



УДК 547.96 : 541.69

ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ СТРОЕНИЕМ И СВОЙСТВАМИ
В РЯДУ ДЕПСИПЕПТИДОВ ЭННИАТИНОВОЙ ГРУППЫ

ДИАСТЕРЕОМЕРЫ ЭННИАТИНА В

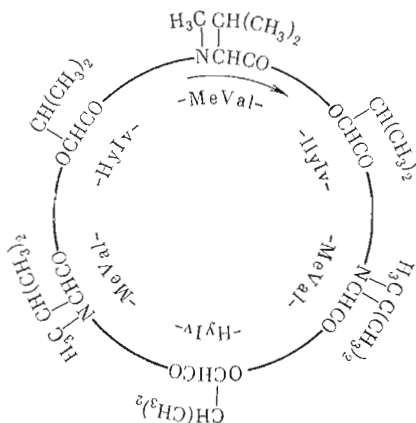
*Иванов В. Т., Евстратов А. В., Балашиха Т. А.,
Мещерякова Е. А., Шортлова С. Л., Быстров В. Ф.,
Овчинников Ю. А.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Изучены кривые ДОВ, КД, спектры ЯМР и дипольные моменты всех возможных диастереомерных аналогов новофорного антибиотика энниатина В, имеющих общую формулу $\text{цикло}[(\text{MeVal-HuIv})_3]$. Аналог с монотонным $DDDDDD$ -набором конфигураций амнио- и оксикислотных остатков имеет жестко фиксированную конформацию с *транс*-амидными и сложноэфирными группами. Остальные аналоги участвуют в сложном конформационном равновесии, положение которого зависит от природы растворителя. Выявлены три типа конформационных переходов в растворах: *цис* — *транс*-изомерия *N*-метиламидных связей; *цис* — *транс*-изомерия сложноэфирных связей; поворотная изомерия вокруг одинарных связей. Последовательное обращение конфигурации одного, двух и т. д. остатков в молекуле энниатина В снижает устойчивость эквимолярных комплексов с ионами щелочных металлов. Для $LDLDDD$ -аналога обнаружены комплексы с соотношением макроцикл:катион 1:1 и 2:1. $DDDDDD$ -Аналог вовсе лишен способности образовывать комплексы с катионами. Приводится конформационный анализ, объясняющий перечисленные факты.

В последние годы ионофорные антибиотики энниатиновой группы нашли широкое применение для изучения механизма транспорта ионов через различные биологические и искусственные мембраны [1—6]. Ранее нами была показана решающая роль конформационных факторов в процессах связывания и транспорта ионов энниатинами [1, 4, 7, 8]. Для установления связи между структурой и функцией энниатинов была получена большая серия аналогов энниатина В (I) и определены их антимикробные свойства [9]. Настоящая статья посвящена изучению металлсвязывающих и конформационных свойств тех аналогов энниатина В (I), которые отличаются от него последовательностью конфигураций асимметрических атомов в цикле, — диастереомеров (II)—(XII).

Поскольку ни один из современных физико-химических методов, взятый в отдельности, не позволяет определить конформационные состояния пептидных соединений в растворах, для этой цели нами были использованы данные ряда физико-химических методов. При изучении конформационного состояния того или иного соединения необходимо выяснить, является ли это соединение конформационно жестким или существует в растворе

В работе использованы сокращения аминокислотных остатков, рекомендованные комиссией по номенклатуре: IUB — IUPAC Commission on Biochemical Nomenclature (1972) *Biochem. J.*, 773—786. HuIv — остаток α -оксизавалериановой кислоты.



| | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>L</i> . <i>DD</i> <i>DD</i> (I)* | <i>LL</i> <i>DD</i> <i>LD</i> (VII) |
| <i>LD</i> <i>LD</i> <i>DD</i> (II) | <i>DL</i> <i>LL</i> <i>LL</i> (VIII) |
| <i>LD</i> <i>LD</i> <i>LL</i> (III) | <i>DL</i> <i>LL</i> <i>LD</i> (IX) |
| <i>LD</i> <i>LD</i> <i>DL</i> (IV) | <i>LD</i> <i>LL</i> <i>DL</i> (X) |
| <i>LL</i> <i>LL</i> <i>LD</i> (V) | <i>DD</i> <i>DL</i> <i>LL</i> (XI) |
| <i>LL</i> <i>LL</i> <i>DD</i> (VI) | <i>DD</i> <i>DD</i> <i>DD</i> (XII) |

в виде набора пространственных структур и меняются ли их населенности при изменении природы растворителя. Дисперсия оптического вращения (ДОВ) — один из наиболее удобных методов для решения этой задачи. Нами измерены кривые ДОВ соединений (I) — (XII) в средах, сильно различающихся диэлектрической проницаемостью и сольватирующей способностью: гептане, этаноле, трифторэтаноле и смеси вода — трифторэтанол (2:1) (рис. 1—3) **. На примере энциатина В ранее было показано [8], что роль катиона при взаимодействии с депептидным остовом сводится к снятию диполь-дипольного отталкивания отрицательно заряженных атомов кислорода карбонильных групп, т. е. аналогична роли полярных растворителей. На этом основании нами в качестве наиболее полярной среды использовался еще 1 М раствор NaClO_4 в 96 % водном этаноле.

Анализ кривых ДОВ приводит к выводу, что соединения (I) — (XII) сильно различаются по своей конформационной подвижности. Если принять за меру конформационной подвижности амплитуду изменения значений молярного вращения $[\Phi]$ при смене растворителя, то наиболее лабильным из всей серии следует считать энциатин В (I) (рис. 1 а), а наиболее жестким — аналог (XII), практически не меняющий кривой ДОВ во всех исследованных средах (рис. 3 в). Остальные соединения занимают промежуточное положение по изменчивости своей пространственной структуры. Наиболее близок энциатину В по конформационным возможностям аналог (II), отличающийся от антибиотика конфигурацией одного аминокислотного остатка. Основываясь на сходстве кривых ДОВ энциатина В и аналога (II) в одинаковых растворителях, можно утверждать, что в гептане у последнего реализуется конформация, аналогичная несимметричной форме *N* антибиотика [8], а в водном трифторэтаноле и Na^+ -комплексе реализуются структуры типа *P* с C_3 -симметричной конформацией депептидного остова [8].

Судя по присутствию изобестической точки (при 232 нм, рис. 2 б), сравнительно простым является конформационное равновесие и у соединения (VI), в котором можно предположить участие двух основных форм: «неполярной» (максимальное содержание в гептане) и «полярной» (максимальное содержание в 1 М NaClO_4 в 96 % этаноле). Определенных выводов о числе пространственных форм у остальных соединений по кривым ДОВ сделать не удается.

Более конкретная информация о структуре соединений (II) — (XII) была получена из спектров ЯМР. Для всех аналогов сняты спектры ЯМР как в неполярных (CDCl_3 , $\text{C}_6\text{D}_5\text{CD}_3$, CF_2Cl_2 — $\text{C}_6\text{D}_5\text{CD}_3$), так и в поляр-

* Здесь и далее последовательность конфигураций amino- и оксикислотных остатков дается, начиная с аминокислотного остатка и далее по направлению ацилирования (указано стрелкой).

** Исключение составляет аналог (XII), дающий достаточную концентрацию растворов только в трифторэтанолсодержащих смесях.

