



УДК 547.964.4 + 541.63

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ  
СОСТОЯНИЙ АНАЛОГОВ ГРАМИЦИДИНА S \*

Мирошников А. И., Снежкова Л. Г., Сычев С. В.,  
Червин И. И., Сенявина Л. Б., Иванов В. Т.,  
Овчинников Ю. А.

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

Методами КД, ИК- и ЯМР-спектроскопии изучены конформационные состояния то-  
похимических аналогов грамицидина S.

Показано, что конформацией типа «складчатый лист», характерной для природной  
молекулы, обладают N,N'-дибензилоксикарбовил-грамицидин S, N,N'-диацетилграми-  
цидин S, N,N'-диацетилгергидрограмицидин S. Подобной конформацией обладает и  
N,N'-дибензилоксикарбовил-[Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>] грамицидин S. Отсюда следует, что некото-  
рая модификация боковых цепей орнитинных и фенилаланиновых остатков, как и за-  
мена пролина на глицин, не сказывается на пространственной структуре циклопеп-  
тидного остова. Остальные аналоги — «полностью L»-грамицидин S, *ретро*-грами-  
цидин S и *ретро*-[Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>] грамицидин S — не обнаруживают четких признаков  
конформации типа «складчатый лист».

Согласованное использование разнообразных физико-химических и тео-  
ретических методов анализа вместе с данными химического синтеза позво-  
лили в настоящее время достаточно надежно установить пространственную  
структуру циклодекапептидного антибиотика грамицидина S [1—7]. Най-  
денная структура, относящаяся к антипараллельному β-складчатому ти-  
пу (рис. 1), характеризуется наличием оси симметрии второго порядка,  
*транс*-конфигурацией вторичных амидных групп, жесткой системой *транс*-  
аннулярных водородных связей типа 4 → 1, образованных СО- и NH-  
группами остатков валина с NH- и СО-группами лейцина *транс*-ориен-  
тацией протонов NH—CH в остатках валина, лейцина и орнитина  
и *гачи*-ориентацией протонов NH=CH в остатках D-фенилаланина.

В предыдущем сообщении [8] был описан синтез серии аналогов гра-  
мицидина S (I), полученных с целью исследования зависимости между  
структурой и биологической функцией этого циклодекапептида. Были  
синтезированы [Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>] грамицидин S (вместо пролиновых в нем при-  
сутствуют глициновые остатки) (II), *ретро*-грамицидин S (аналог с обра-  
щенным направлением ацилирования) (IV), *ретро*-[Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>] грами-  
цидин S (V), их энантиомеры и так называемый *полностью L*-грамицидин  
S (вместо остатков D-фенилаланина антибиотика в нем присутствуют  
остатки L-фенилаланина (III)). При выборе объектов исследования пред-  
полагалось, что перечисленные модификации, не затрагивающие орнити-  
новые остатки с их функционально важными аминогруппами, необходи-  
мыми для проявления антимикробного действия [9], а также гидрофобные

\* В работе использованы сокращения аминокислотных остатков, синтетических  
аналогов природных пептидов и конформаций пептидов, рекомендованные комиссией  
IUPAC — IUB по биохимической номенклатуре: Biochem. J. (1972) 126, 773—780;  
(1967) 104, 17—19; (1971) 121, 577—585; Cha — остатки β-циклогексилаланина.

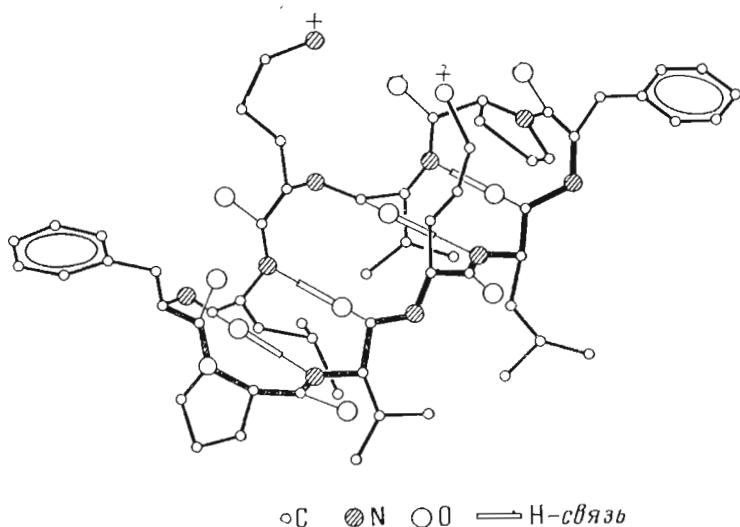


Рис. 1. Конформация грамицидина S в растворе

боковые цепи остатков валина, лейцина и фенилаланина должны изменить главным образом взаимную ориентацию атомов и групп грамицидина S, т. е. его стереохимию. Другими словами, исследование полученных аналогов должно пролить свет на конформационные аспекты связи между структурой и функцией грамицидина S.

В настоящей работе изучены конформационные состояния бензилоксикарбонильных (Z) производных (VI) — (X).

- (VI)  $cyclo[-(Val-Orn(Z)-Leu-D-Phe-Pro)_2-]$   
            $[Orn(Z)^2, (Orn(Z)^7)]$ грамицидин S,  
           или N,N'-дибензилоксикарбонил-грамицидин S
- (VII)  $cyclo[-(Val-Orn(Z)-Leu-D-Phe-Gly)_2-]$   
            $[Orn(Z)^2, Gly^5, Orn(Z)^7, Gly^{10}]$ грамицидин S,  
           или N,N'-дибензилоксикарбонил-[Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>]грамицидин S
- (VIII)  $cyclo[-(Val-Orn(Z)-Leu-Phe-Pro)_2-]$   
            $[Orn(Z)^2, Phe^4, Orn(Z)^7, Phe^9]$ грамицидин S,  
           или N,N'-дибензилоксикарбонил-«*вполностью L*»-грамицидин S
- (IX)  $cyclo[-(Pro-D-Phe-Leu-Orn(Z)-Val)_2-]$   
           *permo*- $[Orn(Z)^2, Orn(Z)^7]$ грамицидин S
- (X)  $cyclo[-(Gly-D-Phe-Leu-Orn(Z)-Val)_2-]$   
           *permo*- $[Orn(Z)^2, Gly^5, Orn(Z)^7, Gly^{10}]$ грамицидин S

Производные (VII) — (X) являются промежуточными соединениями при синтезе аналогов (II) — (V) [8], ввиду лучшей растворимости в органических растворителях они наиболее удобны для спектральных исследований. Кроме того, полученные при их исследовании выводы можно распространить и на незащищенные аналоги (II) — (V), поскольку введение бензилоксикарбонильных заместителей не влияет на конформационные состояния циклопептидов (см. ниже данные по соединению (VI)).

