



УДК 547.96:541.69

ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ СТРОЕНИЕМ И СВОЙСТВАМИ ЦИКЛОДЕПСИПЕПТИДОВ ВАЛИНОМИЦИНОВОГО РЯДА

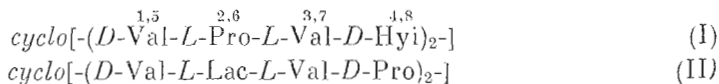
IX*. ПРОЛИНСОДЕРЖАЩИЕ АНАЛОГИ ОКТАВАЛИНОМИЦИНА

*Балашова Т. А., Фомина Л. А., Гуревич А. З.,
Старовойтова Н. В., Сенявина Л. Б., Авотинь Г. Я.,
Иванов В. Т., Овчинников Ю. А.*

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

Спектральными методами изучены конформационные свойства двух аналогов октавалиномицина — $cyclo[-(D\text{-Val-L-Pro-L-Val-D-Hy})_2-]$ и $cyclo[-(D\text{-Val-L-Lac-L-Val-D-Pro})_2-]$ — и их комплексов с ионами щелочных металлов. Показано, что в неполярных средах для обоих циклодепептидов наиболее вероятной является браслетная структура. Конформация Na^+ -комплексов исследуемых соединений в этаноле отличается от пространственной структуры соответствующих комплексов с Li^+ в хлороформе.

Ранее нами был описан синтез и некоторые свойства аналогов мембраноактивного антибиотика валиномицина, содержащих вместо оксикислотных остатков *L*-молочной или *D*-оксигивалериановой кислоты соответственно остатки *L*- или *D*-пролина [2]. В настоящей работе рассматриваются результаты спектральных исследований двух представителей указанной серии — циклических октадепептидов (I) и (II), предпринятых с целью определения пространственной структуры этих веществ в растворах, а также их комплексообразующей способности с ионами щелочных металлов:



Как и в предыдущих работах настоящей серии, для исследования использовался комплекс методов, позволяющих широко варьировать условия измерений (растворитель, температуру, концентрацию) и дающих независимую и взаимодополняющую информацию.

Увеличение полярности растворителя при переходе от смеси гептан — диоксан к этанолу и далее к смеси вода — этанол сопровождается существенным изменением характера кривых КД (рис. 1, переход 1 → 2 → 3), которое в обоих случаях носит немонотонный характер. Например, у пептида (I) при 210–235 нм вначале обращается знак эффекта Коттона, а в водных растворах наблюдается спектр 3 с промежуточными между 1 и 2 значениями молекулярной эллиптичности, но значительно отличающийся от них по форме; у аналога (II) вначале увеличивается интенсивность (спектр 2), а затем происходит обращение знака эффекта (спектр 3). Отсюда следует, что пространственное строение циклопептидов (I) и (II) зависит от природы растворителя и в равновесии участвуют более двух конформеров.

ИК-спектры аналогов (I) и (II) в CCl_4 и $CHCl_3$ (рис. 2) вполне однотипны и свидетельствуют об участии всех четырех групп NH в образовании сравнительно слабых внутримолекулярных водородных связей (ВМВС) (полосы Амид А при 3320–3400 cm^{-1} , отсутствие полос при $\nu_{NH} > 3400 cm^{-1}$). В области карбонильных частот присутствуют три не-

* Предыдущее сообщение см. [1]; ВМВС — внутримолекулярные водородные связи, КССВ — константа спин-спинового взаимодействия.

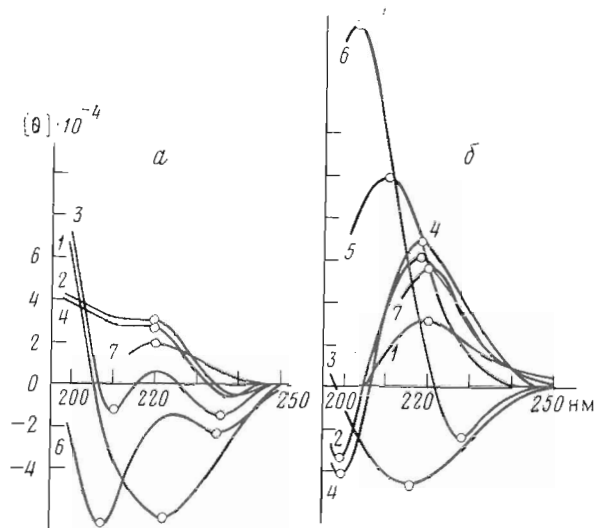


Рис. 1. Кривые КД соединений (I) (а) и (II) (б): 1 — гептап — диоксан, 6:1 для (I) и 5:2 (II); 2 — EtOH; 3 — EtOH — H₂O, 3:1 для (I) и 4:3 для (II); 4 — KCl, 0,7 · 10⁻² М для (I) и 0,611 · 10⁻² М для (II); 5 — NaClO₄, 2,07 · 10⁻² М для (II); 6 — NaClO₄, 1 М для (I) и 0,981 М для (II); 7 — 5 · 10⁻² М LiClO₄ для (I) и (II)

расщепленные полосы, отвечающие карбонилам сложноэфирных групп (1744—1746 см⁻¹), третичных амидов (1637—1646 см⁻¹) и вторичных амидов (1679—1682 см⁻¹).