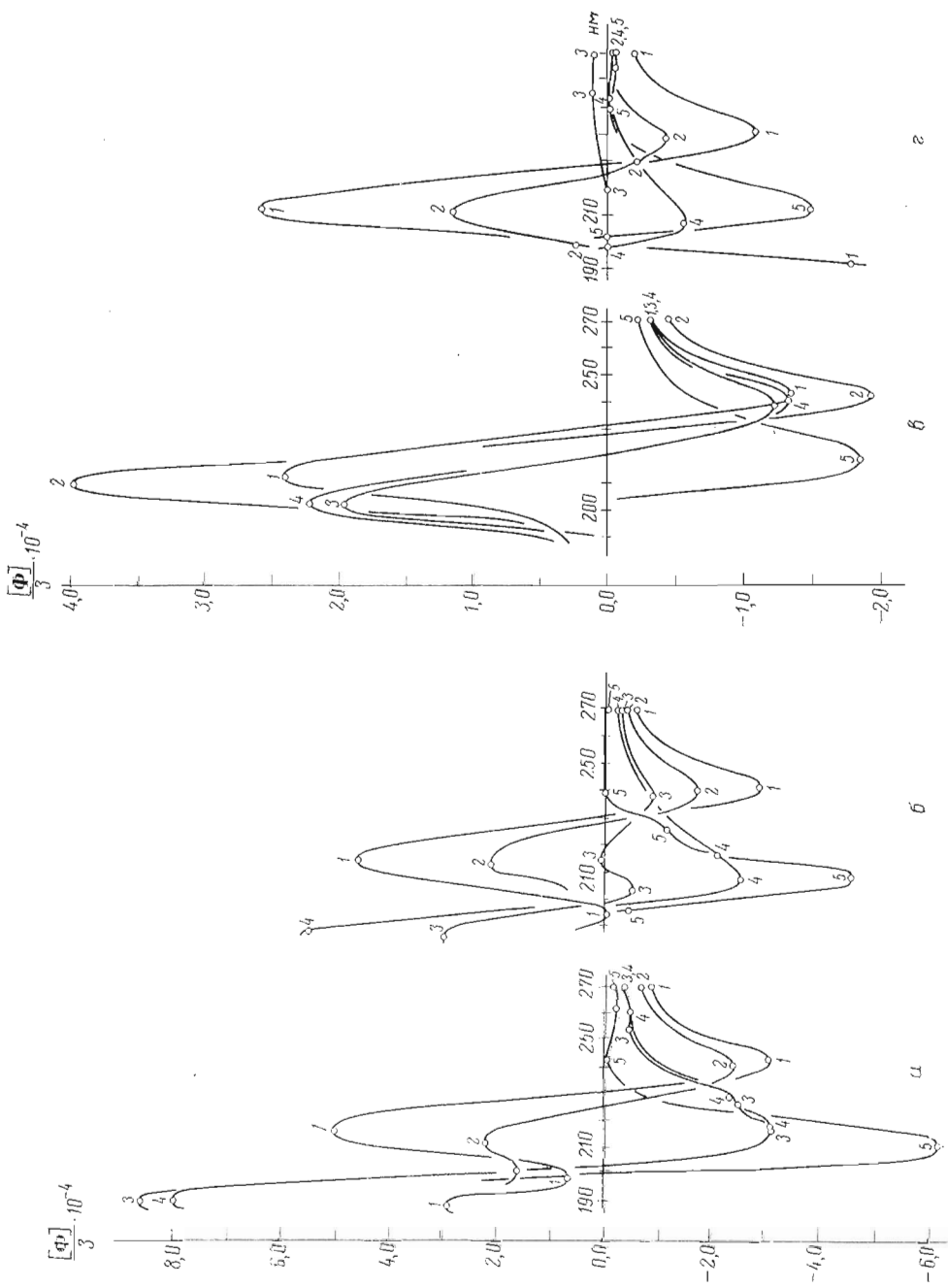


Рис. 1. Кривые ДОВ соединений (I) — а, (II) — б, (III) — в и (IV) — г в различных растворителях: 1 — гексан; 2 — 96% водный этанол; 3 — трифторэтанол; 4 — трифторэтанол — вода (1 : 2); 5 — 1 М раствор NaClO₄ в 96% водном этаноле

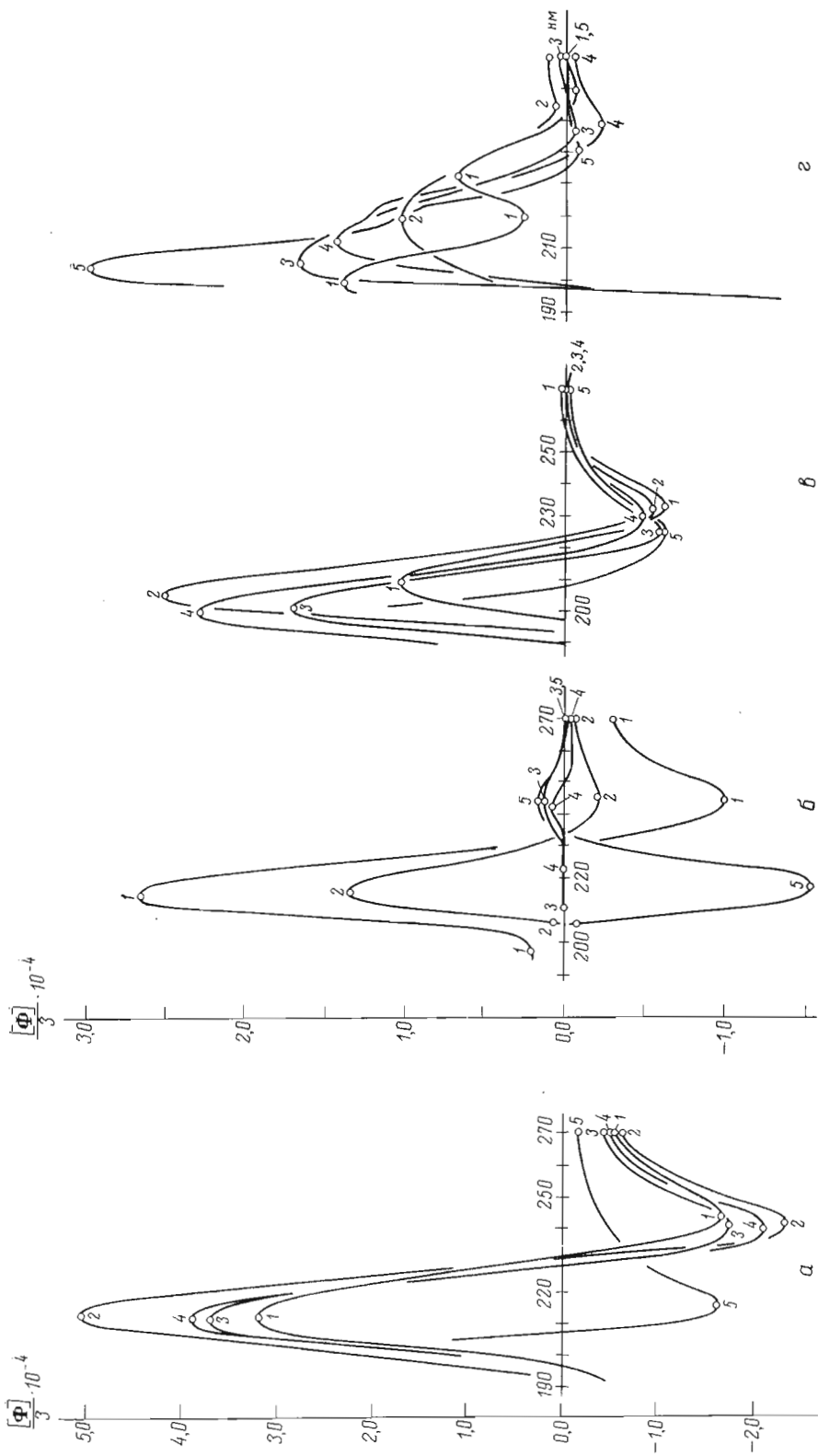


Рис. 2. Кривые ДОВ соединений (V) — а, (VI) — б, (VII) — в и (VIII) — г в различных растворителях. Обозначения кривых — см. подпись к рис. 1

