



УДК 547.96 : 541.6

ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ
ЦИКЛОГЕКСАОКСИИЗОВАЛЕРИЛА, *цикло[-(L-HyIv-D-HyIv)₃-]*
И ЕГО K⁺-КОМПЛЕКСА

*Шишова Т. Г., Симонов В. И., Иванов В. Т.,
Евстратов А. В., Михалева И. И., Балашова Т. А.,
Овчинников Ю. А.*

*Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова
Академии наук СССР*

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

С использованием прямых методов определения фаз выполнен рентгеноструктурный анализ кристаллического образца *цикло[-(L-HyIv-D-HyIv)₃-]* (I). В элементарной ячейке присутствуют два центросимметричных конформера, имеющих близкие поворотные углы Φ , Ψ , ω и χ . Найденные структуры характеризуются чередующимся вверх-вниз расположением карбоксильных и изопропильных групп по отношению к средней плоскости циклического остова. Спектральными методами показано, что аналогичные конформации реализуются как в полярных, так и в неполярных средах. Обнаружена способность соединения (I) связывать в растворах ионы щелочных металлов и измерена устойчивость соответствующих эквимольных комплексов. Найден следующий ряд ионной избирательности комплексообразования: $K^+, Rb^+ > Cs^+ > Na^+ > Li^+$. Доказано образование комплексов с соотношением макроцикл — катион, равным 2 : 1. По аналогии с комплексами эниатина В предложена пространственная структура комплекса (I)·K⁺.

В ходе изучения зависимости между структурой и функцией ионофорных антибиотиков-депсипептидов ранее [1] был синтезирован аналог (I) эниатина В (II) (рис. 1), получающийся путем формальной замены остатков L-N-метилвалина (MeVal) * природного антибиотика на остатки L- α -оксиизовалериановой кислоты (HyIv) и содержащий в качестве полярных групп только сложноэфирные группы. Настоящая работа посвящена изучению способности соединения (I) связывать ионы щелочных металлов в растворах, а также анализу конформационных состояний свободного депсида (I) и его K⁺-комплекса.

Цикло [- (L-HyIv-D-HyIv)₃-] исследовался в кристаллическом состоянии и в растворах. Рентгеноструктурный анализ (см. «Экспериментальную часть») показал, что в базисной области элементарной ячейки кристалла расположены две центросимметричные молекулы циклогексаоксиизовалерила. Центр инверсии, который характеризует собственную симметрию каждой молекулы, совпадает с центром симметрии кристаллической

* В работе приняты сокращения аминокислотных остатков, рекомендованные комиссией IUPAC — IUB [2], HyIv и Lac — соответственно остатки α -оксиизовалериановой и молочной кислоты.

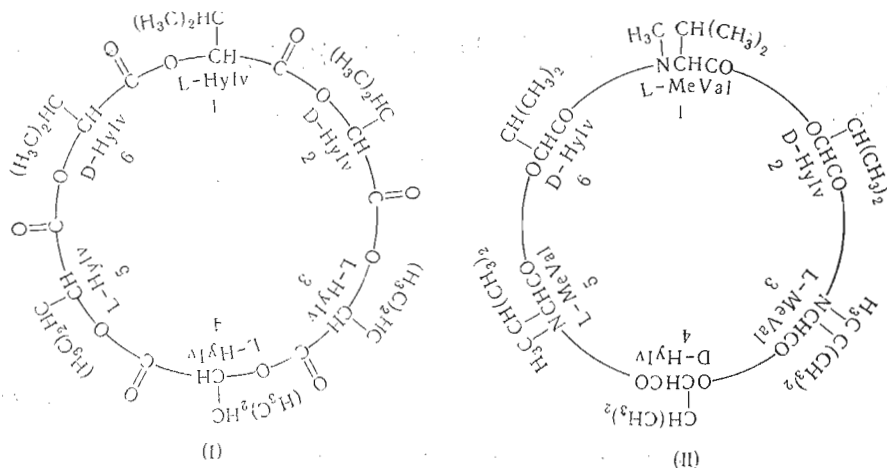


Рис. 1. Строение циклогексаоксиизовалерила (I) и энниатина В (II).

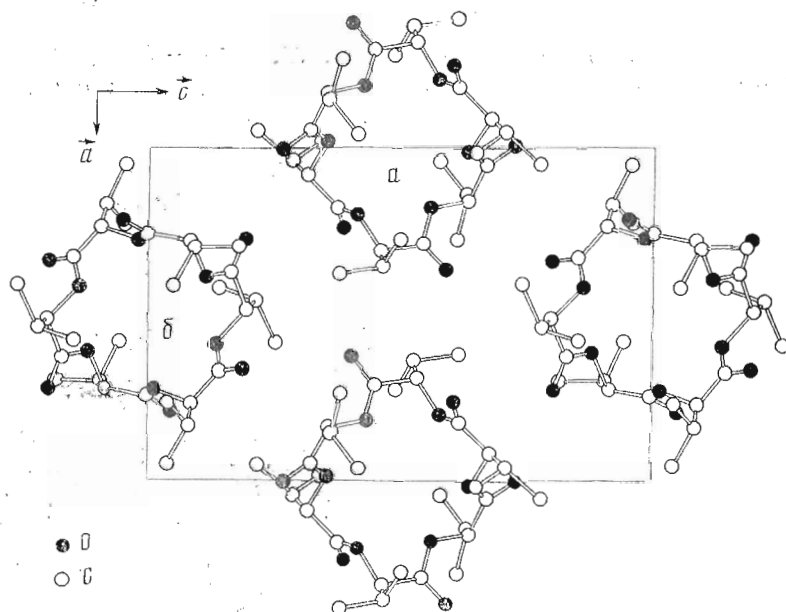


Рис. 2. Расположение молекул циклогексаоксиизовалерила в кристаллической структуре. Проекция на плоскость ac (приведен один слой молекул)

структуры, и фактически независимыми в кристалле оказываются половины двух кристаллографически разных молекул.