Спектры ЯМР, снятые в смеси CCl₄—CDCl₃ и в хлороформе в интервале температур от -55 до 60° С, имеют сходный общий вид (число и мультиплетность сигналов, согласующиеся с наличием оси симметрии C₂ или быстрым обменом между набором конформеров с низким энергетическим барьером), а также близкие значения химических сдвигов (δ), КССВ (J) и изменения химических сдвигов сигналов при изменении температуры (Δδ/ΔT) (табл. 1 и 2), что указывает на аналогию пространственных структур соединений (I) и (II) в этих условиях. Химические сдвиги ¹³C, а также сравнительно небольшие значения Δδ_{αβγ} пролиновых остатков, полученные из спектров ¹³C-ЯМР (≤4,5 м.д., табл. 2), свидетельствуют о *транс*-конфигурации третичных амидных связей [3—5]. При добавлении раствора 2,2,6,6-тетраметилпиримидин-1-оксида в CDCl₃ наблюдается уширение всех сигналов NH на 28—42 Гц/моль. Такое небольшое уширение сигналов N-протонов, согласно работе [6], указывает на достаточно эффективное и одинаковое экранирование этих протонов от растворителя и согласуется с их участием в образовании ВМВС. Участие всех четырех протонов в образовании ВМВС возможно при образовании в соединениях (I) и (II) энергетически выгодных β- или γ-изгибов, стабилизированных ВМВС. Полученные данные химических сдвигов ¹³C пролиновых остатков (29—30 м.д., табл. 2) указывают на отсутствие γ-изгибов с остатком пролина в положении *i*+1 [7]. Следовательно, депептидные фрагменты *D*-Hyp-*D*-Val-*L*-Pro-*L*-Val у пептида (I) и *L*-Lac-*L*-Val-*D*-Pro-*D*-Val у аналога (II) образуют β-изгибы, стабилизированные ВМВС типа 4→4. С образованием подобного типа β-изгибов, очевидно, связаны и аномальные химические сдвиги одного из C^β-протонов *L*-(*D*-)пролиновых остатков (~4,4 м.д.) (табл. 1), обусловленные экранированием карбонильной группой остатков *D*-Hyp- (I) или *L*-Lac- (II), участвующей в образовании ВМВС (рис. 3). Сигналы N-протонов остатков *D*- (I) или *L*-Val (II), также участвующих в образовании ВМВС, сдвинуты в слабое поле (8,3—8,6 м.д.) (табл. 1). Этот слаболопальный сдвиг обусловлен, по-видимому, экранирующим влиянием сложноэфирной группы. Подобная близость протона NH-групп с эфирным кислородом сложноэфирной группы вызвана более сильным отклонением карбонил

Химические сдвиги (м.д.) и в круглых скобках константы спин-спинового взаимодействия (Гц) протонов соединений (I) и (II) и их комплексов*
 В квадратных скобках приведены значения $(\Delta\delta/\Delta T) \cdot 10^3$, м.д./град

Соединение	Растворитель	Концентрация, 10^{-2} М	Фрагмент		
			$C^{\delta}H_2(Pro)$	$C^{\alpha}H$	
				1,5	2,6
(I)	$CCl_4 : CDCl_3, 9 : 1$	0,085	3,65; 4,42	3,97 (10,5)	4,45
	$CDCl_3$	9,0	3,61; 4,37	4,33 (10,7)	4,58 (11,0) ^{2*}
	$CD_3CN : CDCl_3, 15 : 1$	2,6	3,66; 4,25	4,20 (10,5)	4,40 (10,8) ^{2*}
	CD_3OH/OD	9,0	3,6—3,9	4,33 (9,3)	4,48
	C_2D_5OH	3,3	~3,6; 3,84	4,21 (~9)	4,47 (11,7) ^{2*}
	$CDCl_3+Li^+$	0,8	3,65; 4,38	4,03 (10,2)	4,68 ушпр.
	CD_3CN+Li^+	0,4	3,65; 4,17	4,17 (9,5)	4,49 (~10) ^{2*}
	$CDCl_3+Na^+$	0,4	3,60; 4,39	4,20 (~10)	4,60 (~10) ^{2*}
	$C_2D_5OH+Na^+$	3,2	~3,6; 3,92	4,04 (8,0)	4,61 (8,1) ^{2*}
	$C_2D_5OD+Na^+ (t 5^{\circ}C)$	3,2			
(II)	$CCl_4 : CDCl_3, 1 : 1$	0,91	3,58; 4,37	4,56 (4,8)	4,97 (6,8)
	$CDCl_3$	2,54	3,60; 4,34	4,59 (4,9)	5,06 (6,6)
	CD_3CN	1,86	3,67; 4,19	4,59 (4,7)	4,93 (6,6)
	CD_3OH/OD	3,16	3,67; 4,10	4,62 (5,0)	5,11 (6,8)
	C_2D_5OH	0,91	3,6; 4,21	4,55 (5,2)	5,03 (6,8)
	$CDCl_3+Li^+$	1,86	3,66; 4,32	4,58 трипл.	5,04
	CD_3CN+Li^+	1,9	3,65; 4,01	4,51 (7,2)	5,17 (7,0)
	$C_2D_5OH+Li^+$				
	$CDCl_3+Na$		3,66; 4,32	4,61 (5,0)	5,03 (6,8)
	$CD_2Cl_2+Na^+$		3,64; 4,36	4,65 (5,2)	5,05 (6,6)
	CD_3CN+Na^+	2,0	3,60; 3,92	4,14 (7,0)	5,14
	CD_3CN+Cs^+	2,0	3,66; 4,22	4,60 (4,6)	4,95
	$C_2D_5OH+Na^+$	1,2	~3,6; 3,97	4,10 (8,2)	5,13 (6,8)

Фрагмент			
$C^{\alpha}H$		NH	
3,7	4,8	1,5	3,7
4,47 (6,2)	5,12 (3,0)	8,25 [0,5] (7,3)	6,88 [0,5] (10,6)
4,58 (5,4)	5,25 (3,1)	8,34 [4,1] (8,0)	7,33 [3,1] (10,1)
4,62 (4,8)	5,26 (3,0)	7,90 [-0,9] (7,8)	6,84 [-0,7] (9,7)
4,90 (6,0)	5,09 (4,4)	8,30 [7,5] (8,6)	7,54 [9,4] (10,0)
~4,9 (~5,9)	~5,2 (~3,7)	8,46 [5,7] (8,0)	7,54 [6,6] (~10) ^{3*}
4,68 ушпр.	4,91 ушпр.	7,28 ушпр. (5,2) ^{3*}	7,00 ушпр.
4,52 (7,5)	4,91 (3,9)	7,14 [5,6] (6,1)	7,07 [-1,2] (9,3)
		$\tau_{1/2} \sim 120$ мин ^{4*}	$\tau_{1/2} \sim 30$ мин ^{4*}
4,70 (~6)	5,16 (~3)	8,0 ушпр. (~6) ^{3*}	7,15 ушпр. (~9) ^{3*}
4,19 (6,2)	4,86 (4,0)	8,07 [4,8] (4,2) ^{3*}	8,13 [15,0] (6,8) ^{3*}
		$\tau_{1/2} \sim 50$ мин	$\tau_{1/2} \sim 50$ мин
4,10 (10,9)	4,56	7,22 [2,0] (10,0)	8,58 [4,2] (7,2)
4,26 (10,8)	4,61 (10,9) ^{2*}	7,44 [3,0] (10,0)	8,58 [4,0] (7,6)
4,14 (10,7)	4,43 (11,9) ^{2*}	7,11 [-0,6] (10,2)	8,66 [3,9] (7,2)
4,21 (10,5)	4,46 (10,9) ^{2*}	7,46 [5,6] (9,8)	8,57 [5,7] (7,5)
4,10 (10,6)	4,46	7,41 [4,0] (10,3)	8,70 [4,6] (6,8)
4,06 (10,0)	4,63	7,10 [-2,2] ушпр.	7,39 [3,8] (5,5) ^{3*}
4,27 (9,0)	4,49 (11,0) ^{2*}	7,27 [0,7] (8,7)	7,41 [4,5] (7,1)
		7,68 [9,0] (8,0)	8,08 [3,0] (6,0)
4,26 (11,0)	4,60	7,29 (9,5)	8,42 (7,2)
4,16 (11,4)	4,59	7,14 (10,0)	8,22 (7,1)
4,06 (8,2)	4,88 (10,5) ^{2*}	7,44 [5,1] (6,5)	7,31 [3,4] (5,2)
		$\tau_{1/2} \sim 30$ мин ^{4*}	$\tau_{1/2} \sim 40$ мин ^{4*}
4,11 (11,0)	4,48 (11,0) ^{2*}	7,04 (10,1)	8,52 (6,8)
4,02 (8,4)	4,72	8,14 [8,0] (6,3)	7,91 [4,7] (4,4)