Были исследованы КД, ИК- и ПМР-спектры соединений (VI) — (X). Для облегчения спектральных отнесений изучались также грамицидин S (I), N,N'-диацетилграмицидин S (XI) и полученный из него гидрированием над платиновым катализатором N,N'-диацетилпергидрограмицидин S (XII), у которого вместо остатков фенилаланина присутствуют остатки β-циклогексилаланина (Cha)

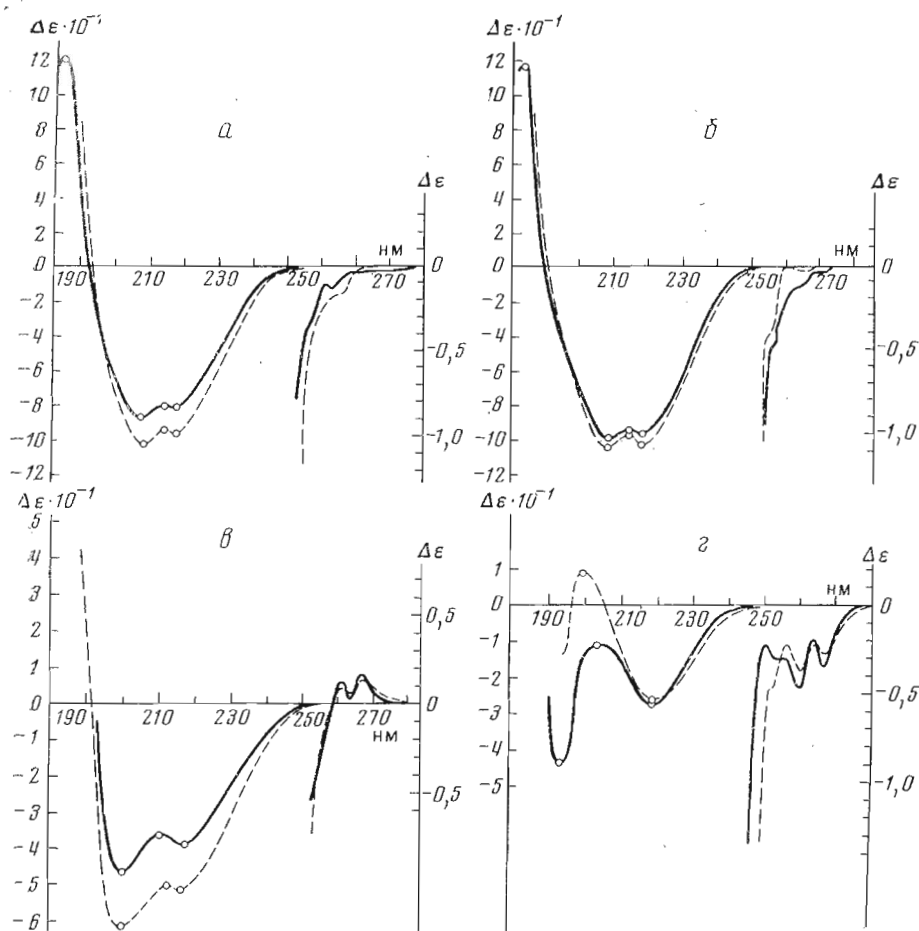


Рис. 2. Кривые КД соединений (I) и (VI) — (XII): а — (I), б — (VI), в — (VII), г — (VIII). Растворители:  $C_2H_5OH-H_2O$  (сплошная линия) (1 : 1) для (I), (IX) и (X); (3 : 2) для (VI); (2 : 3) для (VII), (VIII), (XI), (XII).  $C_2H_5OH-C_7H_{16}$  (штриховая линия) (1 : 6) для всех соединений

- 1,6   2,7   3,8, 4,9   5,10
- (XI) *cyclo* [-Val-Orn(Ac)-Leu-D-Phe-Pro]<sub>2</sub>]  
[Orn(Ac)<sup>2</sup>, Orn(Ac)<sup>7</sup>]грамицидин S
- (XII) *cyclo* [-Val-Orn(Ac)-Leu-D-Cha-Pro]<sub>2</sub>]  
[Orn(Ac)<sup>2</sup>, D-Cha<sup>4</sup>, Orn(Ac)<sup>7</sup>, D-Cha<sup>9</sup>]грамицидин S

Кривые КД измерялись в этаноле, а также в его смесях с водой и гептаном. Характер растворителя довольно слабо влиял на общий вид кривых; на рис. 2, а—г приведены данные для двух растворителей, максимально различающихся по своей полярности.

Способность NH-групп участвовать во внутримолекулярных водородных связях оценивалась по ИК-спектрам соединений (VI) — (X), снятых в разбавленных ( $2 \cdot 10^{-4}$  М) хлороформных растворах (см. рис. 3, а—в). Как показало исследование N,N'-диацетилграмицидина S [4], образование ассоциатов в этих условиях маловероятно; об этом же свидетельствует неизменность спектров после 2—3-кратного разбавления.