На рис. 2 в проекции на плоскость ac изображено взаимное расположение молекул в элементарной ячейке кристалла. Для упрощения приведен лишь один слой молекул, концентрирующихся вблизи плоскости $y = 0,5$. Второй слой молекул параллелен первому, отстоит от него на $1/2$ по оси b и может быть получен из изображенного на рисунке слоя путем действия элементов симметрии группы 2_1 или плоскости b . При этом кольца молекул a и b будут охватывать соответственно начало координат и середину проекции ac ячейки. Координаты базисных атомов структуры и их индивидуальные изотропные температурные факторы B приведены в табл. 1. Величины B для 18 атомов двух независимых полуколец укладываются в пределы от 4 до 6 Å^2 , а для атомов в боковых цепях возрастают и изменяются от 6 до 9 Å^2 ; у атомов $O_7, O_9, C_2^{7/2}, C_3^{7/1}, C_9^{7/2}$ повышаются до 11 Å^2 , а для

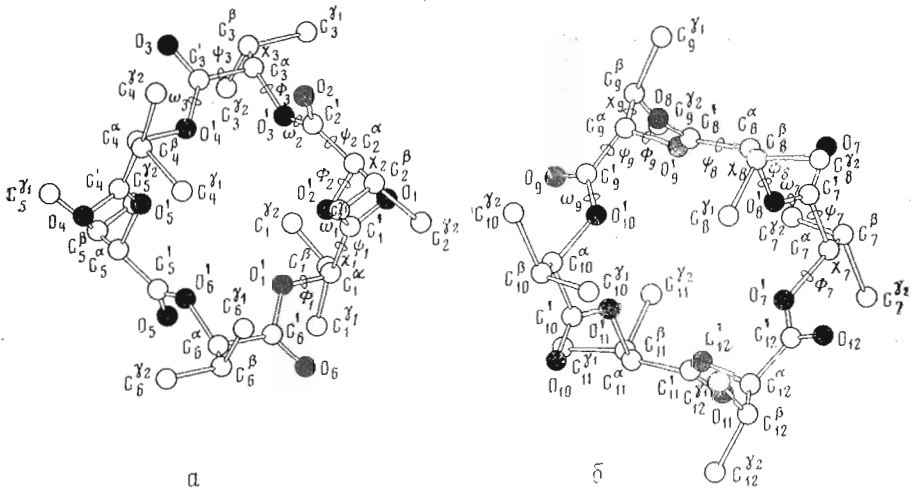


Рис. 3

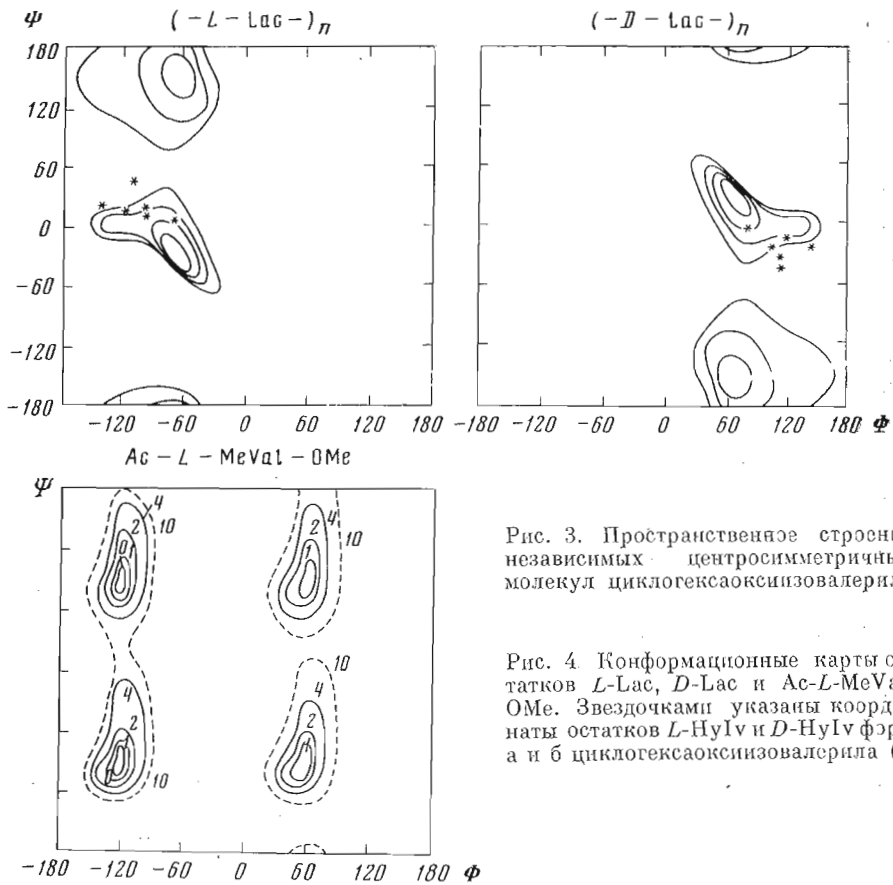


Рис. 3. Пространственное строение независимых центросимметричных молекул циклогексаоксиизовалерила

Рис. 4. Конформационные карты остатков *L*-Лас, *D*-Лас и Ас-*L*-МеVal-ОМе. Звездочками указаны координаты остатков *L*-НуIv и *D*-НуIv форм а и б циклогексаоксиизовалерила (I)

Рис. 4

Координаты и параметры теплового движения базисных атомов
цикло [-(*L*-HyIv-*D*-HyIv)₃-]