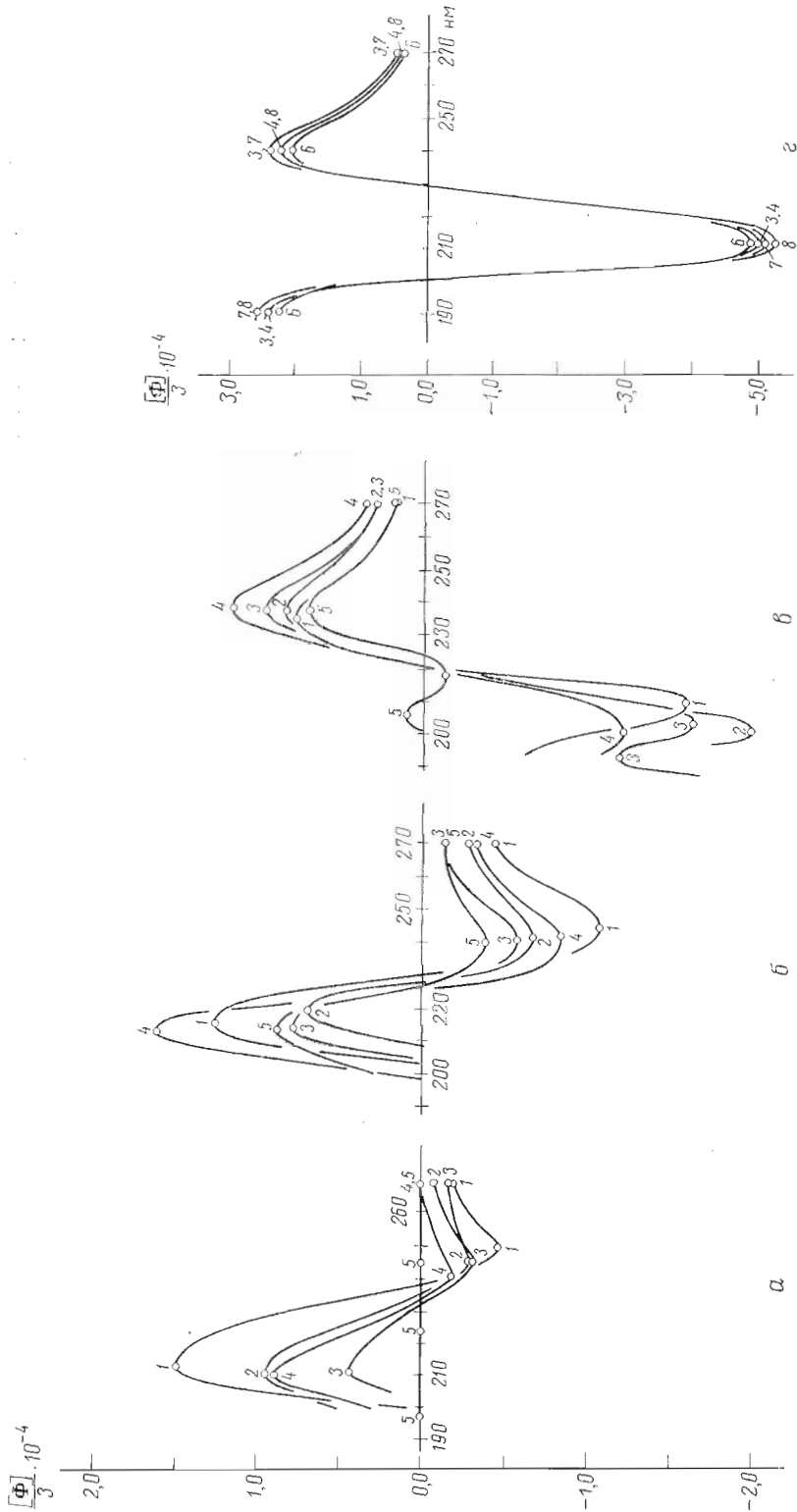


Рис. 3. Кривые ДОВ соединений (IX) — а, (X) — б, (XI) — в и (XII) — г в различных растворителях. Обозначения кривых 1—5 — см. подпись к рис. 1; 6 — диоксан — трифторэтанол (2 : 1); 7 — насыщенный раствор KCl в трифторэтанол; 8 — 0,5 М раствор NaClO₄ в смеси 96% водный этанол — трифторэтанол (1 : 1)

Параметры спектров ^{13}C -ЯМР соединения (II)

| Раст. образец | Концентрация (II), М | °С | Медленно конвертируемые формы | | | δ , м.д. ($^{\circ}\text{C}$) $\text{C}^{\alpha}\text{H}-\text{C}^{\beta}\text{H}$ Гц | |
|---|----------------------|-----|-------------------------------|-------|------------------------------------|--|--|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность форм, % ^{3*} | N—CH ₃ | C $^{\alpha}$ H [*] |
| CDCl ₃ | 0,09 | +25 | 2 | I | 80 | 2,89; 3,04; 3,16 | 4,70(9,8); 4,83(10,9); 4,91(4,4); 5,04(11,4); 5,17(9,2); 5,43(8,3) _{2*} |
| | | | | II | 20 | 2,99 ^{2*} | |
| CD ₃ CO ₂ D ₅ —CF ₂ Cl ₂ , 1:3 | 0,07 | +24 | 2 | I | 80 | 2,83; 2,91; 3,07 | 4,75(8,9); 4,78(5,0); 4,88(11,8); 5,08(10,8); 5,11(8,1); 5,43(7,9) _{2*} |
| | | | | II | 20 | 2,89; 3,03 ^{2*} | |
| | | | | I | — | 2,74; 2,74; 3,04 | |
| | | | | II | — | 2,97 ^{2*} | |
| CDCl ₃ —CD ₃ CN, 1:1 | 0,04 | +25 | 2 | I | 65 | 2,83; 3,11; 3,19 | 4,63(9,5); 4,71(11,0); 4,87(10,7); 4,97(5,5); 4,98(7,5); 5,35(7,5) |
| | | | | II | 35 | 2,88; 3,03; 3,05 | 4,21(11,1); 4,79(10,0); 4,8—5,0; 5,21(4,0); 5,30(9,0); 5,54(8,0) |
| CDCl ₃ —CD ₃ CN, 1:1, + 3 г-эвв. KNCS | 0,04 | +25 | 1 | — | 100 | 3,22; 3,23; 3,26 | 3,47(7,7); 4,51(8,5); 5,07(5,6); 4,58(8,5); 5,14(6,0); 5,17(—4) |

^{1*} Отнесение сигналов C $^{\alpha}$ H протонов к окси- и аминокислотным остаткам проведено не было.

^{2*} Остатки не сигнализировали в спектре вследствие не удалости.

^{3*} Насыщенность форм I, где она не указана, рассчитана не удалости из-за сильного перекрытия сигналов.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединения (III)

| Растворитель | Концентрация (III), М | °С | Медленно конвертируемые формы | | | δ, м. д. (δ _{С₂H₅-С²H, Γ_н)} | |
|---|-----------------------|-----|-------------------------------|----------|----------------------|--|--|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность форм, % | N-CH ₃ | С ² H * |
| CDCl ₃ | 0,09 | +25 | 4 | I | 60 | 2,92; 3,04; 3,05 | 4,18(9,4); 4,79(9,0); 5,18(6,7); 5,26(8,5); 5,26(8,5); 5,61(6,4) |
| | | | | II | 30 | 2,89; 3,15 ^{2*} | 3,74(10,8); 4,38(10,2); 4,68(8,9); 5,01(10,4); 3,3-5,5 |
| | | | | III + IV | 10 | 3,26; 3,30 ^{2*} | 3,3-5,5 |
| CD ₃ C ₆ D ₅ | 0,2 | +25 | 4 | I | 55 | 2,78; 2,82; 2,88 | 4,22(9,6); 4,22(9,6); 4,81(11,0); 5,22(7,7); 5,47(7,6); 5,55(7,2) |
| | | | | II | 25 | 2,90; 2,93 ^{2*} | 3,81(11,0); 4,59(8,7); 5,04(8,4); 5,15(4,9); 5,70(7,3) ^{2*} |
| | | | | III + IV | 20 | 2,99 ^{2*} | 3,3-5,5 |
| CD ₃ CN | 0,06 | +25 | 3 | I | 75 | 3,04; 3,04; 3,04 | 4,23(9,8); 4,68(10,5); 5,14(5,2); 5,38(8,0) ^{2*} |
| | | | | II | 20 | 2,82; 2,88; 3,09 | 4,11(7,0); 4,40(10,2); 4,5-4,8; 4,99(10,2); 5,62(7,3) |
| | | | | III | 5 | 2,80; 2,89 ^{2*} | ^{2*} |
| | | +85 | — | — | — | 2,94; 3,02; 3,04 | 4,21(9,4); 4,53(10,2); 4,68(10,2); 5,15(6,1); 5,33(7,8); 5,48(6,0) |

^{1*}, ^{2*} См. примечания к табл. 1.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединений (IV)

| Растворитель | Концентрация (IV), M | сС | Медленно конвертируемые формы | | | N-CH ₃ | с, м. л. (³ J _{сзН-СβН} , Гц) | | | | | |
|---|----------------------|----------------|---|----------------|------------------------------------|--|--|------------------------------------|----------------------|---------------------|--|--|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность форм, % ^{1*} | | | | | | | |
| CDCl ₃ | 0,3 | +25 | 3 | I II III | 65 30 5 | 3,00; 3,09; 3,20 3,02; 3,11; 3,20 2,85 ^{2*} | { 3,89(10,6); 3,91(10,1); 4,80(11,2); 4,8-4,9; 4,95(9,4); 5,23(3,5); 5,48(7,4); 5,50-5,65; 5,69(5,0) | | | | | |
| | | | | | | | | 3 | I + III | — | 2,88; 3,00; 3,07 2,88-3,03 | { 3,90(10,1); 4,01(10,8); 4,1-4,8; 4,91(10,2); 5,14(9,4); 5,55(8,2); 5,60(11,8); 5,80(3,5); 4,8-5,7 |
| | | | | | | | | | | | | |
| CD ₂ C ₆ D ₂ | 0,08 | +19 | 3 | I II III | — | 2,94; 2,96; 3,02 2,91; 2,99; 3,01 2,79 ^{2*} | { 3,78(10,3); 3,92(10,3); 4,84(11,4); 4,90(10,9); 5,04(8,9); 5,42(4,0); 5,51(6,1); 5,74(3,5); 4,0-4,3; 4,8-5,9 | | | | | |
| | | | | | | | | 4 | I II III IV | 42 33 20 5 | 2,86; 2,95; 3,01 2,83; 2,91; 2,97 2,80; 3,09 ^{2*} 2,72 ^{2*} | { 3,71(10,5); 3,90(10,6); 4,00(9,6); 4,0-4,5; 4,79(9,5); 4,89(10,4); 4,99(9,8); 5,0-5,2; 5,38(8,6); 5,42(3,6); 5,49(6,9); 5,5-5,7; 5,74(2,9); 5,82(4,0) |
| | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | (CD ₃) ₂ CO | 0,15 | +25 | 4 | I II III IV |
| 4 | I II III, IV | ~80 — <5 | 3,01; 3,21; 3,24 3,18 ^{2*} — ^{2*} | — — — | | | | | | | | |

^{1*}, ^{2*}, ^{3*} См. примечания к табл. 1.