* Температура съемки спектров 25—30° С. Значения δ_{CH_3} (L, D-Val) находятся в пределах 0,8—1,2 м.д.; δ_{CH_3} (L-Lac) 1,4—1,5 м.д.; C^{β} , γ 1,8—2,7 м.д. ^{3J} $_{NH-C^{\alpha}H}$ 1,09. ^{3J} $_{NH-C^{\beta}H}$ эксп. ^{2*} $\Sigma^3J_{C^{\alpha}H-C^{\beta}H_2}$ (L(D) Pro). ^{3*} $J_{NH-C^{\alpha}H}$ определена по сигналу $C^{\alpha}H$.

** Время 50% обмена ($\tau_{1/2}$) измерено при добавлении ~0,1 мл C_2D_5OD .

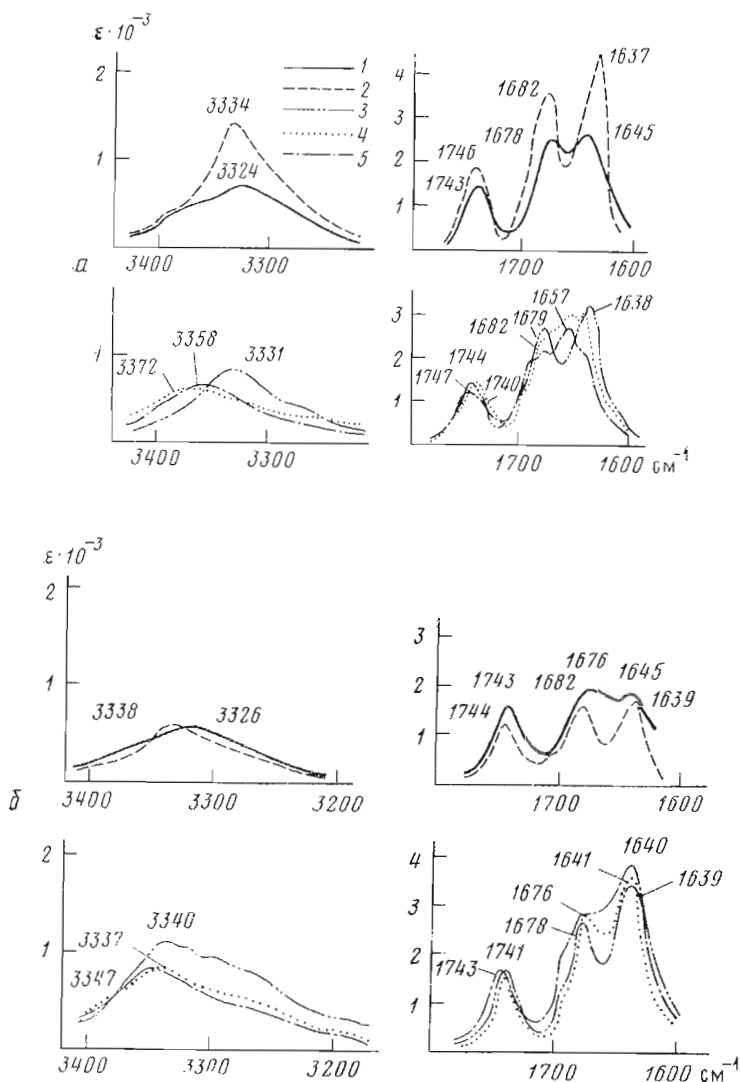


Рис. 2. ИК-спектры соединений (I) (а) и (II) (б) в CHCl_3 (1), CCl_4 (2), $\text{CCl}_4-\text{CH}_3\text{CN}$, 1:1 (3), K^+ -комплекса в $\text{CCl}_4-\text{CH}_3\text{CN}$, 1:1 (4), Na^+ -комплекса в $\text{CCl}_4-\text{CH}_3\text{CN}$, 1:1 (5)

сложноэфирной группы из внутренней полости молекулы (рис. 3), чем в случае других депептидов валиномицинового ряда [1, 8, 9].

На рис. 4 приведена область сигналов углеродов CO спектра ^{13}C -ЯМР депептида (II). Анализ полученных из этих спектров значений вицинальных гетероядерных, а также гомоядерных КССВ, полученных из спектров ^1H -ЯМР, проведенный согласно работе [9], позволил охарактеризовать углы φ и населенность вращательных состояний по связи $\text{C}^\alpha-\text{C}^\beta$ *L*-(*D*-) Val и *D*-Hyp остатков в депептидах (табл. 3, 4). Кроме этого, исходя из значений $\Delta\delta_{\text{св.у}}$, определены возможные значения углов ψ остатков *L*-Pro (I) и *D*-Pro (II) [5] (табл. 5).