Атомы	<i>x/a</i>	<i>y/b</i>	<i>z/c</i>	<i>B</i> , Å ²	Атомы	<i>x/a</i>	<i>y/b</i>	<i>z/c</i>	<i>B</i> , Å ²
O ₁ '	0,8209	0,0449	0,0638	4,52	C ₂ '	0,8194	0,0592	0,8785	4,50
O ₂ '	0,0153	0,0190	0,8572	4,07	C ₃ ^α	0,3116	0,0120	0,0342	4,44
O ₃ '	0,2010	0,0056	0,0809	4,76	C ₃ ^β	0,3605	0,0940	0,0305	7,58
O ₇ '	0,4224	0,0168	0,6353	4,77	C ₃ ^{γ1}	0,3796	0,1206	0,1167	11,01
O ₈ '	0,3883	0,0573	0,3887	4,99	C ₃ ^{γ2}	0,2752	0,1414	0,9947	9,39
O ₉ '	0,2749	-0,0012	0,5153	4,94	C ₇ '	0,7097	0,0143	0,484	5,32
O ₁	0,0026	0,0705	0,2309	9,98	C ₇ ^α	0,5142	0,0272	0,6995	4,35
O ₂	0,7562	0,1106	0,8878	5,89	C ₇ ^β	0,5394	0,1087	0,7182	5,25
O ₃	0,6293	0,0107	0,0947	7,52	C ₇ ^{γ1}	0,4165	0,1367	0,7536	9,54
O ₇	0,7242	0,0109	0,6958	11,53	C ₇ ^{γ2}	0,5799	0,1560	0,6456	9,00
O ₈	0,2159	0,1120	0,5471	8,11	C ₇ '	0,3751	0,0087	0,3299	7,52
O ₉	0,6580	0,0794	0,3041	10,76	C ₈ ^α	0,2818	0,0930	0,4151	4,65
C ₁ ^α	0,8387	0,0770	0,1402	3,72	C ₈ ^β	0,2988	0,1777	0,4043	6,08
C ₁ ^β	0,8570	0,1642	0,1364	6,11	C ₈ ^{γ1}	0,4196	0,2110	0,4445	8,20
C ₁ ^{γ1}	0,7359	0,1961	0,1140	7,39	C ₈ ^{γ2}	0,2971	0,1947	0,3155	9,41
C ₁ ^{γ2}	0,9623	0,1873	0,0817	9,19	C ₈ '	0,2566	0,0705	0,4990	6,12
C ₁ '	0,9485	0,0442	0,1747	6,60	C ₉ ^α	0,7669	0,0303	0,4122	5,76
C ₂ ^α	0,9164	0,0545	0,8196	3,90	C ₉ ^β	0,8300	0,1050	0,4181	9,36
C ₂ ^β	0,9572	0,1323	0,7882	7,03	C ₉ ^{γ1}	0,9484	0,0933	0,4611	14,71
C ₂ ^{γ1}	0,0170	0,1835	0,8464	9,84	C ₉ ^{γ2}	0,7668	0,1589	0,4581	11,01
C ₂ ^{γ2}	0,0501	0,1190	0,7190	1,52	C ₉ '	0,6706	0,0300	0,3550	8,83

атома C₉^{γ1} достигают 14 Å². Физически такие вариации *B* оправданы тем, что указывают на возрастание тепловых колебаний атомов по мере удаления от основной цепи к периферии молекулы. Аналогичные результаты получены при исследовании структуры циклотетрадецепептида цикло-(-*L*-MeIle-*D*-HyIv-*L*-MeLeu-*D*-HyIv-) (III) [3].

Конформации двух независимых молекул циклогексаоксиовалерила, показанные на рис. 3, весьма близки друг другу. Обозначения атомов на рисунке и в табл. 1—3 даны в соответствии с номенклатурой для пептидных систем, предложенной в [4]. Простые эфирные (некарбонильные) атомы обозначены через O'.

Анализ длин связей показывает, что расстояния между атомами в изученной структуре находятся в хорошем согласии с данными для циклических тетрадецепептидов (табл. 2). Обращает на себя внимание лишь сравнительно заниженное значение длин связей C'—C^α и O'—C^α, которому трудно найти объяснение. В табл. 2 для циклогексаоксиовалерила приведены средние значения длин связей по шести независимым остаткам HyIv обеих независимых молекул. Наибольший разброс в значении длин связей наблюдается для связи C^β—C^γ (средняя длина связи равна 1,51 Å, максимальное отклонение от среднего — 0,09 Å). Это можно объяснить тем, что атомы C^γ наиболее сложно точно локализовать из-за наличия у них тепловых колебаний с большой амплитудой (см. табл. 1).

Таблица 2

Длина связей (Å) в молекулах *цикло[-(L-НуIV-D-НуIV)₃-I* (I), *цикло(-L-Мелле-D-НуIV-L-МеVal-D-НуIV)-(III)* [3], *цикло(-D-МеVal-L-НуIV-L-МеVal-D-НуIV-)* (IV) [5] и *цикло(-D-МеVal-D-НуIV-D-НуIV-L-НуIV-)* (V) [6]

Связь	(I) LDLDD пр и j*, равном												(III) LDDL				(IV) DLLD				(V) DDDL	
	при j, равном												при j, равном									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	средн	1,3	2,4	1,3	2,4	1,3	2,4	1,3	2,4	
$O_j^{\alpha}C_j^{\alpha}$	1,43	1,46	1,47	1,43	1,46	1,47	1,50	1,45	1,44	1,50	1,45	1,41	1,45	—	1,46	1,46	—	—	—	—	1,50	1,48
$C_j^{\alpha}O_{j+1}^{\alpha}$	1,34	1,37	1,36	1,34	1,37	1,36	1,33	1,35	1,31	1,33	1,35	1,31	1,34	—	1,29	1,25	—	—	—	—	1,36	1,34
$C_j^{\alpha}C_j^{\alpha}$	1,51	1,48	1,50	1,51	1,48	1,50	1,51	1,51	1,45	1,51	1,51	1,45	1,49	1,56	1,60	1,59	1,52	1,52	1,56	1,52	1,53	1,51
$C_j^{\alpha}O_j$	1,21	1,20	1,19	1,21	1,20	1,19	1,23	1,21	1,25	1,23	1,21	1,25	1,22	1,47	1,23	1,19	1,26	1,26	1,22	1,16	1,23	1,31
$C_j^{\alpha}C_j^{\beta}$	1,57	1,54	1,55	1,57	1,54	1,55	1,51	1,54	1,49	1,51	1,54	1,49	1,53	1,60	1,56	1,53	1,56	1,56	1,56	1,58	1,54	1,58
$C_j^{\beta}C_j^{\alpha}$	1,55	1,49	1,55	1,54	1,60	1,45	1,61	1,60	1,54	1,55	1,54	1,41	1,54	1,48	1,61	1,52	1,54	1,54	1,58	1,51	1,61	1,55
$C_j^{\beta}C_j^{\beta}$	1,54	1,60	1,45	1,55	1,49	1,55	1,55	1,54	1,41	1,61	1,60	1,54	1,54	1,56	1,56	1,53	1,57	1,52	1,52	1,57	1,52	1,53

* j — номер оксигенного остатка.