Параметры спектров ^{13}C -ЯМР соединения (V)

| Растворитель | Концентрация (V), M | °C | Медленно конвертируемые формы | | | δ, м. д. ($\delta/\text{C}_2\text{H}_2-\text{C}_2\text{H}_4$, Гц) | | | | |
|--|---------------------|-----|-------------------------------|-------|-----------------------|---|---|----------|----|--|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность формы, % | N-CH ₃ | C ² H ² * | | | |
| CDCl ₃ | 0,15 | +25 | 3 | I | 80 | 2,76; 2,96; 3,02 | 3,98(10,3); 4,56(8,5); 4,89(11,4); 5,18(4,6) 5,37(9,8); 5,70(4,5); 4,29(10,7); 4,30(11,1); 5,05(6,2); 5,53(7,2)** | | | |
| | | | | | | | | II + III | 20 | 2,90; 3,00; 3,14; 3,23** |
| | | | | | | | | | | 2,75; 2,97; 3,01 |
| C ₂ D ₂ C ₆ D ₅ -CS ₂ , 1:2 | 0,05 | +21 | >1 | I | 90 | 2,64; 2,71; 2,92** | 3,82(10,5); 4,47(7,8); 4,77(11,1); 5,18(3,9); 5,25(9,3); 5,60(3,2)** | | | |
| | | | | | | | | | | 2,58; 2,18; 2,91 |
| | | | | | | | | | | 2,66; 2,90; 2,91 |
| | | | | | | | | | | 2,80; 3,12; 3,12 2,92; 3,01; 3,15; 3,17; 3,20** |
| CD ₃ CN | 0,04 | +25 | 4 | I | 40 | 2,66; 2,90; 2,91 | 3,97(10,2); 4,46(8,7); 4,66(11,4); 5,18(4,47); 5,38(9,2); 5,26(4,7) | | | |
| | | | | | | | | II + IV | 15 | { 3,34(4,0); 4,02(10,2); 4,23(10,9); 4,82(10,4); 4,83(11,4); 5,26(6,2); 5,40(5,0)** |
| | | +80 | — | — | — | 3,02 | — | | | |

1*, ** Примечания см. табл. 1.

* Определить число и содержание минорных форм не удалось из-за плохого соотношения сигнал — шум.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединения (VI)

| Растворитель | Концентрация (VI), M | °C | Медленно конвертируемые формы | | | | N-CH ₃ | δ, м. л. (δ _{С¹³H-S¹³N} -СЭН. Гц) | С ¹³ N* |
|--|----------------------|-------------|-------------------------------|-------|---------------------|--------------------------|---|--|--------------------|
| | | | Общее число | Номер | Пасленность форм, % | | | | |
| CDCl ₃ | 0,09 | +25 | 2 | I | 90 | 2,92; 3,09; 3,11 | 4,28(10,6); 4,93(11,4); 5,21(7,8); 4,99(10,9); 5,28(8,2); 5,37(8,5) ^{2*} | | |
| | | | | II | 10 | 2,87 3,21; 3,21; | 4,31(10,6); 4,96(11,3); 4,98(10,8); 5,27(7,8); 5,30(7,2); 5,33--5,4 | | |
| CD ₃ C ₆ D ₅ -CF ₂ Cl ₂ , 1:3 | 0,06 | +21 | 1 | I | 100 | 2,85; 2,95; 2,95 | 4,43(10,2); 5,03(11,1); 5,03(11,1); 5,17(5,7); 5,24(6,0); 5,37(7,2) | | |
| | | -34 -120 | | | | 2,82; 2,87; 2,89 2,83 | — | Все сигналы уширены | |
| (CD ₃) ₂ CO | 0,11 | +25 | 2 | I | 80 | 2,82; 3,07; 3,07 | 4,63(10,8); 4,90(11,4); 4,96(11,1); 5,32(7,4); 5,33(8,1); 5,38(6,8) ^{2*} | | |
| | | | II | 20 | 2,93; 3,15; 3,29 | | | | |
| (CD ₃) ₂ CO-D ₂ O, 4:1 | 0,09 | +25 | 2 | I | 80 | 2,88; 3,11; 3,12 | 4,49(10,8); 4,86(11,7); 4,93(11,2); 5,33(6,6); 5,40(7,4); 5,40(7,4) ^{2*} | | |
| | | | II | 20 | 2,98; 3,18; 3,32 | | | | |

1*, 2* См. примечания к табл. 1.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединения (VII)

| Растворитель | Концентрация (VII), М | °С | Медленно концентрируемые формы | | | | δ, м. д. (¹³ C _α H-C ^β H, Γ _{CH}) |
|--|-----------------------|-----|--------------------------------|-------|------------------------------------|--|---|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность форм, % ^{1*} | N-СН ₃ | |
| CDCl ₃ | 0,08 | 25 | 2 | I | 95 | 2,71; 3,17; 3,26 | 4,93(9,0); 4,96(11,4); 4,96(11,4); 5,20(3,2); 5,34(7,6) ^{2*} |
| | | | >1 | II | 5 | 2,98; 3,37 ^{2*} | |
| CD ₃ C ₆ D ₅ -CS ₂ , 1:2 | 0,04 | 25 | >1 | I | ≥95 | 2,57; 2,97; 3,07 ^{4*} | — |
| | | | >1 | I | ≥95 | 2,49; 2,81; 3,11 ^{4*} | |
| CD ₃ CN | 0,05 | 25 | 4 | I | 80 | 2,76; 3,10; 3,17 | 4,61(11,2); 4,69(10,7); 4,77(10,3); 5,27(5,5); 5,28(7,8); 5,38(7,6) ^{2*} |
| | | | | II-IV | 20 | 2,79; 2,90; 3,0-3,1; 3,13; 3,28 ^{2*} | |
| | | +95 | | I | — | 2,83; 3,20; 3,27 | 4,66(10,9); 4,72(11,0); 4,72(11,0); 5,29(6,4); 5,34(7,5) ^{2*} |
| | | | | II-IV | — | 2,85; 2,96; 3,22; 3,38 | |
| | | 0 | | I | 60 | 2,74; 3,11; 3,19 | — |
| | | | | II-IV | 40 | 2,78; 2,91; 2,93; 3,00; 3,14; 3,30; 3,38 ^{2*} | |
| | | -45 | | I | | 2,70; 3,11; 3,20 | Сигналы уширены |
| | | | | II-IV | | 2,92; 3,01; 3,30; 3,38 ^{2*} | |

1* 2* См. приложения к табл. 1.

4* Содержание доминирующей формы ~95%. Определить число и содержание минорных форм не удалось из-за плохого соотношения сигнал — шум.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединений (VIII)

| Растворитель | Концентрация (VIII), М | °С | Медленно конвертируемые формы | | | δ, м.д. (³ J _{C^αH-C^βH, Гц)} | | | | | |
|---------------------------------|------------------------|------------------|-------------------------------|-------|----------------------|--|--|----|--------------------------------------|---|--|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность форм, % | N-CH ₃ | C ² H ^{1*} | | | | |
| C ¹² Cl ₃ | 0,09 | +25 | 2 | I | 90 | 2,91; 3,13; 3,22 | 3,89(10,8); 4,90(10,9); 4,90(10,9); 5,04(9,1); 5,16(5,1); 5,62(4,1) 2* | | | | |
| | | | | | | | | II | 40 | 3,05; 3,07; 3,21 2,92; 3,11; 3,20 | — |
| | | | | | | | | | | | |
| CD ₃ CN | 0,05 | +25 | 2 | I | 70 | 2,89; 3,01; 3,16 2,91; 2,94; 3,04 | 3,95(10,9); 4,78(10,8); 4,78(10,8); 4,79(8,8); 5,35(4,6); 5,46(4,3) | | | | |
| | | | | | | | | II | 30 | 2,97; 2,97; 3,16 | 3,82(10,8); 4,03(11,2) 4,80(11,2); 5,02(4,3); 5,57(6,6); 5,58(8,6) |
| | | | | | | | | | | | |
| CD ₃ CN | 0,05 | -110 | 2 | I | 70 | 2,89; 3,01; 3,16 2,91; 2,94; 3,04 | 3,95(10,9); 4,78(10,8); 4,78(10,8); 4,79(8,8); 5,35(4,6); 5,46(4,3) | | | | |
| | | | | | | | | II | 30 | 2,97; 2,97; 3,16 | 3,82(10,8); 4,03(11,2) 4,80(11,2); 5,02(4,3); 5,57(6,6); 5,58(8,6) |
| — | — | — | | | | | | | | | |
| | | | CD ₃ CN | 0,05 | +95 | 2 | I | 70 | 2,89; 3,01; 3,16 2,91; 2,94; 3,04 | 3,95(10,9); 4,78(10,8); 4,78(10,8); 4,79(8,8); 5,35(4,6); 5,46(4,3) | |
| II | 30 | 2,97; 2,97; 3,16 | | | | | | | | | 3,82(10,8); 4,03(11,2) 4,80(11,2); 5,02(4,3); 5,57(6,6); 5,58(8,6) |
| | | | — | — | — | | | | | | |

1*, ** См. Примечания к табл. 1.