Изложенные данные недостаточны для однозначного определения конформации исследуемых веществ, однако их сопоставление с результатами рентгеноструктурного анализа депептида (I) [10] и родственных циклодепептидов [11, 12] позволяет предположить наиболее вероятные конформации (табл. 6). Как видно из табл. 6, кристаллические структуры всех приведенных в ней веществ имеют *полностью-транс*-паборы конфигураций амидных и сложноэфирных групп. Вместе с тем они значительно

Химические сдвиги (м.д.) сигналов ^{13}C соединений (I) и (II) и их комплексов

Соединение	Растворитель	Концентрация, 10 ⁻² М	$C_{\text{P}^{\beta}}$	$C_{\text{P}^{\gamma}}$	$\Delta\delta C_{\text{P}^{\beta}, \gamma}$	C=O остатков			
						1,5	3,7	2,6	4,8
(I)	CDCl_3	8,0	29,28	24,78	4,50	170,08	172,60	170,54	171,22
	CDCl_3	4,0	28,91	24,76	4,15	169,87	172,60	170,26	171,06
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}$	3,2	30,43	25,50	4,93	171,76	171,88	171,88	173,04
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}+\text{Na}^+$	3,2	31,22	24,63	6,59	173,39	171,91	171,15	173,24
	$\text{CDCl}_3-\text{CD}_3\text{CN}$, 1 : 1		30,16	25,00	5,16	171,67; 173,00; 173,39; 173,54			
	$\text{CDCl}_3+\text{Li}^+$		29,26-30,41	24,84	4,42-5,55	171,65; 172,96; 173,59; 174,50			
	$\text{CDCl}_3-\text{CD}_3\text{CN}$ (1 : 4)+ Li^+		30,32	25,01	5,27	171,87; 172,93; 173,02; 173,53			
(II)	CDCl_3	11,3	28,87	24,82	4,05	169,61	172,79	171,97	171,39
	CD_3OH	11,0	30,41	25,66	4,75	171,46	173,16	173,45	173,89
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}$	4,0	30,12	25,49	4,63	170,69	173,15	173,23	173,44
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}+\text{Na}^+$	4,0	31,19	24,49	6,70	173,16	172,21	172,21	173,16

отличаются друг от друга значениями углов φ , ψ , χ_1 и характером водородных связей, что лишний раз свидетельствует о богатых конформационных возможностях рассматриваемой циклической системы. Обращает на себя внимание, что значения углов φ , ψ и χ_1 , найденные для кристаллического образца (I), весьма близки значениям двугранных углов, определенных для этого депсинептида в растворе CDCl_3 . При этом достаточно небольшой конформационной перестройки кристаллической структуры (показанной стрелками на рис. 5), чтобы замкнуть четыре ВМВС типа $4 \rightarrow 1$, фиксируя неоднократно обсуждавшуюся ранее [1, 8, 9] браслетную структуру. Подобные структуры мы считаем наиболее вероятными как для соединения (I), так и для соединения (II) в неполярных средах. Приближенные значения углов φ , ψ и χ_1 этих форм, определенные по данным ЯМР и из молекулярных моделей, приведены в табл. 6.

При переходе к более полярным средам (ацетонитрил, этанол, метанол) наблюдаются лишь небольшие изменения δ - и J -параметров спектров ЯМР, из которых нельзя сделать определенных выводов о характере происходящих при этом конформационных перестроек.

Наблюдаемые значения $\Delta\delta/\Delta T$ сигналов протонов NH-групп для соединений (I) ($7,5 \cdot 10^{-3}$ и $9,4 \cdot 10^{-3}$ м.д./град) и (II) ($4,0 \cdot 10^{-3}$ и $4,6 \cdot 10^{-3}$ м.д./град) (табл. 1) говорят о том, что все группы NH в спиртовом растворе сольватированы растворителем. Изменения параметров спектров ЯМР, наблюдаемые при переходе к ацетонитрилу, не позволяют сделать определенных выводов о характере происходящих при этом конформационных перестроек.

Как и изученные ранее октавалиномицины [8] и октаизолейциномицины [1], депсинептиды (I) и (II) весьма слабо взаимодействуют со щелочными катионами. В экстракционных опытах не было обнаружено при-

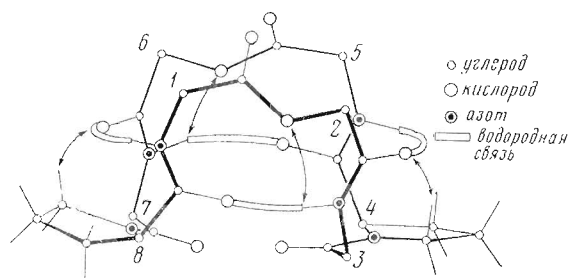


Рис. 3. Конформация соединения (II) в неполярных средах. Цифры у C^α -атомов соответствуют номерам аминокислотных остатков. Стрелки указывают сближенность

Видиальные гомо- и гетероядерные КССВ и величины торсионных углов ϕ соединения (II) в CDCl_3

Остаток	Фрагмент	3J , Гц	ϕ , град
<i>D</i> -Val	$^{13}\text{C}'\text{-NC}^\alpha\text{-H}$ $\text{H-NC}^\alpha\text{-H}$	4,2 (или 5,4) 10,0	103 или 138
<i>L</i> -Lac	$^{13}\text{C}'\text{-OC}^\alpha\text{-H}$	2,2	-91, -149, -8, 128
<i>L</i> -Val	$^{13}\text{C}'\text{-NC}^\alpha\text{-H}$ $\text{H-NC}^\alpha\text{-H}$	1,8 7,6	-83 или -157
<i>D</i> -Pro	$^{13}\text{C}\text{-OC}^\alpha\text{-H}$	<3 (~1,5)	<100 (~90); >140 (~150); >3 (~15); <-123 (~-130)

Таблица 4

Населенность вращательных состояний по связи $\text{C}^\alpha\text{-C}^\beta$ *L*-(*D*-) Val- и *D*-Hyl-остатков депептидов (I) и (II) в CDCl_3 и видиальные КССВ этих фрагментов

Соединение	Остаток	3J , Гц		Населенность форм, % при χ_1		
		$\text{H-C}^\alpha\text{-C}^\beta\text{-H}$	$\text{H-C}^\beta\text{-C}^\alpha\text{-}^{13}\text{C}'$	b -180°	a -60° (<i>L</i>) 60° (<i>D</i>)	c 60° (<i>L</i>) -60° (<i>D</i>)
(I)	<i>D</i> -Val	10,7	-	74		26
	<i>L</i> -Val	5,4		26		74
(II)	<i>D</i> -Hyl	3,1		5		95
	<i>D</i> -Val	4,9	2,8	22	57	21
	<i>L</i> -Val	10,8	<3,5	75		25