Величины валентных углов в молекулах соединений (I) и (III) — (V) в градусах

Угол	(I) $LDLDD$ при j , равном												(III) $LDDL$					(IV) $DLLD$			(V) $DDDL$	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	сред- нее	1,3	2,4	1,3	2,4	1,3	2,4			
$C_j^\alpha C_j^\beta O_j$	123,6	126,4	119,7	123,6	126,4	119,7	120,6	123,4	125,0	120,6	123,1	125,0	123,1	123,2	145,2	124,8	119,6	123,5	116,4			
														123,7	109,6			127,5	117,9			
$C_j^\alpha C_j^\beta O_j + 1$	118,8	120,9	124,4	118,8	120,9	124,4	121,5	122,2	115,2	121,5	122,2	115,2	120,5	—	122,0	124,4	—	126,8	—			
														—	121,8			123,8	—			
$C_{j-1}^\alpha O_j C_j^\alpha$	116,2	117,7	116,2	116,2	117,7	116,2	119,9	117,3	118,2	119,9	117,3	118,2	117,6	—	120,6	—	115,7	—	114,0			
														—	116,9			—	121,6			
$O_j^\alpha C_j^\beta C_j$	107,1	107,6	114,4	107,1	107,6	114,4	105,9	103,7	110,8	105,9	108,7	110,8	108,6	—	111,4	—	103,2	—	109,7			
														—	111,3			—	112,6			
$C_j^\alpha C_j^\beta O_j + 1$	117,6	112,5	115,8	117,6	112,5	115,8	117,8	114,6	118,6	117,8	114,6	118,6	116,2	109,8	—	110,9	—	109,6	—			
														114,4	—	—	—	108,1	—			
$O_j^\alpha C_j^\beta C_j^\beta$	111,9	110,8	110,4	111,9	110,8	110,4	111,3	110,0	114,1	111,3	110,0	114,1	114,1	—	—	—	—	—	—			
$C_j^\beta C_j^\alpha C_j^\beta$	109,9	111,3	107,8	109,9	111,3	107,8	111,7	112,9	111,4	111,7	112,9	111,4	111,4	—	—	—	—	—	—			
$C_j^{\gamma_1} C_j^\beta C_j^{\gamma_2}$	114,9	108,1	107,4	114,9	108,1	107,4	110,8	111,4	109,5	110,8	111,4	109,5	109,5	—	—	—	—	—	—			
$C_j^{\gamma_1} C_j^\beta C_j^\alpha$	108,2	115,7	106,9	110,5	106,4	111,6	105,4	112,1	106,2	113,4	103,1	115,1	115,1	—	—	—	—	—	—			
$C_j^{\gamma_2} C_j^\beta C_j^\alpha$	110,5	106,4	111,6	108,2	115,7	106,9	113,4	108,1	115,1	105,4	112,1	106,2	106,2	—	—	—	—	—	—			

Конформационные параметры циклогексаоксиизовалерила

Форма	Остаток	Φ	Ψ	ω	$ \Delta\omega $	$\theta_{C'}$	χ_1	χ_2
а	1 <i>L</i> -HyIv	-144,3	+21,4	+175,0	5,0	-2,2	-72,5	+68,7
	2 <i>D</i> -HyIv	+116,3	-48,1	-171,5	8,5	-9,4	-49,3	+50,0
	3 <i>L</i> -HyIv	-81,3	+3,7	-174,2	5,8	-3,4	-60,6	+47,1
	4 <i>D</i> -HyIv	+144,3	-21,4	-175,0	5,0	+2,2	-68,7	+72,5
	5 <i>L</i> -HyIv	-116,3	+48,1	+171,5	8,5	+9,4	-50,0	+49,3
	6 <i>D</i> -HyIv	+81,3	-3,7	+174,2	5,8	+3,4	-47,1	+60,6
б	7 <i>L</i> -HyIv	-120,6	+17,3	+178,9	1,1	-3,6	-49,9	+75,3
	8 <i>D</i> -HyIv	+116,5	-45,0	-165,2	14,8	-6,0	-36,7	+79,4
	9 <i>L</i> -HyIv	-108,7	+20,9	+170,3	9,7	-7,7	-77,9	+55,3
	10 <i>D</i> -HyIv	+120,6	-17,3	-178,9	1,1	+3,6	-75,3	+49,9
	11 <i>L</i> -HyIv	-116,5	+45,0	+165,2	14,8	+6,0	-79,4	+36,7
	12 <i>D</i> -HyIv	+108,7	-20,9	-170,3	9,7	+7,7	-55,3	+77,9

Различие в длинах связей $C^{\beta}-C^{\gamma}$ наблюдалось также у ранее изученных циклических тетрадепептидов (III) [3], *цикло*(-*D*-MeVal-*L*-HyIv-*L*-MeVal-*D*-HyIv-) (IV) [5] и *цикло*(-*D*-MeVal-*D*-HyIv-*D*-MeVal-*L*-HyIv-) (V) [6].

Валентные углы в структурах циклогексаоксиизовалерила хорошо согласуются с величинами соответствующих углов, найденных в циклотетрадепептидах (табл. 3). Известно, что основным отличием геометрических параметров сложноэфирных связей от амидных в депептидах является несколько меньший угол $C'O'C^{\alpha}$, чем $C'NC^{\alpha}$ (стандартная величина угла $C'NC^{\alpha}$ равна 122°) [3, 5, 6]. В изученной структуре этот эффект четко проявляется: среднее значение угла $C'O'C^{\alpha}$, найденное по шести независимым остаткам HyIv, составляет $117,6^{\circ}$.