Спектры ПМР снимались в  $CDCl_3$ ,  $CH_3OH$  и их смесях при концентрации веществ  $1,2 \cdot 10^{-1}$  М. Однако в этих условиях в хлороформе наблюдает-

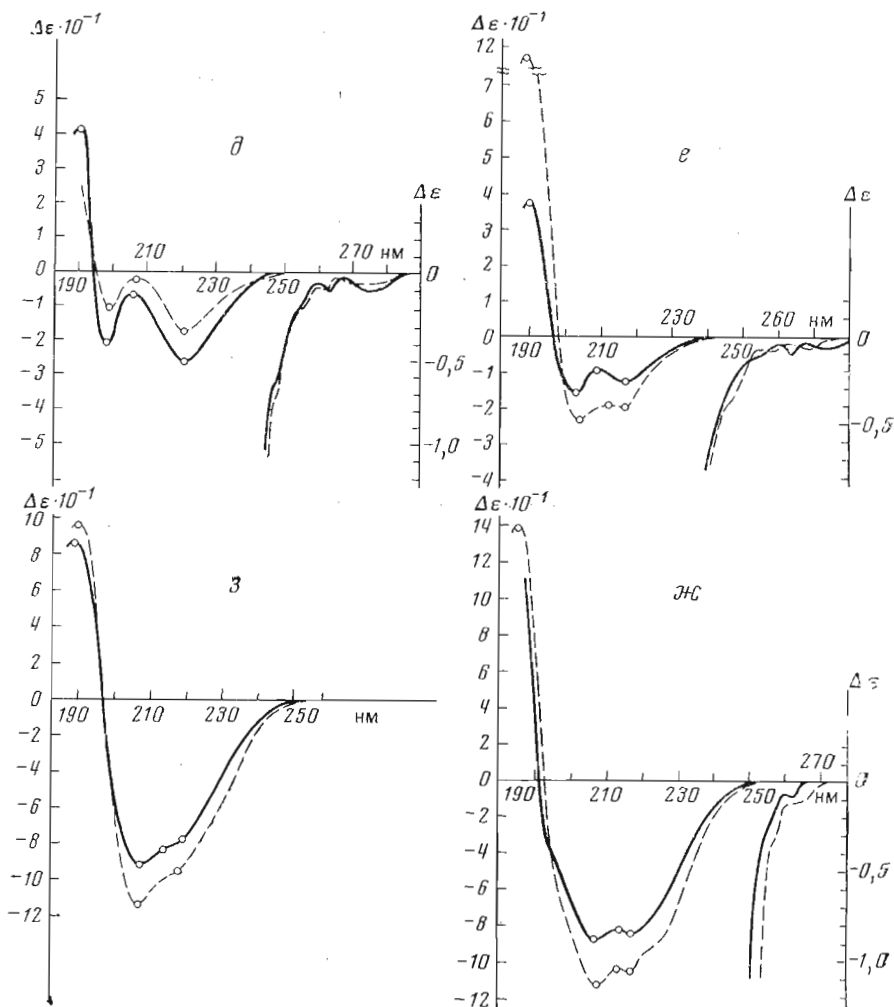


Рис. 2. а — (IX), б — (X), жс — (XI), в — (XII)

ся значительная ассоциация, приводящая к уширению сигналов в спектре. С другой стороны, в случае метанолсодержащих сред сигнал растворителя закрывает значительную спектральную область (5,0—3,0 м. д.), оставляя свободной для наблюдения только области С-метильных, ароматических и NH-протонов. Поэтому основная информация в работе была получена из параметров сигналов NH (таблица, рис. 4 и 5).

Прежде чем перейти к анализу спектральных данных, рассмотрим, каким образом сказываются на характере внутримолекулярных взаимодействий в известной конформации «складчатого листа» грамицидина S (см. [10, 11] и приведенные там ссылки) изменения его первичной структуры при переходе к аналогам (II) — (V) и (VI) — (X).

Характерной особенностью пространственной структуры антибиотика (рис. 1) является присутствие двух β-изгибов (рис. 6, а). Как показали исследования модельных циклопептидов [12—15] и расчеты [16], остатки пролина и чередующийся (LD и DI) набор конфигураций способствуют образованию устойчивых β-изгибов с водородными связями типа 4 → 1. Эти два фактора обеспечивают фиксированное положение β-изгибов на участках D-Phe-L-Pro; любое изменение их расположения должно приводить к повышению энергии системы. Глицериновые остатки, присутствующие вместо пролиновых у аналогов (II) и (VII), также часто встре-

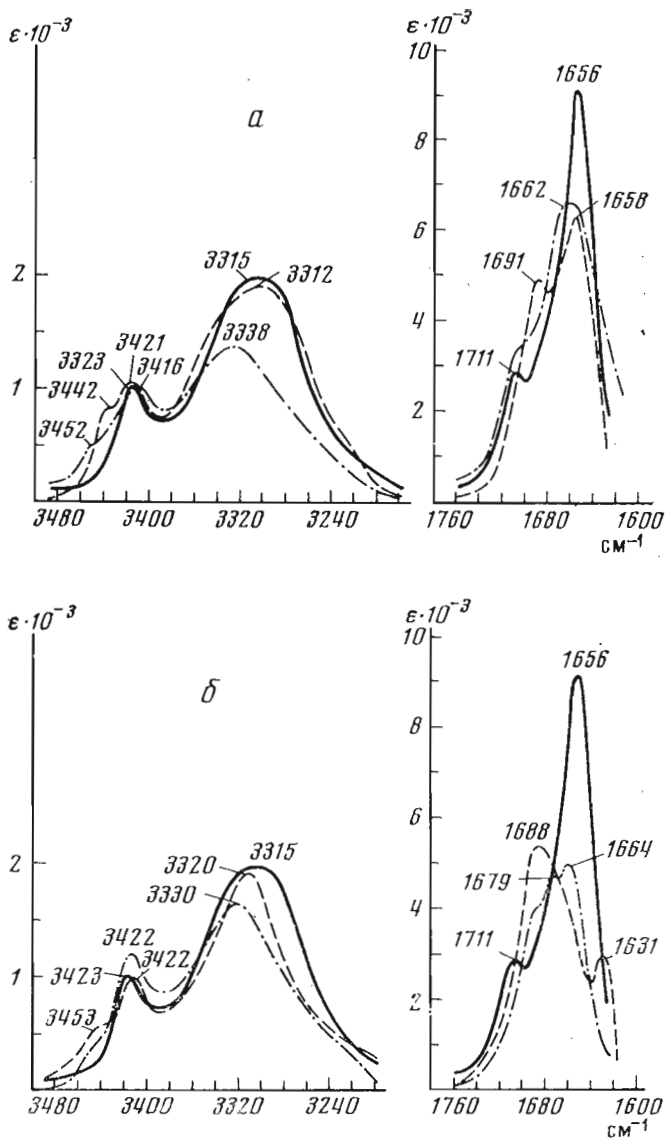


Рис. 3. ИК-спектры соединений (VI) — (XII) в хлороформе: *a* — (VI) — сплошная линия, (VII) — штриховая, (VIII) — штрихпунктирная; *б* — (VI) — сплошная линия, (IX) — штриховая, (X) — штрихпунктирная