Таблица 5

 $\Delta\delta_{^{13}\text{C}^\beta, \gamma}$ (м.д.) и значения торсионных углов ϕ (град) пролиновых остатков

Соединение	Растворитель	Концентрация, 10^{-2} М	$\Delta\delta$ *	ϕ **
(I)	CDCl_3	8,0	4,50	-45 или 165
	CDCl_3	4,0	4,15	-35 или 155
	$\text{CDCl}_3 + \text{Li}^+$	4,0	4,42 - <5,55	-43 < -74 или 163 - 176
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}$	3,2	4,93	Набор форм
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH} + \text{Na}^+$	3,2	6,59	-103 или -137
	$\text{CDCl}_3 : \text{CD}_3\text{CN} + \text{Li}^+$	2,0	5,27	-66 или -174
(II)	CDCl_3	11,3	4,05	32 или -152
	CD_3OH	11,0	4,75	Набор форм
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}$	4,0	4,63	То же
	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH} + \text{Na}^+$	4,0	6,70	106 или 134

* Погрешность измерения $\Delta\delta \pm 0,05$ м.д.** Значения угла ϕ приведены с точностью $\pm 10^\circ$ согласно [4].

знаков комплексообразования с солями натрия и калия. ИК-спектры (I) и (II) в $\text{CCl}_4 - \text{CH}_3\text{CN}$ (1:1) обнаружили заметные изменения при добавлении роданидов калия и натрия, указывающие на образование комплексов (рис. 2). Спектры КД депептидов (I) и (II) в $0,7 \cdot 10^{-2}$ М KCl/EtOH практически не отличаются от спектров свободных циклодепептидов; несколько большие изменения были найдены для этанольных растворов LiClO_4 , хотя и они были слишком малы для расчета констант устойчивости комплексов (рис. 1). При титровании циклов (I) и (II) NaClO_4 были получены достаточно большие спектральные сдвиги, указывающие на образование комплекса, и рассчитаны константы устойчивости образующихся комплексов (исходя из их стехиометрии 1:1) (табл. 7) [13].

При добавлении роданида натрия к раствору депептидов (I) и (II) в этаноле или роданида лития в ацетонитриле (в этаноле комплекс (I)

Конформационные параметры циклических октадеципептидов валиномицинового ряда

Соединение	1,5		2,6		3,7		4,8		ВМБС
	φ	χ	φ	χ	φ	χ	φ	χ	
	$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Phe-L-Lac-L-Phe-L-Phe-D-Hyi})_2$ — Кристалл [14]	134	-40	-68	165	-140	178	94	
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Val-L-MeAla-L-Val-D-Hyi})_2$ — Кристалл [12]	124	-35	-77	156	-137	176	105	-2	NH(<i>D</i> -Phe ⁵) → CO(Lac ⁶)
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Val-L-Pro-L-Val-D-Hyi})_2$ — (1)	99	-119	-117	23	-109	123	69	14	NH(Val ³) → CO(Val ⁷) тип 5→1
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ Кристалл [10] Хлороформ	124	-86	-143	36	-70	129	64	37	NH(Val ⁷) → CO(Val ³) Нет
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Val-L-Pro-L-Val-D-Hyi})_2$ — (11)	76	-123	-169	-24	-138	154	122	-4	72
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ Кристалл [10] Хлороформ	90	-127	-72	-17	-130	158	106	-8	63
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Val-L-Lac-L-Val-D-Pro})_2$ — (11)	83	-90*	-90*	-35	-110	90*	>120*	-30*	60
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ Хлороформ	103	-90*	-150	30*	-83	90*	<90	32	60
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Val-L-Lac-L-Val-D-Pro})_2$ — (11)			(-90)						180
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ Хлороформ									180
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ $(D\text{-Val-L-Lac-L-Val-D-Pro})_2$ — (11)									32
$\overline{\text{---}}^{4,5} \text{---}^{2,6} \text{---}^{3,7} \text{---}^{4,8} \text{---} \text{---}^{4,5}$ Хлороформ									32

* Значения углов получены из молекулярных моделей.

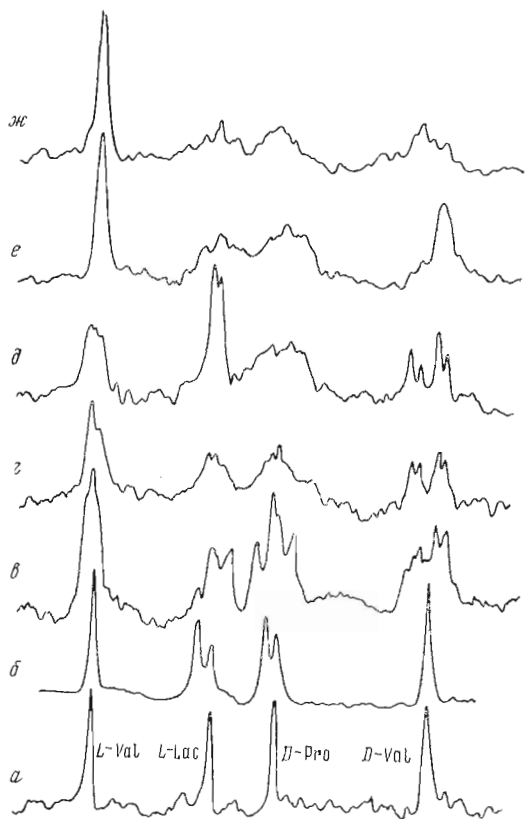


Рис. 4

Рис. 4. Спектр ^{13}C -ЯМР соединения (II) ($13,3 \cdot 10^{-2}$ М) в CDCl_3 , 30°C ; область сигналов карбонильных углеродов: а — при шумовом подавлении протонов, б — при шумовом подавлении протонов с 50% $\text{H} \rightarrow \text{D}$ -обменом, при селективном облучении $\text{C}^{\beta}\text{H}_2$ D-Pro (в), C^{β}H D-Val (з), CH_2 и $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ L-Lac (д), сильнополярного $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ L-Val и $\text{C}^{\beta}\text{H}_2$ D-Pro (е), $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ L-Val, C^{β}H L-Val и слабополярного сигнала $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ D-Pro (ж)

Рис. 5. Конформация соединения (I) в кристалле [10]

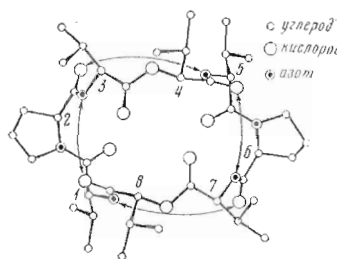


Рис. 5

и (II) с литием практически не образуется) наблюдаются существенные изменения параметров спектров ЯМР, указывающие на образование соответствующих комплексов (рис. 6, табл. 1, 2). Значения химических сдвигов сигналов углеродов $^{13}\text{C}^T$ пролиновых остатков (табл. 2) согласуются с сохранением *транс*-конфигурации третичной амидной связи при образовании натриевого комплекса депептидов (I) и (II) в этаноле.