Поворотные углы в кристаллических структурах соединения (I) приведены в табл. 4. Все 12 сложноэфирных групп имеют *транс*-конфигурацию, обычную для депептидных систем. Угол $\Delta\omega$, характеризующий степень отклонения ω (двугранного угла $C_j^{\alpha}C_j'O_{j+1}C_{j+1}^{\alpha}$) от идеального значения для плоской *транс*-конфигурации, равного 180° , составляет $|\Delta\omega| = 1-15^{\circ}$ ($\omega = 180^{\circ} \pm \Delta\omega$). Аналогичные значительные величины $\Delta\omega$ были найдены в структурах циклических [5, 6] и даже некоторых линейных [7] пептидов. Для более полной характеристики пептидной единицы Рамачандраном [7, 8] были введены углы θ_C и θ_N , характеризующие степень отклонения от плоскости связей, сходящихся на атомах C' и N. Для циклогексаоксиизовалерила интервал углов θ_C составляет $2-9^{\circ}$, что несколько больше, чем у линейных пептидов ($0-4^{\circ}$ [8]), но меньше, чем у сравнительно напряженных циклотетрадепептидов (III) — (V) ($8-15^{\circ}$ [3, 5, 6]).

Как видно из табл. 4, конформационные параметры всех шести остатков *L*-HyIv и шести остатков *D*-HyIv несколько различаются. Однако отличия эти невелики, причем координаты одноименных остатков располагаются вблизи областей низких энергий на конформационных картах остатков *L*- и *D*-Lac [9, 10], моделирующих соответствующие остатки HyIv (рис. 4). Координаты остатков *L*-HyIv находятся в левом верхнем квадранте конформационной карты *L*-Lac, а координаты остатков *D*-HyIv — в правом нижнем квадранте. Такие параметры отвечают конформациям типа P, обсуждавшимся ранее для энниатина В [11—14]. Для найденных конформаций соединения (I) характерна чередующаяся ориентация следующих вдоль цепи карбонильных групп вверх и вниз по отношению к средней плоскости цикла. При этом атомы кислорода карбонильных

Параметры спектров ЯМР цикло[-(L-НyIv-D-НyIv)₃-] и его К⁺-комплекса

Растворитель	°С	Концентрация, М	δ, м. д.			³ J _{C^αH-C^βH} , Гц
			C-CH ₃	C ^β H	C ^α H	
CDCl ₃	28	0,031	1,01; 1,03	2,21	4,90	5,1
C ₆ D ₅ CD ₃ -CS ₂ (1:2)	30	0,007	0,93	2,16	4,91	5,1
»	15	0,007	0,91; 0,93	2,09	4,88	4,9
»	-56	0,007	0,86; 0,89	2,06	4,74	4,9
»	-94	0,007	0,87	2,04	4,85	3,1
»	-110	0,007	0,90	2,01	4,60	Уширение
C ₆ D ₅ CD ₃ -CCl ₂ F ₂ (1:3)	25	0,007	0,98	2,24	5,03	4,9
»	-3	0,007	0,97; 0,98	2,24	4,99	4,8
»	-78	0,007	0,96	2,19	4,85	4,4
»	-120	0,007	0,92	2,16	4,73	≤3
»	-150	0,007	0,92	2,10	4,55	Уширение
CD ₃ OD	(~) 25	0,018	1,04; 1,05	2,21	4,90	5,0
CD ₃ CN	25	0,035	—	—	4,81	5,6
CD ₃ CN + 10 г-экв KNCS	25	0,035	—	—	4,87	5,1

групп расположены на периферии молекулы и пространственно удалены друг от друга, что снижает их взаимное диполь-дипольное отталкивание. Аналогичным (вверх-вниз) образом располагаются и изопропильные боковые цепи. Однако если у энниатина В они лишь незначительно отклоняются от средней плоскости цикла, то в конформациях а и б циклогексаоксиовалерила угол наклона связей C^α-C^β к средней плоскости цикла близок к 90°. Таким образом, замена N-метиламидных групп энниатина В на сложноэфирные, хотя и сопровождается некоторым изменением поворотных углов вдоль связей основной цепи, не приводит к появлению принципиально новых пространственных структур.

Все остатки НyIv имеют *gosh*-ориентацию протонов во фрагментах C^αH-C^βH с $\chi = -36 \div -73^\circ$ (см. рис. 3 и табл. 4), часто встречающуюся в депсипептидных системах [3, 5, 6, 13, 15-23]. Метильные группы боковых цепей (по одному метилу от каждой изопропильной группы) занимают значительную часть молекулярной полости, образованной депсипептидным остовом, поэтому найденные структуры весьма компактны.

Соединение (I) оптически неактивно, и при исследовании его свойств в растворах не могли быть использованы такие эффективные методы, как КД или ДОВ. Были измерены УФ-спектры соединения (I) (рис. 5), спектры ЯМР (рис. 6 и табл. 5) и дипольный момент в хлороформе ($\mu = 4,19 \pm \pm 0,1$ D). При переходе от гептана к этанолу в УФ-спектрах наблюдается обычное для карбонильного хромофора коротковолновое смещение максимума $n \rightarrow \pi^*$ -перехода (212 \rightarrow 205 нм), связанное с повышением полярности среды и не позволяющее сделать каких-либо конформационных выводов. Как видно из табл. 5, спектры ЯМР соединения (I) при комнатной температуре обнаруживают редкое постоянство значений δ протонов C^αH, что указывает на отсутствие больших конформационных перестроек при смене растворителя. В отличие от энниатина В [11-14] цикло[-(L-НyIv-D-НyIv)₃-] не обнаруживает признаков разделения сигналов в спектрах ЯМР при охлаждении его растворов в C₆D₅CD₃-CS₂ (1 : 2) до -110° и в C₆D₅CD₃-CCl₂F₂ (1 : 3) примерно до -150° (рис. 6). Следовательно, у этого соединения не реализуется конформация, аналогичная форме N энниатина В, лишенная элементов симметрии и представляющая собой равновесную смесь трех эквивалентных структур, отделенных друг от друга срав-