чаются в  $\beta$ -изгибах [16] и поэтому не должны нарушать структуру «складчатого листа». Вместе с тем у глициновых аналогов (II) и (VII) имеется большее число стерически разрешенных форм, чем у исходных соединений (I) и (VI). Так, если для  $\beta$ -изгиба, изображенного на рис. 6, *a*, возможна только конформация IV [16] (*D*-Phe:  $\Phi$  30–90°,  $\psi$  –160 ÷ –70°; Pro:  $\Phi$  ~ –60°,  $\psi$  –80– +70°), то для  $\beta$ -изгиба, показанного на рис. 6, *б*, допустимы конформации IV (*D*-Phe:  $\Phi$  30–90°,  $\psi$  –160 ÷ –70°; Gly:  $\Phi$  –170 ÷ –30°,  $\psi$  30–90°), II*a* (*D*-Phe:  $\Phi$  20–80°,  $\psi$  10–90°; Gly:  $\Phi$  70–150°,  $\psi$  –80 ÷ –10°), а также II*b* (*D*-Phe:  $\Phi$  30–80°,  $\psi$  –140 ÷ –80°; Gly:  $\Phi$  –80 ÷ –20°,  $\psi$  –70 ÷ –10°). Кроме того, нельзя исключить возможность реализации конформеров с иными положениями водородных связей, например типа *b* на рис. 6. Обращение конфигурации фенилаланиновых остатков (соединения III и VIII) должно привести к значитель-

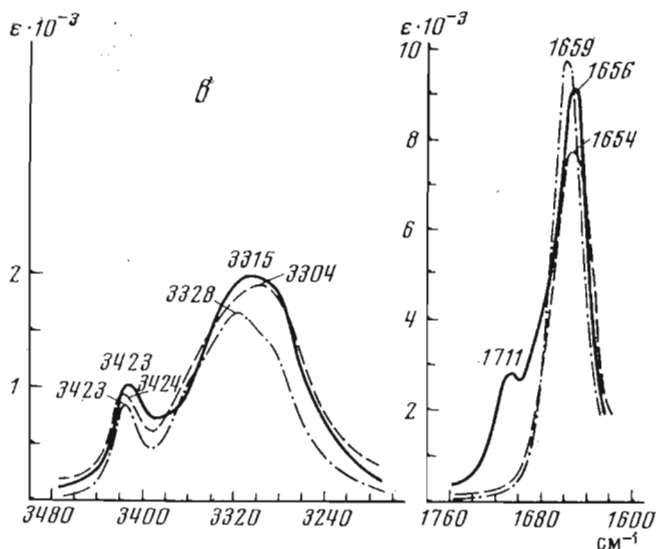


Рис. 3.  $\epsilon$  — (VI) — сплошная линия, (XI) — штриховая, (XII) — штрихпунктирная

ной конформационной перестройке, поскольку  $\beta$ -изгибы *L-X-L-Pro* (рис. 6, *з*) стерически запрещены [15]. В этом случае можно ожидать появления  $\beta$ -изгибов типа  $\delta$ ; возможны и другие положения Н-связей. Что касается ретроизомеров (IV) и (IX), то для них вполне возможна укладка пептидной цепи в структуру «складчатый лист» с  $\beta$ -изгибом (рис. 6, *е*); альтернативные положения Н-связей (пролины в нижнем углу «листа») стерически невыгодны. При этом конформация  $\beta$ -изгиба должна отвечать типу III (*Pro*:  $\Phi -60^\circ$ ,  $\psi 70-160^\circ$ ; *D-Phe*:  $\Phi 30-170^\circ$ ,  $\psi -70 - +80^\circ$ ) [16], т. е. существенно отличаться от конформации  $\beta$ -изгиба природного антибиотика (рис. 6, *а*, тип IV, параметры  $\Phi$  и  $\psi$  см. выше). Аналогичная структура возможна и для аналогов (V) и (X), хотя, как и аналоги (II) и (VII), они отличаются от пролиновых циклопептидов большей конформационной свободой. Наряду с конформацией типа III (рис. 6, *ж*, *Gly*:  $\Phi -90 \div -30^\circ$ ,  $\psi 70-160^\circ$ ; *D-Phe*:  $\Phi 30-170^\circ$ ,  $\psi -70 - +80^\circ$ ) у них возможны конформации Iа и Iб [16] (параметры  $\Phi$ ,  $\psi$  см. выше), а также  $\beta$ -изгибы, показанные на рис. 6, *з*. Изложенные соображения значительно облегчают интерпретацию спектральных данных.

Рассмотрим свойства соединений (VI)–(X). Кривые КД бензилоксикарбонильного производного грамицидина S (VI) в различных растворителях (рис. 2, *б*) близки соответствующим кривым немодифицированного антибиотика (рис. 2, *а*, см. также 2, *ж*, *з*) [17, 18], а также *N,N'*-диацетильных производных (XI) и (XII) (рис. 2, *ж* и *з*). Следовательно, конформации всех четырех соединений подобны, а заместители при боковых цепях орнитиновых остатков не дают заметного вклада в наблюдаемую оптическую активность и не влияют на оптическую активность и конформацию пептидного остова. Сопоставление указанных кривых свидетельствует также о том, что основной вклад в них дают пептидные хромофоры, а вклад фенильных хромофоров фенилаланиновых остатков соединений (VI) и (XI), кроме серии обычных полос при  $\sim 250$  нм, по-видимому, ограничивается относительно слабыми отрицательными полосами дихроичного поглощения при 263–265 нм.