Параметры спектров ^{13}C -ЯМР соединения (IX)

| Растворитель | Концентрация (IX), М | °С | Медленно конвертируемые формы | | | N-CH ₃ | С ² H ^{1*} | | | | | |
|---------------------|----------------------|------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------------|---|---|---------------------|------------------|--|---|---|
| | | | Общее число | Номер | Населенность формы, % ^{3*} | | | | | | | |
| CDCl ₃ | 0,08 | +25 | 4 | I II-IV | >50% — | 3,01; 3,03; 3,27 { 2,82; 2,95; 3,06; 2,85; 3,15; 3,21; 3,23; 3,24 | $\left\{ \begin{array}{l} 4,16(9,4); 4,43(10,3); 4,2- \\ -4,4; 4,71(10,6); 4,90(11,9); \\ 5,01(10,7); 5,03(7,1); 4,9- \\ -5,7; 3,7-4,1 \end{array} \right.$ | | | | | |
| | | | | | | | | 5 | I II III-V | — — — | 3,05 (широкий) 3,02; 3,04; 3,05 2,90; 2,97 ^{2*} 2,73; 2,78; 2,80; 2,84; 2,91 ^{2*} | $\left\{ \begin{array}{l} 4,12(9,3); 3,9-4,3; \\ 4,91(10,4); 4,93(6,5); \\ 5,26(11,0); 5,56(5,6); \\ 4,6-5,9 \end{array} \right.$ |
| | | | | | | | | | | | | |
| CD ₂ CN | 0,05 | +25 | 4 | I | 60 | 2,92; 3,00; 3,23 | 4,0 ⁰ (10,5); 4,16(9,7); 4,35(10,9); 4,4-5,5 | | | | | |
| | | | | | | | | II III III+IV | 25 5 15 | 2,69; 2,92; 3,02 2,77 ^{2*} 2,90; 2,96; 3,13; 3,03-3,20 | — — — | |
| | | | | | | | | | | | | II III III+IV |
| CD ₂ CN | 0,05 | +95 | 4 | I | 60 | 2,92; 3,00; 3,23 | 4,0 ⁰ (10,5); 4,16(9,7); 4,35(10,9); 4,4-5,5 | | | | | |
| | | | | | | | | II III III+IV | 25 5 15 | 2,69; 2,92; 3,02 2,77 ^{2*} 2,90; 2,96; 3,13; 3,03-3,20 | — — — | |
| II III III+IV | — — — | 3,02; 3,05; 3,08 | — — — | | | | | | | | | |

1^{1*} 2^{2*} 3^{3*} См. примечания к табл. 4.4^{4*} Сигналы N-CH₃ уширены, возможно перекрытие сигналов нескольких форм.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединений (X)

| Растворитель | Концентрация (X), M | °C | Медленно конвертируемые формы | | | δ, м.д. (ν/С ¹³ H—С ¹³ H. Гц) | |
|--|---------------------|------|-------------------------------|------------------|-----------------------|---|---|
| | | | Общее число | Номер | Населенность формы, % | N—CH ₃ | С ² H ^{1*} |
| CDCl ₃ | 0,09 | +25 | 2 | I | 50 | 2,95; 3,16; 3,20 | 4,99(10,7); 5,15(7,0); 5,26(6,7); 5,27(8,7); 5,29(7,8); 5,48(7,9) |
| | | | | | | | |
| CD ₃ C ₆ D ₅ — CS ₂ , 1:2 | 0,04 | +25 | 2 | I | 60 | 2,75; 2,93; 3,03 | — |
| | | | | II | 40 | 2,81; 2,91; 3,07 | |
| | —95 | I | 60 | 2,61; 2,72; 2,98 | — | | |
| | | II | 40 | 2,66; 2,72; 2,80 | | | |
| CD ₃ C ₆ D ₅ | 0,07 | +25 | 2 | I | 60 | 2,80; 2,83; 3,10 | — |
| | | | | II | 40 | 2,90; 2,95; 3,09 | |
| CD ₃ CN | 0,04 | +110 | 2 | I | 60 | 2,92; 2,97; 3,09 | — |
| | | | | | | | |
| CD ₃ CN+ 3 г-экв. RbNCS | 0,04 | +25 | 2 | I | 60 | 2,79; 3,08; 3,18 | 4,32(10,3); 4,55(9,2); 4,83(9,5); 4,92(8,4); 5,04(7,2); 5,35(8,0) |
| | | | | | | | |
| CD ₃ OD | 0,13 | +25 | 1 | I | 100 | 3,16; 3,19; 3,19 | 4,21(9,8); 4,31(9,4); 4,86(10,3); 4,97(8,6); 5,04(5,6); 5,23(9,4) |
| | | | | | | | |
| CD ₃ OD+ 1 г-экв. RNCS | 0,13 | +25 | 1 | I | 100 | 3,19; 3,24; 3,26 | 4,23(10,3); 4,54(2,5); 4,6—4,8; 4,99(10,7); 5,40(5,4) |

* См. примечание к табл. 1.

Параметры спектров ¹H-ЯМР соединения (XI)

| Растворитель | Концентрация (X), М | °С | Медленно конвертируемые формы | | | δ, м.д. (¹ JС ² Н-С ³ Н, Гц) | | | | | | | | |
|--------------------|---------------------|-----|-------------------------------|-------------|-------------------------------------|--|--|---|----|----------|---|---|---|---|
| | | | Общее число | Номер | Насыщенность формы, % ^{3*} | N-CH ₃ | С ² Н ^{1*} | | | | | | | |
| CDCl ₃ | 0,09 | +22 | 3 | I II+III | 50 | 2,77; 3,05; 3,08 | 3,77(10,7); 4,29(10,0); 4,99(11,3); 5,09(5,8); 5,37(9,4); 5,59(6,9) | | | | | | | |
| | | | | | | | | — | 50 | 2,9—3,4* | — | | | |
| | | | | | | | | | | | | I | — | — |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| CD ₃ CN | 0,06 | +25 | 3 | I II+III | 55 45 | 2,67; 3,02; 3,02 2,94; 3,12; 3,20 ^{2*} | 3,82(11,0); 4,21(10,8); 4,81(11,3); 4,99(4,8); 5,25(7,0); 4,47(11,3); 4,64(11,5); 5,41(8,7); 5,63(6,6) | | | | | | | |
| | | | | | | | | — | — | — | | | | |
| | | | | | | | | | | | — | — | — | |
| | | +90 | | | | 3,03; 3,03; 3,11 | | | | | | | | |

^{1*}, ^{2*}, ^{3*} См. примечания к табл. 1.

^{4*} Сигналы этих форм при данной температуре коллессируют, образуя широкий псевдотетраплет, над которым видны сигналы формы I.

Параметры спектров ^1H -ЯМР соединения (XII)

| Растворитель | Концентрация (XII), М | $^{\circ}\text{C}$ | Число медленно конвертируемых форм | δ , м.д. ($^{\circ}\text{J}_{\text{C}^{\alpha}\text{H}-\text{C}^{\beta}\text{H}}$, Гц) | |
|-----------------|-----------------------|--------------------|------------------------------------|---|-------------------------------|
| | | | | $\text{N}-\text{CH}_3$ | $\text{C}^{\alpha}\text{H}^*$ |
| CDCl_3 | 0,06 | +25 | 1 | 3,10 | 4,96(6,0); 5,08(10,5) |
| | | +60 | 1 | 3,09 | 4,99(5,8); 5,07(10,6) |
| | | -60 | 1 | 3,11 | 4,90(~6); 5,11(~8) |

* См. примечания к табл. 1.

ных растворителях (CD_3CN , CD_3COCD_3 , $\text{CD}_3\text{COCD}_3 - \text{D}_2\text{O}$ или CD_3OD). Для всех соединений (в основном в неполярных средах) спектры снимали в широком интервале температур. Полученные результаты собраны в табл. 1—11 и частично представлены на рис. 4—9. В спектрах ^1H -ЯМР исследованных соединений можно выделить четыре основные группы сигналов: сигналы от CH_3 -групп боковых цепей (0,60—1,40 м.д.), C^{β} -протонов (2,10—2,35 м.д.), $\text{N}-\text{CH}_3$ -групп метилвалиновых остатков (2,70—3,30 м.д.) и сигналы $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ amino- и оксикислотных остатков (3,3—5,9 м.д.). Поскольку без изотопных замещений, только на основании химических сдвигов, отнести сигналы $\text{C}^{\alpha}\text{H}$ -протонов к amino- или оксикислотным остаткам не представляется возможным, наибольшая информация была получена из рассмотрения области N -метильных сигналов.

Анализ спектров, снятых при комнатной температуре (табл. 1—11, область сигналов $\text{N}-\text{CH}_3$; см. также рис. 4), показывает, что для всех исследованных соединений (кроме соединения (XII)) число наблюдаемых сигналов превышает ожидаемое на основании структурных формул при условии реализации только одного конформера или быстрого (в шкале частот метода ЯМР) равновесия нескольких конформеров. Такая спектральная картина свидетельствует об одновременном существовании нескольких конформеров, находящихся в медленном равновесии. В спектрах большинства соединений сигналы значительно перекрываются, и поэтому приведенные в табл. 1—11 отнесения являются хотя и наиболее вероятными, но не единственными возможными.

