин констант остаточного диполь-дипольного взаимодействия между магнитными ядрами  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  [6]



растворителя находятся в хорошем согласии (в пределах ошибки эксперимента) с результатами расчетов этих величин лишь для пар протонов (или групп протонов), непосредственно примыкающих к атомам углерода. Существенное расхождение экспериментальных и рассчитанных значений межпротонных расстояний в тетрапептиде NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe для пар протонов, один из которых принадлежит амидному (NH Val) протону, может быть объяснено вкладом в интегральную интенсивность соответствующих кросс-пиков как процессов кросс-релаксации, так и процесса химического обмена протона NH с протонами воды [22, 23]. Следует также отметить, что измеренные таким образом межпротонные расстояния находятся в согласии с расстояниями, рассчитанными из геометрии тетрапептида (данные о расстояниях приведены в табл. 2 в скобках), определенной с помощью подхода, основанного на анализе величин констант остаточного диполь-дипольного взаимодействия между магнитными ядрами  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  (рис. 5) [6].

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 06-03-32101a) и совместной программы CRDF и Министерства образования РФ (007-03).

### Summary

*M.N. Schamsutdinov, A.R. Yulmetov, A.V. Klochkov, S. Berger, A.V. Aganov, V.V. Klochkov. A Spatial Structure of Tetrapeptide (NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe) Determined by 2D NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) NOESY Spectroscopy.*

Inter-proton distances and the spatial structure of tetrapeptide NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe in mixture of 10% D<sub>2</sub>O / 90% H<sub>2</sub>O were determined by 2D NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) NOESY spectroscopy using the suppression of solution protons NMR signals method. The article views the accordance of the experimental inter-proton distances in tetrapeptide determined by 2D NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ ) NOESY spectroscopy and their values for the lowest energy conformation of oligopeptide obtained from the quantum chemical semi-empirical calculations performed within MOPAC 93 software using the PM 3 method.

**Key words:** NMR,  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, 2D NMR NOESY spectroscopy, spatial structure, oligopeptides.

### Литература

1. *Wuthrich K.* NMR of Proteins and Nucleic Acids. – N. Y.: Wiley-VCH, 1986. – 396 p.
2. *Modern Techniques in Protein NMR. Ser. Biological Magnetic Resonance. V. 16 / Eds. N.R. Krishna, N.R. Berliner.* – N. Y.: Kluwer Academic, 2002. – 540 p.
3. *Ernst R.R., Bodenhausen B., Wokaun A.* Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. – Oxford: Oxford Univ. Press, 1987. – 610 p.
4. *Van der Ven, Frank J.M.* Multidimensional NMR in liquids: basic principles and experimental methods. – N. Y; Toronto: Wiley-VCH, 1995. – 399 p.
5. *Bradley E.K., Kerr J.M., Richter L.S., Figliozzi G.M., Goff D.A., Zuckermann R.N., Spellmeyer D.C., Blaney J.M.* NMR structural characterization of oligo-N-substituted glycine lead compounds from a combinatorial library // *Molecular Diversity*. – 1997. – V. 3, No 1. – P. 1–15.
6. *Клочков В.В., Скирда В.Д., Клочков А.В., Бергер С.* Пространственное строение тетрапептида NAc-Ser-Phe-Val-Gly-OMe определенное путем анализа констант оста-