Аналог (VI) дает хорошо разрешенный спектр ПМР в области 6,5–9,0 м. д.; параметры сигналов NH близки найденным ранее и подтвержденным в настоящей работе значениям, характерным для природного антибиотика [2] и его диацетильного производного (XI) [4] (таблица). В частности, у всех соединений присутствует по одному сигналу с малой

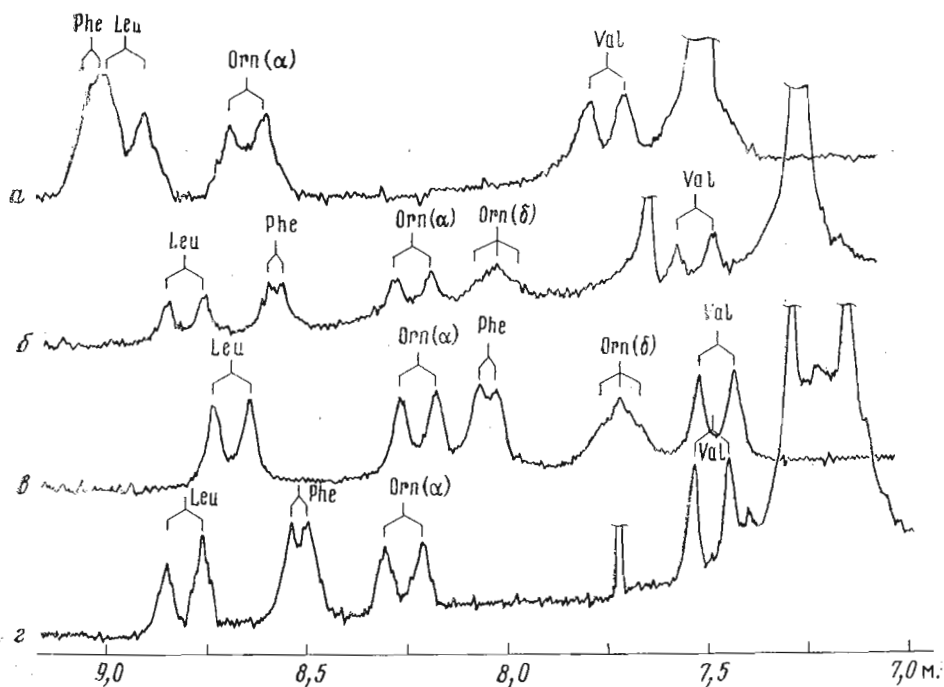


Рис. 4. Область сигналов NH в спектрах ЯМР- $^1\text{H}$  соединений (I), (VI), (XI) и (XII):  $a^a$  — (I),  $\text{CH}_3\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$ , (40 : 60),  $40^\circ$ ;  $b$  — (XI),  $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CDCl}_3$ , (60 : 40),  $34^\circ$ ;  $c$  — (XII),  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $70^\circ$ ;  $d$  — (VI),  $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CDCl}_3$ , (70 : 30),  $40^\circ$

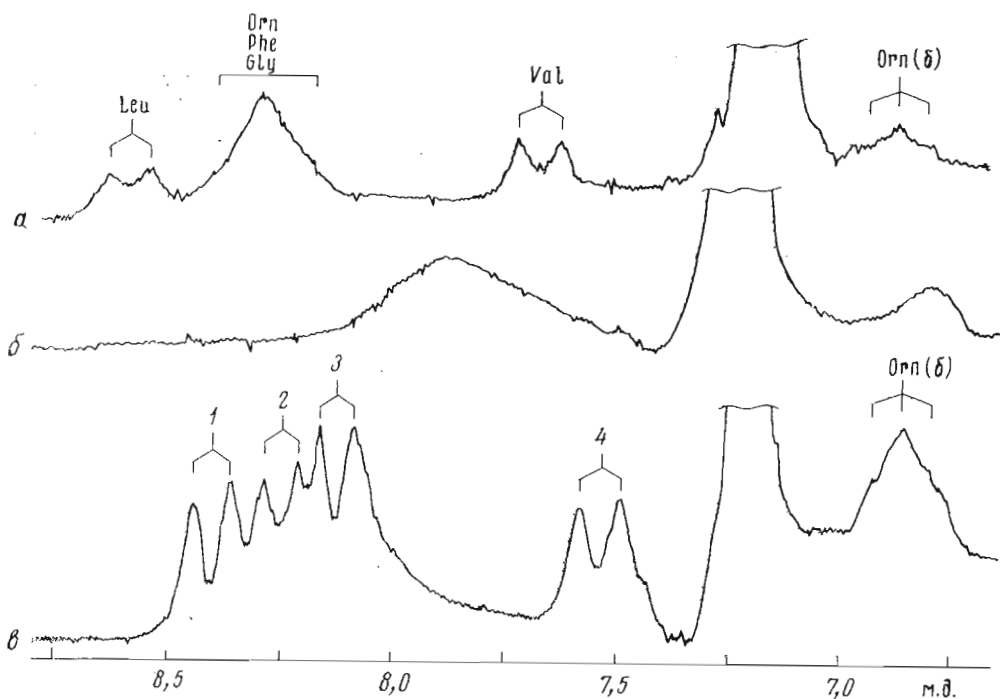


Рис. 5. Область сигналов NH в спектрах ЯМР- $^1\text{H}$  соединений (VII) — (IX):  $a$  — (VII),  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $50^\circ$ ;  $b$  — (VIII),  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $40^\circ$ ;  $c$  — (IX),  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $34^\circ$

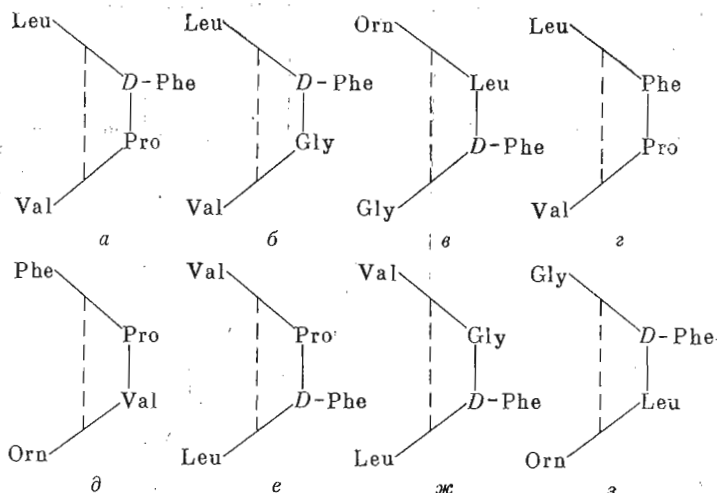
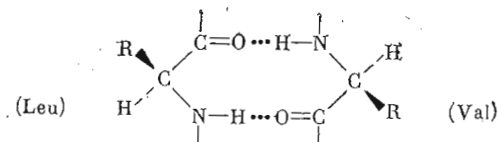