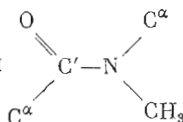
Как и следовало ожидать, повышение температуры, вызывающее возрастание скорости конформационных переходов и уменьшение времени жизни каждого конформационного состояния, приводит во всех случаях к упрощению спектров ЯМР. На рис. 5 представлена картина слияния N -метильных сигналов циклодепептида (X) в растворе дейтеротолуола. При температуре $\sim 30^{\circ}$ наблюдается слияние двух N -метильных сигналов, расположенных в области более слабого поля, затем при $\sim 40^{\circ}$ происходит слияние двух сильнополярных сигналов, при 50° наблюдается уширение и при 55° — полное слияние третьей пары сигналов. Дальнейшее повышение температуры приводит к сужению сигналов в спектре, и при 112° наблюдаются три узких сигнала. Понижение температуры растворов сопровождается усложнением спектров (см., например, рис. 6, 7), причем их анализ указывает на присутствие нескольких температур коалесценции (t_K) (см. табл. 12). Обращает на себя внимание исключительно широкий интервал значений t_K (от -105 до $+90^{\circ}$) в спектрах соединений (II) — (XI). В этом отношении исследованная серия не имеет аналогии в химии пептидов.

Описанная картина свидетельствует о сложном характере конформационного равновесия в соединениях (II)—(XI). Значения t_K в интервале

Число конформеров и температуры коалесценции сигналов N-метиламидных групп в спектрах ^1H -ЯМР соединений (II)–(XII)

| Соединение | Растворитель | Максимально наблюдаемое число конформационных форм | Температура коалесценции (t_K), °C |
|------------|--|--|---|
| (II) | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CF}_2\text{Cl}_2$, 1:3 | 2 | 25 |
| | CDCl_3 | 2 | 25 |
| | $\text{CD}_3\text{CN} - \text{CDCl}_3$, 1:1 | 2 | — |
| (III) | CDCl_3 | 4 | — |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5$ | 4 | — |
| | CD_3CN | 4 | 40, 70, 90 |
| (IV) | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CF}_2\text{Cl}_2$, 1:4 | 4 | -105, -26, 10 |
| | $(\text{CD}_3)_2\text{CO} - \text{D}_2\text{O}$, 1:1 | 2 | — |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5$ | 2 | 80 |
| (V) | CDCl_3 | 3 | — |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CS}_2$, 1:2 | 3 | В интервале $-85 \div +20$ коалесценции не наблюдается |
| | CD_3CN | 4 | 50, 80 |
| (VI) | CDCl_3 | 2 | 50 |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CF}_2\text{Cl}_2$ | 1 | — |
| | $(\text{CD}_3)_2\text{CO} - \text{D}_2\text{O}$, 4:1 | 2 | — |
| (VII) | CDCl_3 | 3 | — |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CS}_2$, 1:2 | 3 | В интервале $-90 \div +20$ коалесценции не наблюдается |
| | CD_3CN | 3–4 | 5, 20, 80 |
| (VIII) | CDCl_3 | 2 | 60 |
| | $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CF}_2\text{Cl}_2$, 1:2:6 | 2 | В интервале $-130 \div +20$ коалесценции не наблюдается |
| | CD_3CN | 2 | 70 |
| (IX) | CDCl_3 | 4 | — |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5$ | 5 | -92, -40, 0, 60 |
| | CD_3CN | 4 | — |
| (X) | CDCl_3 | 2 | — |
| | $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5$ | 2 | 55–60 |
| | CD_3OD | 2 | — |
| | CD_3CN | 2 | В интервале $-70 \div +20$ коалесценции не наблюдается |
| (XI) | CDCl_3 | 3–4 | -70, 20, 75 |
| | CD_3CN | 2–3 | 60 |
| (XII) | CDCl_3 | 1 | — |
| | $\text{CDCl}_3 - (\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 1:1 | 1 | — |

$\sim 50-90^\circ$ говорят о достаточно высоком активационном барьере, величину которого нельзя объяснить только затрудненным вращением вокруг одинарных связей $\text{N}-\text{C}^\alpha$ и $\text{C}^\alpha-\text{C}'$; их следует отнести к вращению вокруг

связей  , т. е. к *цис-транс*-изомерии амидных связей.

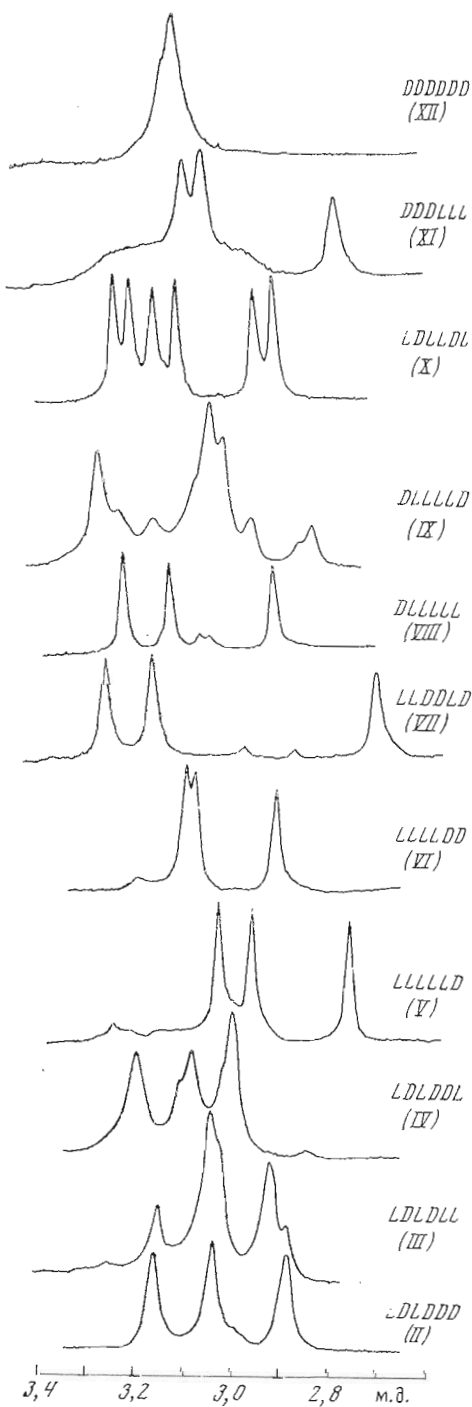


Рис. 4

Рис. 4. Спектры ^1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп) соединений (II) — (XII) в CDCl_3 при 25°

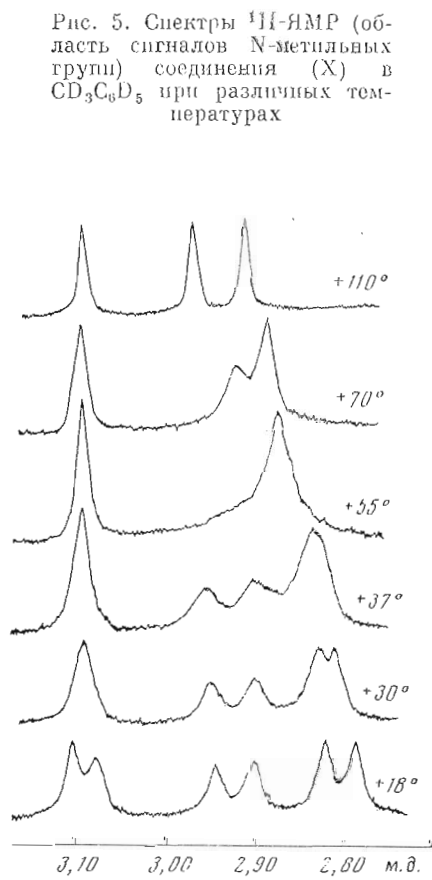


Рис. 5

Рис. 5. Спектры ^1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп) соединения (X) в $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5$ при различных температурах

Низкие значения $t_{\text{к}}$ ($-90 \div -40^\circ$ для соединений (IV), (IX) и (XI)) или изменение химических сдвигов сигналов N-CH₃ и их значительное уширение при охлаждении растворов до $-110 \div -120^\circ$ указывают на конформационные равновесия с низкими энергетическими барьерами. По аналогии с энниатином В, у которого в неполярных средах коалесценция N-метильных сигналов наблюдалась при -90° , мы связываем это равно-

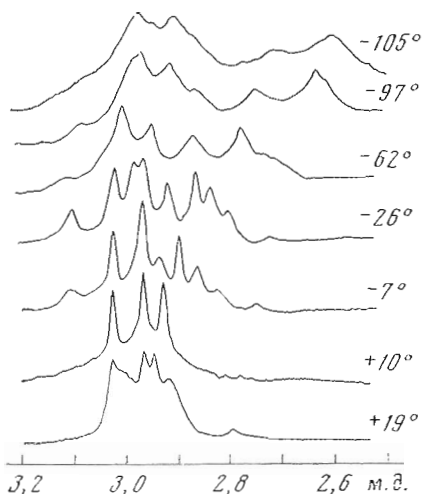


Рис. 6

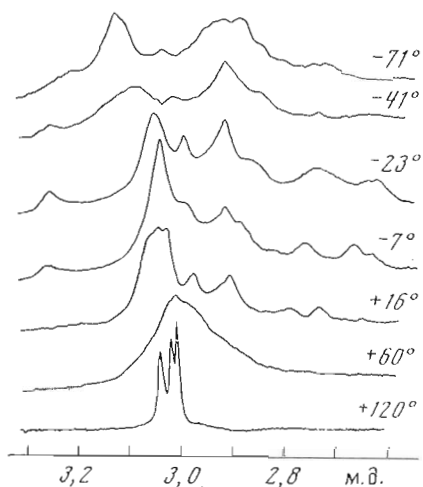


Рис. 7

Рис. 6. Спектры ^1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп) соединения (IV) в смеси $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5 - \text{CF}_2\text{Cl}_2$ (1 : 3,5) при различных температурах