- точного диполь-дипольного взаимодействия // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2007. – Т. 149, кн. 1. – С. 21–30.
7. *Tjandra N., Bax A.* Direct Measurement of distances and angles in biomolecules by NMR in a dilute liquid crystalline medium // *Science*. – 1997. – V. 278. – P. 1111–1114.
  8. *Alba E., Tjandra N.* NMR dipolar couplings for the structure determination of biopolymers in solution // *Progr. NMR Spectroscopy*. – 2002. – V. 40. – P. 175–197.
  9. *Thiele C.M., Berger S.* Probing the diastereotopicity of methylene protons in strychnine using residual dipolar couplings // *Org. Lett.* – 2003. – V. 5. – P. 705–708.
  10. *Klochkov V.V., Khairutdinov B.I., Klochkov A.V., Shtyrlin V.G., Shaykhutdinov R.A.* A spatial structure of triglycine determined by the residual dipolar couplings analysis // *Appl. Magn. Reson.* – 2003. – V. 25. – P. 113–119.
  11. *Klochkov A.V., Khairutdinov B.I., Tagirov M.S., Klochkov V.V.* Determination of the spatial structure of glutathione by residual dipolar coupling analysis // *Magn. Reson. Chem.* – 2005. – V. 43. – P. 948–951.
  12. *Ohnishi S., Shortle D.* Observation of residual dipolar couplings in short peptides // *Proteins*. – 2003. – V. 50. – P. 546–551.
  13. *Bernado P., Blackledge M.* Anisotropic Small Amplitude Peptide Plane Dynamics in Proteins from Residual Dipolar Couplings // *J. Am. Chem. Soc.* – 2004. – V. 126. – P. 4907–4920.
  14. *Berger S., Braun S.* 200 and More NMR Experiments: A Practical Course. – Weinheim: Wiley-VCH, 2004. – 853 p.
  15. *Diaz M.D., Berger S.* Preferential Solvation of a Tetrapeptide by Trifluorethanol as Studied by Intermolecular NOE // *Magn. Reson. Chem.* – 2001. – V. 39. – P. 369–373.
  16. *Breitmaier E., Woelter W.* <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. Methods and application in organic chemistry. – Weinheim, N. Y.: Verlag Chemie, 1978. – 322 p.
  17. *Dynamic Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* / Eds. L.M. Jackman, F.A. Cotton. – N. Y., San Francisco, London: Acad. Press, 1975. – 660 p;
  18. *Sandstrom J.* *Dynamic NMR Spectroscopy*. – London: Acad. Press, 1982. – 226 p.
  19. *Oki M.* *Application of dynamic NMR spectroscopy to organic chemistry*. – N. Y. VCH Publ., Inc. 1985. – 423 p.
  20. *Anishetty S., Pennathur G., Anishetty R.* Tripeptide analysis of protein structures // *BMC Structural Biology*. – 2002. – V. 2. – P. 1472–1507.
  21. *Gadiev T.A., Khairutdinov B.I., Antipin I.S., Klochkov V.V.* Analysis of the spatial structure of calixarenes in solutions by 2-D NMR (NOESY) spectroscopy // *Appl. Magn. Reson.* – 2006. – V. 30, No 2. – P. 65–73.
  22. *Klochkov V.V., Karatayeva F.Kh., Shaikhutdinov R.A., Khairutdinov B.I., Molins M.-A., Pons M.* The separation of cross-relaxation and exchange in two-site spin systems without resolved couplings // *Appl. Magn. Reson.* – 2002. – V. 22, No 4. – P. 431–438.
  23. *Klochkov V.V., Shaikhutdinov R.A., Khairutdinov B.I., Klimovitskii E.N., Findeisen M., Berger S.* The separation of cross-relaxation and exchange in two-site spin systems with weak spin-spin couplings // *Appl. Magn. Reson.* – 2003. – V. 24, No 1. – P. 97–103.

Поступила в редакцию  
17.01.08

---

**Шамсутдинов Марат Надирович** – аспирант кафедры общей физики Казанского государственного университета.

**Юльметов Айдар Рафаилович** – кандидат физико-математических наук, инженер кафедры общей физики Казанского государственного университета.

**Клочков Антон Владимирович** – аспирант кафедры молекулярной физики Казанского государственного университета.

**Бергер Стефан** – доктор философии, профессор, директор Института аналитической химии Университета Лейпцига, Федеративная Республика Германия.

**Аганов Альберт Вартанович** – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей физики Казанского государственного университета.

**Клочков Владимир Васильевич** – доктор химических наук, профессор, профессор кафедры общей физики Казанского государственного университета.

E-mail: *Vladimir.Klochkov@ksu.ru*