Рис. 6. Возможные  $\beta$ -изгибы грамицидина S (а) и его аналогов: (II) и (VII) — б, в; (III) и (VIII) — г, д; (IV) и (IX) — е; (V) и (X) — ж, з

( $\sim 4$  Гц) константой  $^3J(\text{NH}-\text{C}^\alpha\text{H})$  и сильной зависимостью химического сдвига от температуры ( $\Delta\delta/\Delta T \geq 10 \cdot 10^{-3}$  м. д./град). В остальных пептидных группах сигналы NH имеют высокие значения  $^3J(\text{NH}-\text{C}^\alpha\text{H})$  ( $\sim 10$  Гц). Из них один характеризуется высоким, а два остальных — относительно низким температурным градиентом  $\Delta\delta/\Delta T$  (соответственно  $(7,0-9,3) \cdot 10^{-3}$  и  $(3,3-4,6) \cdot 10^{-3}$  м. д./град). Наконец, один из последних расположен в относительно высоком поле ( $\delta \approx 7,5$  м. д.). Такие же закономерности обнаруживаются в спектрах ПМР и гидрированного аналога (XII). Указанное подобие спектров позволяет однозначно отнести к отдельным аминокислотным остаткам все наблюдаемые сигналы NH соединений (VI), (XI) и (XII), воспользовавшись известными отнесениями для природного антибиотика [2] и перенеся их на однотипные сигналы NH аналогов. Изложенные данные, а также результаты исследования кривых КД показывают, что соединения (VI), (XI) и (XII) принимают в условиях исследования конформацию «складчатого листа», т. е. изменения в боковых цепях орнитина и фенилаланина грамицидина S не сказываются на пространственной структуре пептидного остова.

Исследование спектров ПМР грамицидина S [2] не выявило причин резкого (1,1 м. д.) различия в значениях химических сдвигов сигналов  $\text{NH}(\text{Leu})$  и  $\text{NH}(\text{Val})$ , образующих однотипные H-связи:



Одна из задач исследования спектров ПМР аналогов (XI) и (XII) — выяснить, не вызвано ли такое различие присутствием фенильных групп остатков D-фенилаланина с их выраженным анизотропным влиянием на химические сдвиги близлежащих ядер. Полученные данные (таблица, рис. 4, в) говорят о том, что отмеченная дифференциация протонов по химическим сдвигам не зависит от присутствия фенильных групп и всецело определяется особенностями пространственной структуры циклического остова.

ИК-спектры соединений (VI), (XI) и (XII) в хлороформе в области  $3200-3460 \text{ см}^{-1}$  (амид А) имеют одинаковое число полос с близкими частотами и интенсивностями (рис. 3, в), что свидетельствует о присутствии



Параметры сигналов NH в спектрах ПМР аналогов грамицидина S

Соединение	Растворитель	Отнесение сигнала	Химический сдвиг при 34° (δ, м.д.)	Δδ/ΔT · 10³ (м.д./град.) *	*J(HN—C <sup>α</sup> H)	
					наблюдаемое значение J <sub>набл</sub>	с поправкой на электроотрицательность заместителей J <sub>кор</sub> = =1,09 · J <sub>набл</sub>
I	CH <sub>3</sub> OH	Val	7,68	3,4	9,3	10,1
		Orn (α)	8,67	7,7	8,7	9,5
		Leu	8,75	3,7	9,3	10,1
		D-Phe	8,89	10,0	3,6	3,8
	MeOH—H <sub>2</sub> O, 2 : 3	Val	7,74	1,7	9,3	10,1
		Orn (α)	8,66	6,0	9,0	9,8
		Leu	8,96	3,1	9,3	10,1
		Phe	9,11	9,7	3,5	3,8
VI	CH <sub>3</sub> OH—CDCl <sub>3</sub> , 7 : 3	Orn (σ)	**	—	—	—
		Val	7,50	3,6	9,1	9,9
		Orn (α)	8,32	9,3	9,0	9,8
		D-Phe	8,61	12,6	3,8	4,1
		Leu	8,84	4,6	9,2	10,0
VI	CH <sub>3</sub> OH—CDCl <sub>3</sub> , 57 : 43	Orn (σ)	—	—	—	—
		Val	7,45	3,6	9,9	10,8
		Orn (α)	8,20	9,2	9,1	9,9
		D-Phe	8,49	12,4	3,8	4,1
		Leu	8,83	4,0	9,1	9,9
VII	CH <sub>3</sub> OH	Orn (σ)	7,70	10,0	4,4	4,9
		Val	7,76	4,5	9,7	10,6
		Orn (α)	8,40	9,5	***	—
		D-Phe	8,40	9,5	***	—
		Gly	8,40	9,5	***	—
		Leu	8,64	4,2	9,1	9,9
VIII	CH <sub>3</sub> OH	2—4 протона	6,86	6,9	Широкие сигналы	—
		8—6 протонов	7,96	6,6		
IX	CH <sub>3</sub> OH	Orn (σ)	6,87	9,0	5,4	5,9
		Два протона	7,53	6,6	8,5	9,3
		»	8,14	5,6	8,2	9,3
		»	8,28	8,0	7,3	8,0
		»	8,43	9,3	8,9	9,7
XI	CH <sub>3</sub> OH	Val	7,64	3,3	9,4	10,2
		Orn (σ)	8,06	6,6	4,5	5,8
		Orn (α)	8,53	7,0	9,0	9,8
		D-Phe	8,79	10,0	3,5	3,8
		Leu	8,86	3,5	9,4	10,2
XI	CH <sub>3</sub> OH—CDCl <sub>3</sub> , 7 : 3	Val	7,55	—	—	—
		Orn (σ)	8,06	—	—	—
		Orn (α)	8,25	—	—	—
		D-Phe	8,6	—	—	—
		Leu	8,81	—	—	—
XII	CH <sub>3</sub> OH	Val	7,61	3,6	9,6	10,5
		Orn (σ)	7,93	5,6	5,4	5,9
		D-Phe	8,39	9,0	4,1	4,5
		Orn (α)	8,46	6,0	9,8	10,7
		Leu	8,83	3,6	9,7	10,6

\* Для N-метилацетамида величина Δδ/ΔT составляет 7,5 м.д./град в метаноле и 7,3 м.д./град в смеси метанол — хлороформ (7 : 3). \*\* Сигнал расположен в области, закрытой ароматическими протонами. \*\*\* Константа не определена из-за перекрытия сигналов.