Сигналы углеродов ^{13}C сложноэфирных карбониллов в спектрах ^{13}C -ЯМР соединений (I) и (II) претерпевают наибольший сдвиг в слабое поле при образовании натриевого комплекса в этаноле ($\approx 1,6$ и $\approx 2,5$ м. д., табл. 2), что указывает на их участие в поиндипольном взаимодействии [9]. Очевидно, в полярной среде образуется комплекс, в котором лигандами являются карбонилы сложноэфирных групп. Небольшие изменения химических сдвигов сигналов амидных карбонильных групп могут быть обусловлены также и конформационными изменениями молекулы.

При комплексообразовании происходит уменьшение $^3J_{\text{NH}-\text{C}^{\alpha}\text{H}}$ как D-, так и L-валиновых остатков и изменение ориентаций боковых цепей валиновых остатков (табл. 1). Полученные значения температурных зависи-

Таблица 7

Константы устойчивости (K) комплексов соединений (I) и (II) с щелочными металлами

Соединение	Растворитель	Концентрация, 10^{-2} М	Соль	$K \cdot 10^{-2}$, М $^{-1}$
(I)	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}$	3.16	NaSCN	$0,60 \pm 0,15$
	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	0.15	NaClO_4	0.06
(II)	$\text{C}_2\text{D}_5\text{OH}$	1.14	NaSCN	$1,89 \pm 0,5$
	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	0.14	NaClO_4	0.30
	CD_3CN	1.86	LiSCN	$0,50 \pm 0,13$

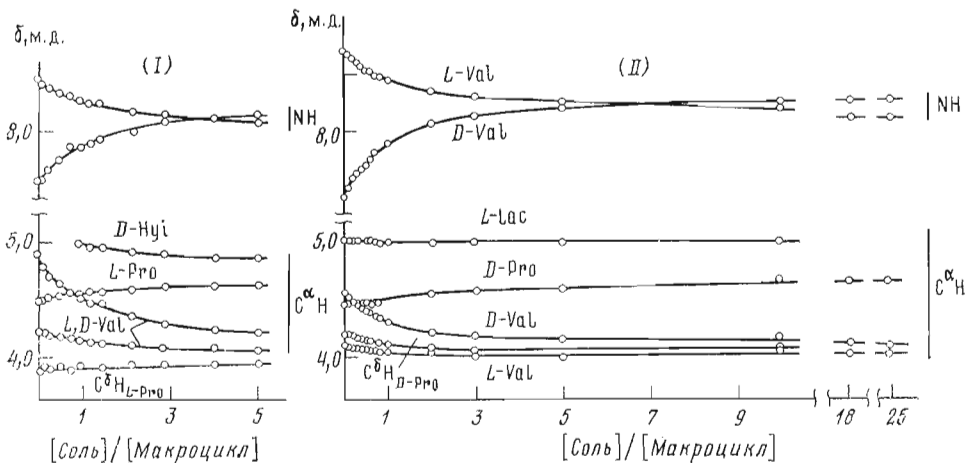


Рис. 6. Титрование соединений (I) и (II) роданидом натрия в C_2D_5OH (изменение химических сдвигов сигналов в спектрах 1H -ЯМР). Концентрация пептида (I) $3,2 \cdot 10^{-2}$, (II) $1,2 \cdot 10^{-2}$ М ($30^\circ C$)

местей химических сдвигов сигналов NH и скоростей дейтерообмена (табл. 1) не позволяют сделать определенных заключений о наличии или устойчивости ВМВС в этих комплексах. Однако рассчитанные из величин $\Delta\delta_{\alpha,\beta,\gamma}$ [5] значения торсионного угла ψ *L*-(*D*-) пропилового остатка в комплексах депептидов (I) и (II) с $NaSCN$, равные -103 (-137) и 106 (134°) соответственно (табл. 5), не согласуются с возможными значениями этого угла для остатков, находящихся в положении $i+2$ β -изгиба с водородной связью типа $4 \rightarrow 1$, для которого характерны значения $-70 \div 80^\circ$ [14, 15]. Очевидно, при образовании натриевого комплекса депептидов (I) и (II) фрагменты *D*-Hyi-*D*-Val-*L*-Pro-*L*-Val и *L*-Lac-*L*-Val-*D*-Pro-*D*-Val не образуют β -изгибов, стабилизированных ВМВС.

По кривым изменения химических сдвигов сигналов в спектрах 1H -ЯМР при титровании депептидов (I) и (II) роданидом натрия были рассчитаны константы устойчивости комплексов (исходя из стехиометрии 1:1) [13] (табл. 7).

Разница значений констант устойчивости комплексов (I) $\cdot Na^+$ (60 и 6 M^{-1}) и (II) $\cdot Na^+$ (189 и 30 M^{-1}) (табл. 7), рассчитанных по данным спектров ЯМР и КД, исходя из указанной стехиометрии и без учета образования ионных пар с анионом, может объясняться как разницей в концентрациях, так и использованием различных анионов и указывает на участие аниона в процессе комплексообразования.