Рис. 5. УФ-спектры цикло- $[-(L\text{-HyIv-D-HyIv})_3]$ в гептane (1) и этаноле (2), а также его K^+ -комплекса в $0,07 \cdot 10^{-2}$ M растворе KCl в этаноле (3)

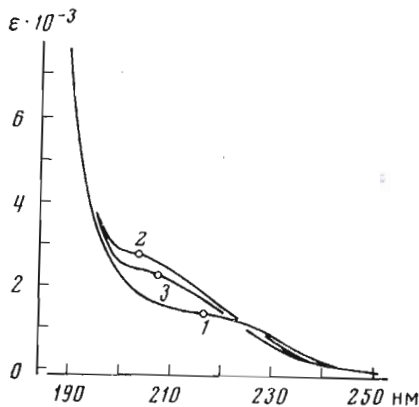


Рис. 5

Рис. 6. Спектры ЯМР цикло- $[-(L\text{-HyIv-D-HyIv})_3]$ в $C_6D_5CD_3$ — CS_2 (1 : 2) (1, 2) и $C_6D_5CD_3$ — CF_2Cl_2 (1 : 3) (3, 4)

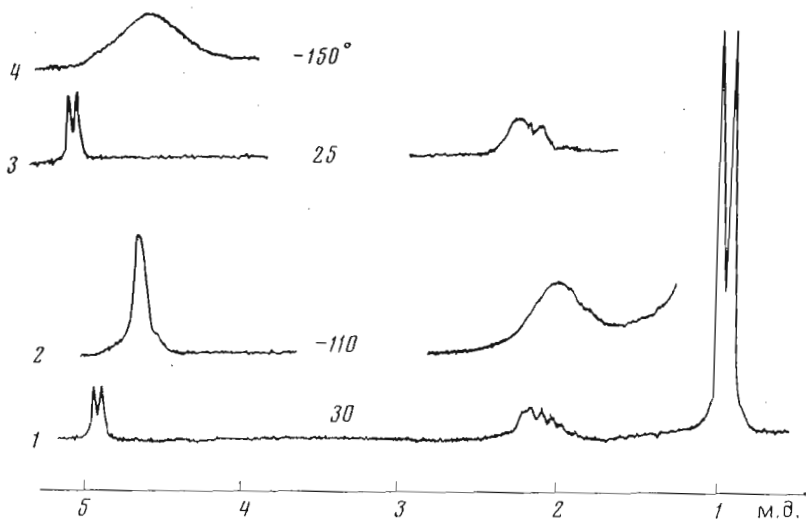


Рис. 6

нительно высоким энергетическим барьером [13, 24]. Столь существенные различия конформационных возможностей энниатина В и соединения (I), по-видимому, связаны с более высокой конформационной подвижностью остатков MeVal антибиотика, чем остатков HyIv соединения (I): как видно из рис. 4, на конформационной карте Ac-MeVal-OMe присутствуют четыре изоэнергетических минимума, в то время как на картах оксикислотных остатков имеется лишь по два минимума потенциальной энергии.

Не вызывает сомнений, что доминирующие в растворе конформации соединения (I) относятся, как и кристаллические формы, к типу \underline{P} , однако асимметрия полосы валентных колебаний CO-группы (см. рис. 7) указывает на отсутствие оси симметрии C_3 . Вероятнее всего, в растворах в быстром равновесии находится несколько близких форм \underline{P} , но несимметричных конформеров соединения (I), что дополнительно подтверждается довольно высоким дипольным моментом (см. выше): Во всех растворителях фрагменты $C^\alpha H-C^\beta H$ имеют преимущественно *gauche*-ориентацию, как следует из значений констант ${}^3J_{C^\alpha H-C^\beta H}$ 4,9—5,6 Гц; при понижении температуры доля *gauche*-конформации становится еще больше (${}^3J_{C^\alpha H-C^\beta H} \ll 3$ Гц, табл. 5).

Кондуктометрическим методом [25] было показано, что цикло $[-(L\text{-HyIv-D-HyIv})_3]$ в спиртовом растворе образует эквимольные комплексы с ионами щелочных металлов, имеющие несколько меньшие кон-

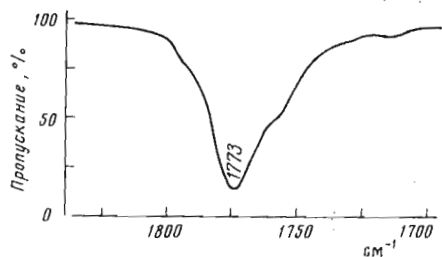


Рис. 7

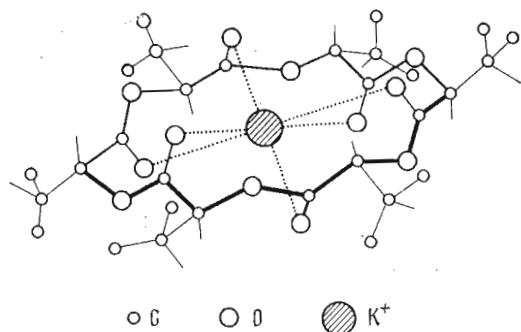


Рис. 9

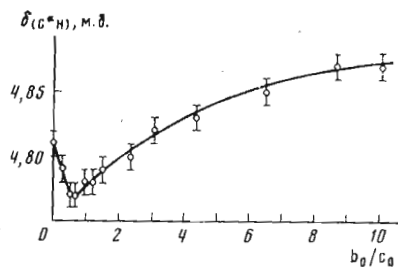


Рис. 8

Рис. 7. ИК-спектр (область валентных колебаний CO-групп) *цикло*[-(L-HyIv-D-HyIv)₃] в CHCl₃; c 0,12 М

Рис. 8. Зависимость химического сдвига (δ) сигнала C²H-протонов соединения (I) при его титровании роданистым калием в ацетонитриле при 25° от соотношения концентраций [соль] / [макроцикл] (b₀/c₀)

Рис. 9. Вероятная конформация K⁺-комплекса *цикло*[-(L-HyIv-D-HyIv)₃]