Рис. 7. Спектры ^1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп) соединения (IX) в $\text{CD}_3\text{C}_6\text{D}_5$ при различных температурах

весие с поворотной изомерией по связям $\text{N}-\text{C}^\alpha$, $\text{O}-\text{C}^\alpha$ и $\text{C}^\alpha-\text{C}'$. Что касается промежуточных значений температур коалесценции $-40^\circ < t_k < 50^\circ$, то, по-видимому, их следует отнести к равновесию форм, различающихся конфигурацией сложноэфирных связей, поскольку барьер *цис-транс*-перехода у сложных эфиров (6—10 ккал/моль [10—12]) меньше, чем у третичных амидов [13—14], и выше, чем у остальных связей депептидной цепи. Присутствие *цис*-сложноэфирных связей в макроциклических системах, содержащих 18 атомов в цикле, до настоящего времени не было обнаружено, хотя Гудман и сотрудники предположили их реализацию у одного из аналогов эниантила В [15]. Необходимо также учитывать, что в стерически затрудненных системах, в том числе и у соединений (II) — (XI), могут наблюдаться повышенные барьеры вращения вокруг связей $\text{N}-\text{C}^\alpha$ и $\text{C}^\alpha-\text{C}'$ и соответственно повышенные температуры коалесценции, как было обнаружено Блаутом и согр. [16] для *цикло*-(L-Pro-Gly)₂-, ($t_k = -15^\circ$). Поэтому нельзя исключить возможность отнесения по крайней мере части упомянутых выше промежуточных значений t_k к конформационным переходам, связанным с затрудненным вращением N-метиламидных группировок, а не с *цис-транс*-изомерией сложноэфирных групп.

Как видно из табл. 1—10, переход от хлороформа, толуола или других неполярных сред к более полярным растворителям приводит к небольшому изменению относительного содержания медленно конвертирующих форм, а иногда и к изменению числа таких форм. Подробнее других в этом отношении изучен аналог (IV). На рис. 8 показан постепенный переход от дейтерохлороформа к смеси дейтероацетон — тяжелая вода (1 : 1). В хлороформе присутствуют два основных конформера (I и II) с соотношением населенностей $\sim 65 : 30$ и заметна еще форма III ($\sim 5\%$)*. При переходе к смесям дейтерохлороформ — дейтероацетон и затем к дейтероацетону содержание форм I и II несколько выравнивается и появляются сигналы формы IV. Добавление воды вновь приводит к высокому ($\sim 80\%$) содержанию формы I; населенность форм III и IV сохраняется на уровне 5%.

* Измерение интенсивностей проведено при $+5^\circ$, где наблюдается более четкое разделение сигналов.

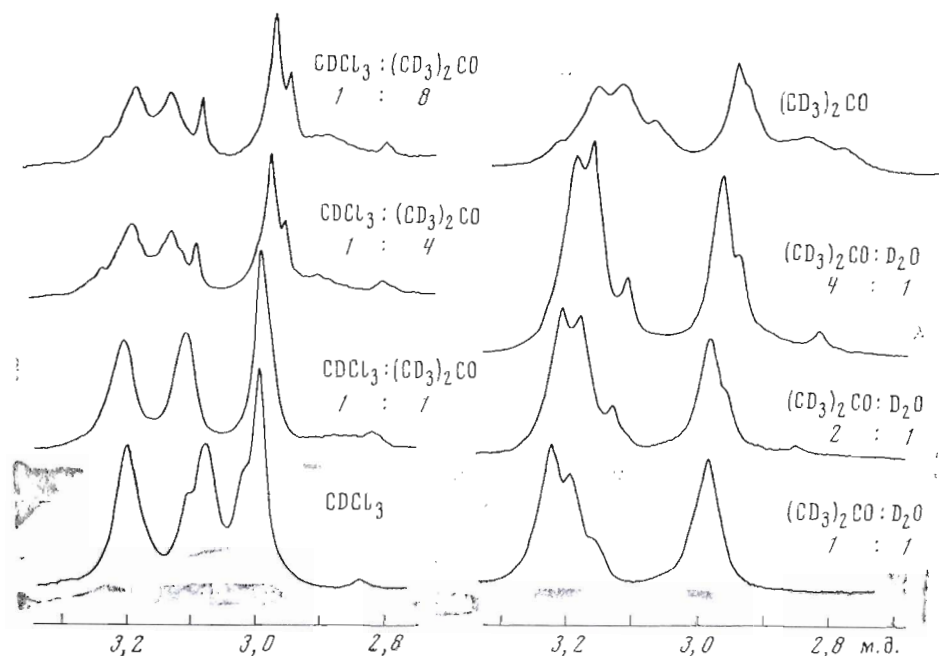


Рис. 8. Спектры ^1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп) соединения (IV) в различных растворителях

Таким образом, даже при сильном изменении полярности растворителя не происходит резкого перераспределения населенностей конформеров, различающихся конфигурациями амидных связей. Сходные результаты получены и для других аналогов (см. табл. 1—10). Поэтому значительные изменения кривых ДОВ, наблюдающиеся при смене растворителя у аналогов (II) и (IV), по-видимому, связаны с поворотами вокруг связей $\text{N}-\text{C}^\alpha$, $\text{O}-\text{C}^\alpha$ и $\text{C}^\alpha-\text{C}'$, как это имеет место при $N \rightleftharpoons P$ -переходе в энниатине В [8].

Для проверки предположения об участии в конформационном равновесии пространственных форм с *цис*- и *транс*-конfigurацией метиламидных групп мы использовали способность β -дикетонатов европия по-разному смещать сигналы N-метиламидных групп в спектрах ЯМР в зависимости от конфигурации этой группы [17], а также способность соединений гадолиния уширять в первую очередь сигналы N-метильных протонов *цис*-N-метиламидных групп [18].

В качестве «сдвигового» реагента использовался дипivaloилметанат европия — $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$. В предварительных опытах было показано, что в соединениях с заведомыми *транс*-метиламидными группами — энниатине В (I) и *Z-D-Ala-D-MeAla-OMe* [19] — изменения химических сдвигов ($\Delta\delta$) сигналов N-метильных протонов составляют 1,5—2,0 м. д. в пересчете на соотношение одна молекула $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$ на одну метиламидную группу*, т. е. такие, какие ожидались на основании работы [17]; значительно большие значения $\Delta\delta$ наблюдались для депептидов с *цис*-метиламидными группами (см. табл. 13).

Аналогичным методом в настоящей работе были изучены соединения (II), (VIII), (X) и (XII). Выяснилось, что для соединений, имеющих высо-

* В работе [19] было показано, что сложноэфирные карбонилы образуют значительно менее устойчивые комплексы с $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$, чем N-метиламидные. Поэтому величины псевдоконтактных сдвигов, обсуждаемые в работе ($\Delta\delta$, м. д.), были получены экстраполяцией экспериментальных данных к соотношению одна молекула $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$ на одну амидную группу.

Псевдоконтактные сдвиги $\Delta\delta$ (м. д.) сигналов N-метиламидных групп циклодецепептидов в CDCl_3 , вычисленные при экстраполяции экспериментальных данных к соотношению 1 моль $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$ на каждую амидную группу

| Соединение | $\Delta\delta$, м. д. | Количество N-метиламидных групп | |
|--|---|---------------------------------|------|
| | | транс- | цис- |
| цикло (-L-MeVal-D-HyIv-) | 9,2 | — | 1 |
| цикло (-D-MeVal-D-HyIv-) | 9,3 | — | 1 |
| цикло (-L-Val-Sar-) | 14,0 | — | 2 |
| цикло [(-L-MeLeu-D-HyIv-) ₂] | 12,0 | — | 2 |
| цикло (-L-MeLeu-D-HyIv-L-Melle-D-HyIv-) | 10,2; 9,9 | — | 2 |
| цикло [(-MeVal-HyIv-) ₃] | | | |
| LDLDDL (I) | 1,9 | 3 | — |
| LDLDDD (II) | Форма I: 4,1; 0,5; 1,0 Форма II: не выше 4,0* | 3 | — |
| DLLLLL (VIII) | Форма I: 7,3; 5,3; 1,2 Форма II: 1,2; —*; —* | 2—1 | 1—2 |
| LDLDDL (X) | Форма I: 1,8; 0,8; 0,7 Форма II: 1,8,3; 1,7; 4,3 | 3 | — |
| DDDDDD (XII) | 0,1 | 3 | — |

* Точно определить величину $\Delta\delta$ не удалось из-за сильного перекрытия сигналов.