При добавлении сухой соли роданида лития к растворам депептидов (I) и (II) в $CDCl_3$, где реализуется система ВМВС, наблюдаются изменения параметров спектров 1H -ЯМР и ^{13}C -ЯМР (табл. 1, 2). На рис. 7 приведена область сигналов N- и C^α -протонов в спектрах 1H -ЯМР депептидов (I) и (II) в $CDCl_3$. Спектр регистрировался сразу после добавления соли (рис. 7б), через 1 ч (рис. 7в) и через 3 ч (рис. 7г). В течение опыта наблюдаются изменения химических сдвигов сигналов N-протонов, $C^\alpha H$ *D*-Val(I), $C^\alpha H$ *L*-Val(II) и $C^\alpha H$ *D*-Hyi(I), а также КССВ $^3J_{NH-C^\alpha H}$ и $^3J_{C^\alpha H-C^\beta H}$ (табл. 1, рис. 7), указывающие на образование комплексов. Изменения химических сдвигов остальных сигналов в процессе комплексообразования белочки, и не наблюдается изменения химических сдвигов anomalно сдвинутых сигналов C^δ -протонов пропилового остатка (4,38 м. д. (I) и 4,34 м. д. (II), табл. 1), что говорит о сохранении в образующихся комплексах β -изгибов фрагментов *D*-Hyi-*D*-Val-*L*-Pro-*L*-Val (I) и *L*-Lac-*L*-Val-*D*-Pro-*D*-Val (II). Внесение роданидов Na, K и Cs, напротив, не приводило к заметному изменению вида спектров 1H -ЯМР. Химический сдвиг углерода $^{13}C^\gamma$ пропилового остатка комплекса (I) с катионом лития в $CDCl_3$ и в смеси $CDCl_3 - CD_3CN$, 1:1 (табл. 2), указывает на сохранение

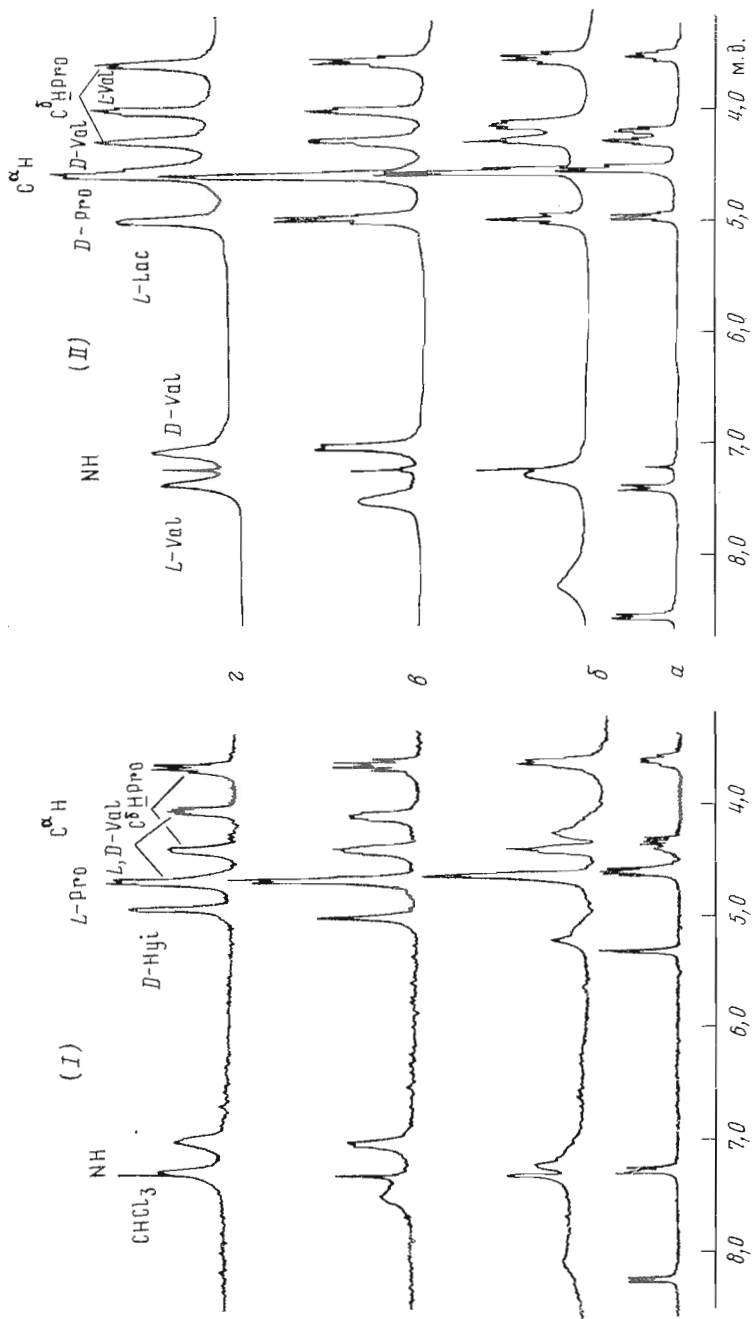


Рис. 7. Спектры $^1\text{H-NMR}$ (300 МГц) соединений (I) ($0,8 \cdot 10^{-2}$ М) и (II) ($1,9 \cdot 10^{-2}$ М) в CDCl_3 (25°C) (а) и их комплексов с роданидом лития, полученных непосредственно после добавления сухого LiSCN (б); через 1 ч (в) и через 3 ч (г) после добавления соли

транс-конфигурации третичной амидной связи при образовании комплекса. При комплексообразовании в хлороформе, как и в спиртовом растворе, происходит уменьшение значений $^3J_{NH-C\alpha H}$ и изменение ориентаций боковых цепей остатков валина. Однако при этом в отличие от спиртового раствора значение угла ψ остатка Pro (табл. 5) и химические сдвиги сигналов двух S^5 -протонов аналогичны соответствующим величинам в свободных депсинептидах, что можно объяснить сохранением браслетной конформации у комплекса.

Таким образом, комплексы соединений (I) и (II) с Na^+ в этаноле отличаются по своей конформации от соответствующих комплексов с Li^+ в хлороформе.

В целом, замены $L\text{-Lac} \rightarrow L\text{-Pro}$ и $D\text{-Hyl} \rightarrow D\text{-Pro}$ не оказали существенного влияния на конформацию и свойства депсинептидов (I) и (II) и их комплексов по сравнению с октавалиномицином. В последующих сообщениях настоящей серии будет показано, что аналогичные превращения в ряду валиномицина и гексадекавалиномицина сопровождаются гораздо более серьезными структурными перестройками.

Экспериментальная часть

Соединения (I) и (II) получены полным синтезом [2]. Перед физико-химическими измерениями соединения (I) и (II) высушивали 5 ч в вакууме при $40^\circ C$.

Кривые КД измеряли на дихрографе Jobin-Ivon (Франция) при концентрациях циклодепсинептидов 0,4–1,0 мМ и температуре $23\text{--}25^\circ C$, толщина кювет 0,01–1 см.