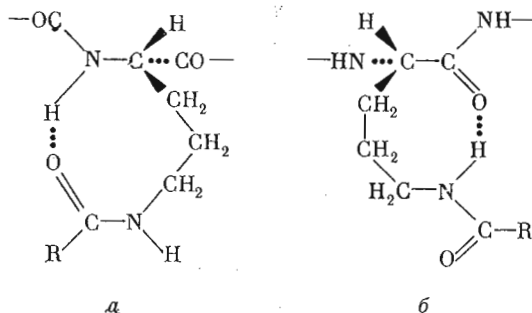


Рис. 7. Внутримолекулярные водородные связи, образованные боковыми цепями ацилорнитриновых остатков соединений (VI), (XI) и (XII). R = OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> для (VI); R = CH<sub>3</sub> для (XI) и (XII)

однотипной системы внутримолекулярных водородных связей во всех случаях. Ранее выполненный анализ [4] выявил шесть Н-связей, из которых четыре (см. на рис. 1) сохраняются во всех условиях, а две оставшиеся дополнительно образуются в неполярных средах карбонильными группами ацильных остатков орнитиновых боковых цепей и α-NH-группами тех же остатков (рис. 7, а); нельзя также исключить возможность присутствия конформеров с Н-связями, показанными на рис. 7, б. Некоторые различия в области валентных колебаний групп С=О (например, появление у аналога (VI) полосы при 1711 см<sup>-1</sup>, см. рис. 7, а) связаны с различиями в частотах колебаний амидных и уретановых карбониллов.

У аналога (VII) сохраняются четыре NH-протона со значениями δ, Δδ/ΔT и <sup>3</sup>J (NH—C<sup>α</sup>H), близкими протонам NH(Val) и NH(Leu) соединений (I), (VI), (XI) и (XII). Этот факт послужил основанием для соответствующего отнесения сигналов в спектре (см. таблицу), а также для вывода о сохранении у аналога (VII) конформации типа «складчатый лист» с β-изгибами типов б на рис. 6. Присутствие существенных количеств конформеров в привело бы к усреднению химических сдвигов и их температурных градиентов. В соответствии с появлением у аналога (VII) остатков глицина вместо пролина у аналога (VI) его ИК-спектр отличается в области амид А от спектра аналога (VI) только присутствием дополнительной полосы свободных групп NH (ν<sub>NH</sub> = 3442 см<sup>-1</sup>, рис. 3, а). Вновь появившаяся полоса при 1691 см<sup>-1</sup>, по-видимому, отвечает вторичной амидной группе фрагмента D-Phe-Gly, заменившей третичную амидную группу во фрагменте D-Phe-Pro с частотой ν<sub>CO</sub> = 1657 см<sup>-1</sup>. Значительное снижение интенсивности эффектов Коттона у аналога (VII) по сравнению с (VI) (рис. 2, в, б) указывает на определенные различия конформаций двух циклопептидов в пределах структуры «складчатый лист». Наиболее вероятно появление обсуждавшихся выше конформеров IIа или IIв, из которых первый отличается от конформеров IV ориентацией карбонильной группы связи D-Phe-Gly по отношению к средней плоскости β-изгиба и «складчатого листа» (ср. рис. 1 и 8).

Как и ожидалось, N,N'-дибензилоксикарбонил-«полностью L»-граммицидин S (VIII) по своим спектральным параметрам сильно отличается от соответствующего производного (VI) антибиотика. В кривых КД (рис. 2, г) резко снижена интенсивность отрицательной полосы при 220 нм, полностью отсутствует эффект Коттона при 205 нм и обращен знак коротковолнового эффекта Коттона. В ИК-спектре возросла интенсивность полос свободных групп NH и соответственно уменьшилась интенсивность полос связанных групп (рис. 3, а). Особенно показательны спектры ПМР: если все рассмотренные выше соединения давали разрешенные спектры с достаточно узкими сигналами, то у аналога (VIII) в широком диапазоне температур 10 его протонов давали две размытые полосы неравной интенсив-

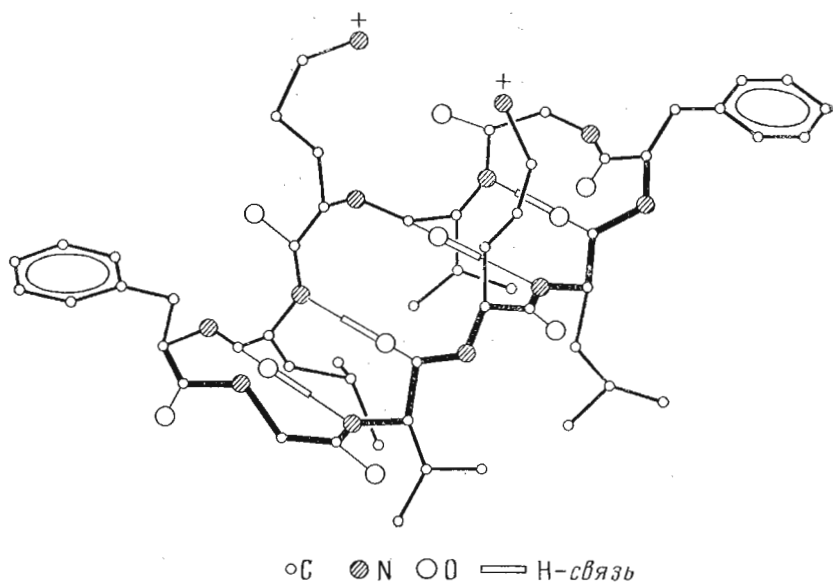


Рис. 8. Пространственное строение [Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>]грамцидина S с конформацией β-изгибов типа IIa

ности, что не позволяло выделить отдельные сигналы (рис. 5, 6). Мы объясняем полученные результаты дестабилизацией у аналога (VIII) конформации «складчатого листа» и участием в равновесии нескольких конформеров с меньшим числом Н-связей, чем у аналогов (VI), (VII), (XI) и (XII).