станты устойчивости, чем энниатин В (см. также [14, 26]); как и у последнего, устойчивость комплексов убывает в ряду K⁺, Rb⁺, > Cs⁺ > Na⁺ > Li⁺ (табл. 6). Образование K⁺-комплекса сопровождается некоторым изменением УФ-спектров (рис. 5) и спектров ЯМР (табл. 5). Кривая зависимости δ (C²H) от соотношения [соль] : [макроцикл], полученная при титровании соединения (I) роданистым калием, имеет немонотонный характер с экстремумом и выходом на плато при большом избытке соли (рис. 8). Отсюда следует, что при недостатке соли, как и в случае энниатина В, в растворе преимущественно образуется комплекс с соотношением макроцикл — катион, равным 2 : 1 (так называемый сэндвич),

Таблица 6

Константы устойчивости (K, M⁻¹) комплексов *цикло*[-(L-HyIv-D-HyIv)₃] с ионами щелочных металлов (этанол, 25°)

Li ⁺	Na ⁺	K ⁺	Rb ⁺	Cs ⁺
<50	170	1000	1000	700

который при дальнейшем добавлении соли переходит в эквимольный комплекс. По аналогии с энниатином В ему естественно приписать конформацию типа P, показанную на рис. 9 и напоминающую заряженный диск с липофильными краями. В целом свойства соединения (I) демонстрируют взаимозаменяемость сложноэфирных и N-метиламидных групп в качестве лигандов при образовании комплексов ионофоров с щелочными катионами; к такому же выводу привело и исследование ионофоров валиномициновой группы [21]. Полученные данные не позволяют сделать однозначного вывода о причинах отсутствия антимикробных свойств у соединения (I) [1], хотя одной из возможных причин представляется замедленная скорость комплексообразования, обусловленная меньшей конформационной подвижностью соединения (I) по сравнению с энниатином В.

Экспериментальная часть

Кристаллы соединения (I), полученные в работе [1] кристаллизацией из смеси эфира с гексаном, бесцветны, прозрачны, хорошо огранены, устойчивы на воздухе. Для получения рентгеновских экспериментальных данных отобрали монокристалл, которому придали форму сферы диаметром 0,35 мм. Рентгенографическое обследование выявило моноклинную симметрию кристаллов, анализ закономерных погасаний дифракционных отражений однозначно указал на принадлежность их к центросимметричной федоровской группе $P2_1/b$. В примитивной элементарной ячейке размером $a = 11,178 \pm 0,006$; $b = 17,997 \pm 0,008$; $c = 17,026 \pm 0,009$ Å; $\gamma = 93^\circ 7' \pm 2'$ подлежали размещению четыре молекулы состава $C_{30}H_{48}O_{12}$.

Трехмерный набор интенсивностей получили в автоматическом дифрактометре фирмы «Syntex» (США) на монохроматизированном $Mo K_\alpha$ -излучении. Все измеренные отражения (исключая те, интенсивность которых после вычета фона оказалась отрицательной) использовали в статистических расчетах знаков структурных амплитуд прямыми методами. Массив, использованный для определения структуры, состоял из 2870 независимых ненулевых структурных амплитуд. Поправку на поглощение рентгеновских лучей в образце не вводили ввиду малого значения μR 0,02.

Структуру определили прямым методом по программам «Рентген-70», разработанным В. И. Андриановым, З. Ш. Сафиной и Б. Л. Тарнопольским [27]. При нормировании структурных амплитуд определили усредненный изотропный параметр тепловых колебаний атомов $B = 4,00$ Å². Из 451 рефлекса с $|E| \geq 1,4$ составили 1611 тройных произведений. Для определения знаков структурных амплитуд в качестве опорных выбрали 12 отражений, включая 3 координатных, с критериями P_{\min} 0,95 и δ 0,75. Из 512 вариантов знаков, вычисленных по этим данным, автоматически отобрали 6 лучших, среди которых резко выделялся вариант знаков со следующими оценками: Q_1 412; R_1 0,883; Q_2 148, где Q_1 — число определенных знаков; R_1 — отношение суммы положительных тройных произведений к сумме всех тройных произведений; Q_2 — число отрицательных знаков.

По 412 структурным амплитудам со знаками этого варианта построили E -синтез, координаты 37 наиболее сильных пиков которого использовали для расчета фаз и синтеза трехмерного распределения электронной плотности по полному набору структурных амплитуд. Сравнение модели молекулы, полученной по E -синтезу, и структурной формулы соединения с учетом весов найденных пиков позволило уже на этом этапе провести идентификацию найденных атомов: 12 атомам была приписана рассеивающая способность атомов кислорода, а 25 — рассеивающая способность атомов углерода. Фактор расходимости (R) на этом этапе по всем структурным амплитудам составил 38,8%. Анализ полученного распределения электронной плотности позволил локализовать, кроме ранее найденных, еще 4 атома углерода (R 34%). Далее методом последовательных приближений с пересчетом электронной плотности получили исходные для уточнения методом наименьших квадратов координаты всех (без учета атомов водорода) 42 базисных атомов структуры. Фактор расходимости при переходе к уточнению структуры методом наименьших квадратов составлял R 29,7%.

В приближении изотропных тепловых колебаний атомов структуру уточнили до R 14,08%; $B_{\text{общ}}$ 6,17 Å². Дальнейшее уточнение структуры проводили по программам [28] с учетом анизотропии тепловых колебаний атомов, что снизило фактор расходимости R до 9,12%. В настоящее время ведется работа по локализации в структуре 48 атомов водорода.

УФ-спектры (I) измеряли на приборах «Cary-15» и «Cary-16» (США) в кюветах толщиной 1,0—10,0 мм при 23—25° и концентрациях $5 \cdot 10^{-4}$ М. Спектры ЯМР снимали на приборе JEOL JNM-4H-100 (Япония) с рабочей

частотой 100 МГц и стабилизацией резонансных условий по одному образцу. В качестве внутреннего стандарта использовали тетраметилсилан. Химические сдвиги определяли с точностью $\pm 0,01$ м.д., а константы спин-спинового взаимодействия — с точностью $\pm 0,4$ Гц. Температуру измеряли медь-константановой термопарой с точностью $\pm 2^\circ$ при помощи термоприставки к прибору JNM-4H-100.