ИК-спектры регистрировали на приборах UR-20 и Perkin-Elmer-180 с призмами $NaCl$ и LiF . При измерениях в CCl_4 использовали кюветы толщиной 5–10 см (в диапазоне измерений $3500\text{--}3200\text{ см}^{-1}$) и 0,5–1,0 см (в диапазоне $1800\text{--}1600\text{ см}^{-1}$), концентрации растворов $6,5 \cdot 10^{-5}\text{--}4,0 \cdot 10^{-4}$ М. При измерениях в $CHCl_3$ толщина кюветы составляла 1–2 см при $3500\text{--}3200\text{ см}^{-1}$ и 0,5 см при $1800\text{--}1600\text{ см}^{-1}$, концентрации растворов 0,4–0,6 мМ. При измерениях в смеси $CCl_4\text{--}CH_3CN$ (1:1) применяли кюветы толщиной 0,05–1 см, концентрации растворов 3,8–4,3 мМ.

Комплексы в смеси $CCl_4\text{--}CH_3CN$ (1:1) получали по методике [8].

Спектры 1H -ЯМР были получены на спектрометрах фирмы Varian, SC-300 (с рабочей частотой 300 МГц) в импульсном режиме и XL-100/15 (100 МГц) в режиме непрерывного облучения. Спектры ^{13}C -ЯМР получены на спектрометрах XL-100/15 и CFT-20 с рабочей частотой соответственно 25,16 и 20 МГц в импульсном режиме. Химические сдвиги измерены относительно внутреннего стандарта тетраметилсилана. Температура в датчике поддерживалась с помощью стандартных температурных приставок с точностью $\pm 1^\circ C$.

Растворители были получены от фирмы «Изотоп» (СССР) и Stoler isotope chemicals (США).

Отнесение сигналов к типу остатка в спектрах 1H -ЯМР и ^{13}C -ЯМР было проведено с помощью моно- и гетеромультirezонанса, как описано в работе [1]. Интенсивность облучающего поля $\gamma H_2/2\pi$ в этих экспериментах составляла 20–25 Гц.

Константы устойчивости комплексов соединений (I) и (II) рассчитаны на ЭВМ HP 3000 (США), как в работе [13].

Расчет населенностей вращательных состояний фрагментов $C^\alpha\text{--}C^\beta$ (χ_i) проведен по уравнениям

$$a = 1 - b - c,$$

$$b = 0,091 J_{HC^\alpha-C^\beta H} - 0,23,$$

$$c = 0,087 J_{HC^\beta-^{13}C'} - 0,035,$$

которые выведены с учетом значений $^3J_{\text{сов}} 2,56$ и $^3J_{\text{транс}} 13,6$ Гц для константы $H\text{--}C^\alpha C^\beta\text{--}H$ [16] и $^3J_{\text{сов}} 0,4$ Гц и $^3J_{\text{транс}} 11,9$ Гц для константы $^1H\text{--}C^\beta C^\alpha\text{--}^{13}C'$ [17].

ЛИТЕРАТУРА

1. Фони́на Л. А., Аво́тинь Г. Я., Бала́шова Т. А., Старо́войтова Н. В., Се́нявина Л. Б., Са́велов И. С., Бы́стров В. Ф., Ива́нов В. Т., Овчи́нников Ю. А. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 9, с. 1285–1302.
2. Аво́тинь Г. Я., Фони́на Л. А., Ива́нов В. Т., Овчи́нников Ю. А. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 5, с. 581–589.
3. Dorman D. E., Vovey F. A. J. *Org. Chem.*, 1973, v. 38, № 13, p. 2379–2388.
4. Voelter W., Oster O. *Org. Magn. Res.*, 1973, v. 5, p. 547–548.
5. Siemion I. Z., Wieland Th., Pook K.-H. *Angew. Chem.*, 1975, v. 87, p. 712–713.
6. Koppe K. D., Go A. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1977, v. 99, № 23, p. 7698–7704.
7. Smith J. A., Pease L. G. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 1980, v. 8, p. 315–400.
8. Ива́нов В. Т., Фони́на Л. А., Се́нявина Л. Б., Виногра́дова Е. И., Овчи́нников Ю. А., Черви́н Г. П. Биоорган. химия, 1975, т. 1, № 1, с. 5–16.
9. Vystrov V. F., Gavrilov Yu. D., Ivanov V. T., Ovchinnikov Yu. A. *Eur. J. Biochem.*, 1977, v. 78, № 1, p. 63–82.
10. Плетнев В. З., Галицкий Н. М., Лэнс Д. А., Дюкс В. Л. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 1, с. 5–20.
11. Duax W. L., Smith G. D., Weeks C. M., Pletnev V. Z., Galitsky N. M. *Acta cryst.*, 1980, v. 36, № 11, p. 2651–2654.
12. Tishchenko G. N. Thesis of X Congress of the International Union of Cryst., Accom. Meeting A Symposium on Biol. Active Molecule, Buffalo USA, 1981, p. 45.
13. Гуревич А. З. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 2, с. 197–204.
14. Lewis P. N., Motany F. A., Sheraga H. A. *Biochim. et biophys. acta*, 1973, v. 303, № 2, p. 211–229.
15. Chandrasckaran R., Lakshminarayan A. V., Pandya U. V., Ramachandran G. N. *Biochim. et biophys. acta*, 1973, v. 303, № 1, p. 14–27.
16. Pachler K. G. R. *Spectrochim. acta*, 1964, v. 20, p. 581–587.
17. Hansen P. E., Feecey J., Roberts G. C. K. *J. Magn. Res.*, 1975, v. 17, № 2, p. 249–261.

Поступила в редакцию
25.V.1982

STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP FOR CYCLIC DEPSIPEPTIDES OF VALINOMYCIN SERIES. IX. OCTAVALINOMYCIN PROLINE-CONTAINING ANALOGS

BALASHOVA T. A., FONINA L. A., GUREVICH A. Z.,
STAROVOITOVA N. V., SENYAVINA L. B., AVOTINA G. Ya.,
IVANOV V. T., OVCHINNIKOV Yu. A.

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

Conformational properties of two octavalinomycin analogs, $-(D\text{-Val-Pro-Val-D-Hyi})_2-$ and $-(D\text{-Val-Lac-Val-D-Pro})_2-$ and their complexes with alkali metal ions were studied by spectral methods. It was shown that bracelet type conformations are more possible for cyclooctadepsipeptides in nonpolar media. Spatial structures of Na^+ -complexes in ethanol differ from those of Li^+ -complexes in chloroform.