Спектры ПМР и КД не обнаружили четких признаков конформации «складчатого листа» у *ретро*-производного (IX) (низкие интенсивности полос дихроичного поглощения, отсутствие сигналов NH с малыми значениями  $\Delta\delta/\Delta T$ ). Можно предположить, что такая структура, вполне вероятная из теоретических соображений (см. выше), все-таки реализуется в хлороформе, где число и устойчивость внутримолекулярных связей CO...NH приблизительно такие же, как и у аналогов (VI), (VII), (XI) и (XII) (судя по интенсивности и частоте полос амид А в ИК-спектре, рис. 3, б). Спектры ПМР глицинового аналога (X) получить не удалось из-за его недостаточной растворимости; ИК- и КД-спектры этого соединения незначительно отличаются от спектров соответствующего пролинового производного (IX); можно отметить лишь несколько меньшую интенсивность и более высокую частоту полосы связанных групп NH в ИК-спектре, указывающие на незначительное ослабление системы Н-связей (рис. 2, д, е и 3, б).

Таким образом, исследованные аналоги можно расположить в следующий ряд по степени устойчивости конформации «складчатого листа»:



Взаимосвязь между пространственной структурой, поверхностно-активными свойствами и биологической активностью в исследованном ряду соединений будет рассмотрена в наших последующих сообщениях.

### Экспериментальная часть

Синтез соединений (II) — (X) описан в [8], а (XI) и (XII) — в [4]. Перед растворением все вещества высушивали 10 ч над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> при 50° (0,5 мм). Кривые КД измеряли на спектрополяриметре Cary 60 с приставкой для КД (модель 6001) (Varian, США) при концентрациях растворов

(1,7—2,2)·10<sup>-4</sup> моль/л и температуре 23—26°, толщина кювет 0,01—1 см. ИК-спектры регистрировали на приборе UR-10 (Zeiss, ГДР) с призмами из NaCl и LiF. Толщина кюветы при измерениях в области 3500—3200 см<sup>-1</sup>—10—20 мм, при 1800—1600 см<sup>-1</sup>—10 мм; концентрация растворов в CHCl<sub>3</sub> (2,0—2,2)·10<sup>-4</sup> моль/м. Спектры ЯМР-<sup>1</sup>H снимали на приборе Varian HA-100 D в монохроматическом режиме. В качестве внутреннего стандарта (δ = 0,00 м. д.) использовали тетраметилсилан. Точность температурных измерений ± 1° С, отнесение сигналов выполнено с помощью двойного и тройного резонанса с последовательным облучением сигналов, связанных спин-спиновым расщеплением. В качестве растворителей использовали метанол и CCl<sub>4</sub>, концентрация растворов 0,05—0,12 моль/л.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Schwyzler R., Ludescher U. (1968) *Biochemistry*, **7**, 2519—2522.
- Stern A., Gibbons W. A., Craig L. C. (1968) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **61**, 734—741.
- Ohnishi M., Urry D. W. (1969) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **36**, 194—202.
- Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Bystrov V. F., Miroshnikov A. I., Shepel E. N., Abdullaev N. D., Efremov E. S., Senyavina L. B. (1970) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **39**, 217—225.
- De Santis P., D'Ilario L., Lamanna G., Morosetti S., Savino M. (1973) *Biopolymers*, **12**, 423—433.
- Schwyzler R. (1959) *Rec. Chem. Progr.*, **20**, 146—167.
- Hodgkin D. C., Oughton V. M. (1957) *Biochem. J.*, **65**, 752—756.
- Снежкова Л. Г., Шепель Е. Н., Рябова И. Д., Мирошников А. И., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. (1975) *Биоорг. химия*, **1**, 347—358.
- Шемякин М. М., Хохлов А. С., Колосов М. Н., Бергельсон Л. Д., Антонов В. К. (1961) *Химия антибиотиков*, т. II, с. 1061, Изд. АН СССР, М.
- Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. (1975) *Tetrahedron*, **31**, 2177—2209.
- Dygerst M., Go N., Scheraga H. A. (1975) *Macromolecules*, **8**, 750—761.
- Kopple K. D., Go A., Logan R. H., Jr., Savrda J. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 973—978.
- Kopple K. D., Go A., Schamper T. J., Wilcox C. S. (1973) *J. Amer. Chem. Soc.*, **95**, 6090—6096.
- Kopple K. D., Schamper T. J., Go A. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 2597—2605.
- Kopple K. D., Schamper T. J., Go A. (1974) In *Peptides, Polypeptides and Proteins* (Blout E. R., Bovey F. A., Goodman M., Lotan N., eds.), pp. 282—292, N. Y.
- Chandrasekaran R., Lakshminarayanan A. V., Pandya U. V., Ramachandran G. N. (1973) *Biochim. et biophys. acta*, **303**, 14—27.
- Laiken S., Printz M., Craig L. C. (1969) *J. Biol. Chem.*, **244**, 4454—4457.
- Urry D. W., Ruiter A. L., Starcher B. C., Hinners T. A. (1968) in *Antimicrobial Agents and Chemother.* (Hobby G. L., ed.), pp. 87—93, N. Y.

Поступила в редакцию  
4.VIII.1976

#### A COMPARATIVE STUDY ON THE CONFORMATIONAL STATES OF GRAMICIDIN S ANALOGS

MIROSHNIKOV A. I., SNEZHKOVA L. G., SYCHEV S. V.,  
CHERVIN I. I., SENYAVINA L. B., IVANOV V. T.,  
OVCHINNIKOV Yu. A.

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

The conformational states of gramicidin S (GrS) analogs have been studied by means of CD, UV and NMR spectroscopy. N,N'-Dibenzoyloxycarbonyl-GrS, N,N'-diacetyl-GrS, and N,N'-diacetylperhydro-GrS were shown to possess a «pleated sheet» conformation which is characteristic of natural antibiotic. A similar conformation was found with N,N'-dibenzoyloxycarbonyl-[Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>]-GrS. These findings imply that the above modifications either of ornithine or phenylalanine side chains, as well as proline substitution for glycine, do not affect the spatial structure of the cyclic backbone. On the other hand, such analogs as «all L'-GrS, retro-GrS and retro-[Gly<sup>5</sup>, Gly<sup>10</sup>]-GrS are devoid of essential features of the «pleated sheet» conformation.