Дипольный момент измеряли на приборе, работающем по принципу биений на частоте 1 МГц; расчет осуществляли по методу Гедестранда [29].

Авторы выражают благодарность В. И. Андрианову и Г. Н. Тищенко за полезные советы и помощь при расшифровке структуры, Н. А. Скобелеву за измерение констант устойчивости комплексов, Е. С. Ефремову за измерение дипольного момента и Е. А. Мещеряковой за измерение УФ-спектров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шемякин М. М., Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Рябова И. Д. (1972) *Ж. общ. химии*, **42**, 2320—2334.
2. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1972) *Biochem. J.*, **126**, 773—780.
3. Konnert J., Karle J. I. (1969) *J. Amer. Chem. Soc.*, **91**, 4888—4892.
4. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1971) *Biochem. J.*, **121**, 577—585.
5. Тищенко Г. Н., Каримов З., Борисов В. В. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 378—385.
6. Тищенко Г. Н., Каримов З., Борисов В. В. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 386—392.
7. Ramachandran G. N., Lakshminarayanan Q. V., Kolaskar Q. S. (1973) *Biochim. et biophys. acta*, **303**, 8—13.
8. Ramachandran G. N., Kolaskar Q. S. (1973) *Biochim. et biophys. acta*, **303**, 385—388.
9. De Santis P., Kovacs A. J. (1968) *Biopolymers*, **6**, 299—306.
10. Ingwall R. T., Goodman M. (1974) *Macromolecules*, **7**, 598—605.
11. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Evstratov A. V., Bystrov V. F., Abdullaev N. D., Popov E. M., Lipkind G. M., Arkhipova S. F., Efremov E. S., Shemyakin M. M. (1969) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **37**, 668—676.
12. Shemyakin M. M., Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Antonov V. K., Vinogradova E. I., Shkrob A. M., Malenkov G. G., Evstratov A. V., Laine I. A., Melnik E. I., Ryabova I. D. (1969) *J. Membr. Biol.*, **1**, 402—430.
13. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Evstratov A. V., Mikhaleva I. I., Bystrov V. F., Portnova S. L., Balashova T. A., Mescheryakova E. A., Tulchinsky V. M. (1974) *Int. J. Peptide Prot. Res.*, **6**, 465—498.
14. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М. (1974) Мембрано-активные комплексы, 120—186, «Мир», М.
15. Иванов В. Т., Лайне И. А., Абдуллаев Н. Д., Плетнев В. З., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Сенявина Л. Б., Мещерякова Е. А., Попов Е. М., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А. (1974) *Химия природн. соед.*, 221—246.
16. Иванов В. Т., Лайне И. А., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И. (1973) *Химия природн. соед.*, 248—263.
17. Иванов В. Т., Санасарян А. А., Червин И. И., Яковлев Г. И., Фомина Л. А., Сенявина Л. Б., Сычев С. В., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А. (1974) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 2319—2327.
18. Иванов В. Т., Санасарян А. А., Фомина Л. А., Сенявина Л. Б., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 214—225.
19. Иванов В. Т., Санасарян А. А., Сенявина Л. Б., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 226—238.
20. Иванов В. Т., Фомина Л. А., Сенявина Л. Б., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 5—16.
21. Иванов В. Т., Фомина Л. А., Сенявина Л. Б., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 869—875.
22. Иванов В. Т., Лавринович И. А., Портнова С. Л., Спассов С. Л., Мещерякова Е. А., Архипова С. Ф., Сенявина Л. Б., Овчинников Ю. А. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 25—32.
23. Иванов В. Т., Лавринович И. А., Портнова С. Л., Спассов С. Л., Мещерякова Е. А., Сенявина Л. Б., Овчинников Ю. А. (1975) *Биоорганическая химия*, **1**, 33—41.
24. Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Абдуллаев Н. Д., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А. (1974) *Химия природн. соед.*, 73—78.
25. Андреев И. М., Маленков Г. Г., Шкроб А. М., Шемякин М. М. (1971) *Молекулярная биология*, **5**, 614—623.

26. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Shkrob A. M. (1972) Proceedings of the Symposium on Mechanisms of Antibiotic Action on Protein Biosynthesis and Membranes (Muñoz E., Garcia-Ferrandiz F., Vazques D., eds.), 459—522, Elsevier, Amsterdam.
27. Андрианов В. И., Сафина З. Ш., Тарнопольский Б. А. (1971) Ж. структурн. химии, 12, 1052—1057.
28. Мурадян Л. А., Симонов В. И. (1973) Кристаллография, 18, 75—80.
29. Hedstrand G. (1929) Z. Phys. Chem., B2, 429—437.

Поступила в редакцию
2.VII.1975

THE SPATIAL STRUCTURE OF *CYCLO*[-(L-HyIv-D-HyIv)₃] AND ITS K⁺-COMPLEX

SHISHOVA T. G., SIMONOV V. I., IVANOV V. T., EVSTRATOV A. V.,
MIKHALEVA I. I., BALASHOVA T. A., OVCHINNIKOV Yu. A.

*A. V. Shubnikov Institute of Crystallography, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow; M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic
Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The X-ray diffraction analysis of the crystalline *cyclo*[-(L-HyIv-D-HyIv)₃] (I) was performed using direct methods of phase determination. The elementary cell was shown to consist of two centrosymmetrical conformers with very similar ϕ , ψ , ω and χ parameters. The carbonyl and i-C₃H₇ groups in both conformers were found to be alternatively positioned up and down the ring plane. Spectral data showed that in polar and nonpolar solvents (I) exists in the conformations of very similar type. In solutions (I) is capable of binding alkaline metal ions. The stability constants for the equimolar complexes of (I) with these cations were determined. The ionic rank order was found to be as follows: K⁺, Rb⁺ > Cs⁺ > Na⁺ > Li⁺. In addition, (I) was unequivocally shown to form complexes of 2 : 1 macrocycle to cation ratio. A spatial structure was suggested for the complex of (I). K⁺ which resembles the structure of enniatin B complex.