кие температуры коалесценции — (VIII) и (X), — характерно присутствие пространственных форм с *цис*-метиламидными связями, в то время как обе формы соединения (II), различающиеся, по всей вероятности, конфигурацией сложноэфирных связей ($t_{\text{к}} 25^\circ$), содержат только *транс*-метиламидные группы (табл. 13). Практически нулевое смещение сигналов от протонов N-метиламидных групп соединения (XII) при добавлении $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$ следует расценивать как веский аргумент в пользу *транс*-конфигурации этих групп в рассматриваемом соединении. Полученные отнесения конфигураций амидных групп в пространственных формах соединений (II), (VIII), (X) и (XII) были подтверждены при изучении влияния «уширяющего» реагента — дипивалоилметаната гадолиния $(\text{ДПМ})_3\text{Gd}$ — на параметры спектров ^1H -ЯМР этих соединений. При добавлении $(\text{ДПМ})_3\text{Gd}$ к растворам циклодецепептидов в первую очередь уширялись сигналы тех N-метильных протонов (см., например, рис. 9), которые испытывали значительный сдвиг под влиянием $(\text{ДПМ})_3\text{Eu}$. Применение «уширяющего» реагента позволило подтвердить *транс*-конфигурацию метиламидных групп в соединении (XII).

Таким образом, изученные диастереомеры (I) — (XII) чрезвычайно сильно отличаются друг от друга по своим конформационным возможностям. Из них наиболее конформационно «чистыми» являются соединения (I) и (XII) с *C*₃-симметричными формами, содержащие во всех условиях только *транс*-амидные и *транс*-сложноэфирные связи. При этом депептид (XII) имеет жестко фиксированную пространственную структуру, не зависящую от природы растворителя, в то время как у соединения (I) наблюдается относительно свободное вращение плоскостей амидных и сложноэфирных групп вокруг одиночных связей N—C α , O—C α и C α —C. У несимметричных диастереомеров (II) — (XI) конформационное равновесие осложняется присутствием значительных количеств (вплоть до 50% у соединения (X)) форм с *цис*-конфигурацией амидных и (или) сложноэфир-

ных связей. Расчет поворотных углов Φ и ψ у «полностью *транс*-конформеров» соединений (I) — (XII) приведен Поповым и Плетневым [20, 21]; для анализа пространственной структуры «*цис*-содержащих» конформеров необходимы дальнейшие исследования. При этом важным критерием правильности полученных результатов должно послужить сопоставление дипольных моментов, рассчитанных для отдельных конформеров, с экспериментально найденными значениями дипольных моментов соединений (II) — (XI) (табл. 14); для эниатина В (I) и аналога (XII) такое сопоставление было проведено ранее [20, 21].

Следующей задачей работы, имеющей непосредственное отношение к пониманию биологических свойств соединений (II) — (XII), было исследование структуры и устойчивости их комплексов с ионами щелочных металлов.

Взаимодействие соединений (II) — (XII) с ионами щелочных металлов исследовалось при 25° в абсолютном этаноле кондуктометрическим методом и в 96% водном этаноле — спектрополяриметрическим методом [7, 22]; часть кривых ДОВ и КД, на которых основывался расчет констант устойчивости комплексов, приведена на рис. 1—3, 10 и 11. Из полученных результатов (табл. 15) видно, что

любое искажение чередующегося *LDLDDL*-набора конфигураций, присущего эниатину В, сопровождается общим падением устойчивости комплексов без существенных изменений полной избирательности комплексообразования. Относительно более устойчивые комплексы дают аналоги (II) и (III), у которых затронута конфигурация только одного остатка. Причем, как следует из сходства кривых КД (см. рис. 10), комплексы этих соединений близки по своим конформациям комплексам эниатина В. Сопоставление аналогов (II) и (III) с эниатином В показывает, что изменение конфигурации остатка *D*-оксизовалериановой кислоты сильнее дестабилизирует структуру ком-

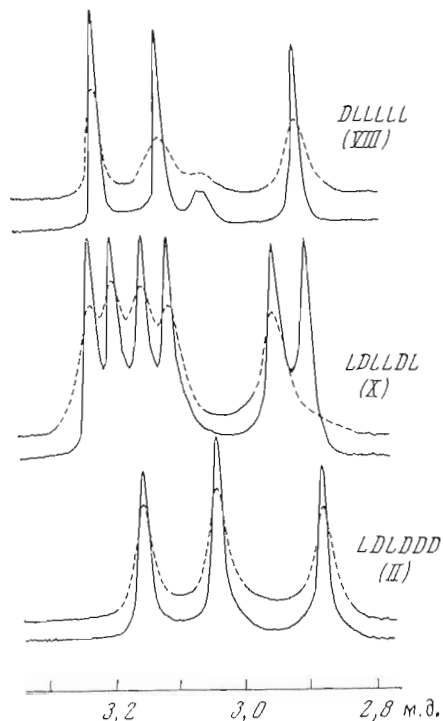


Рис. 9. Влияние $(\text{DPM})_3\text{Gd}$ на ширину сигналов N-метильных протонов в спектрах ^1H -ЯМР стереоизомерных аналогов (II), (X) и (VII). Сплошные линии — спектр в CDCl_3 , пунктир — после добавления $(\text{DPM})_3\text{Gd}$. Соотношение концентраций $(\text{DPM})_3\text{Gd}$ — циклодеспиентад 0,04 для аналога (X) и 0,02 для двух остальных

Таблица 14

Величина дипольных моментов (μ , Д) соединений (I)—(XII)

| Соединение | Дипольный момент | | Соединение | Дипольный момент | |
|------------|------------------|-------------------|------------|------------------|-------------------|
| | в CCl_4 | в CHCl_3 | | в CCl_4 | в CHCl_3 |
| (I) | 3,35 | — | (VII) | 5,22 | — |
| (II) | 4,31 | — | (VIII) | 5,46 | 4,37 |
| (III) | 5,38 | 4,94 | (IX) | — | 4,35 |
| (IV) | — | 5,59 | (X) | 4,50 | 3,98 |
| (V) | 2,69 | 4,25 | (XI) | 4,86 | 5,22 |
| (VI) | 5,16 | 4,59 | (XII) | — | 5,33 |

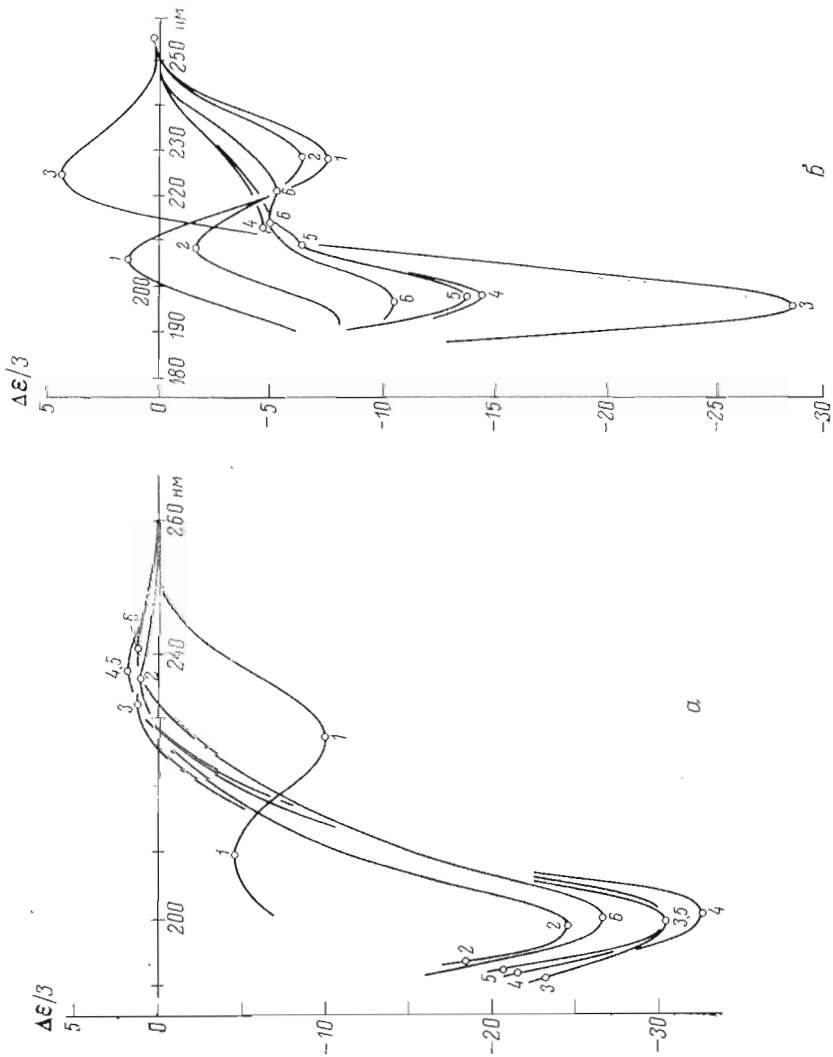
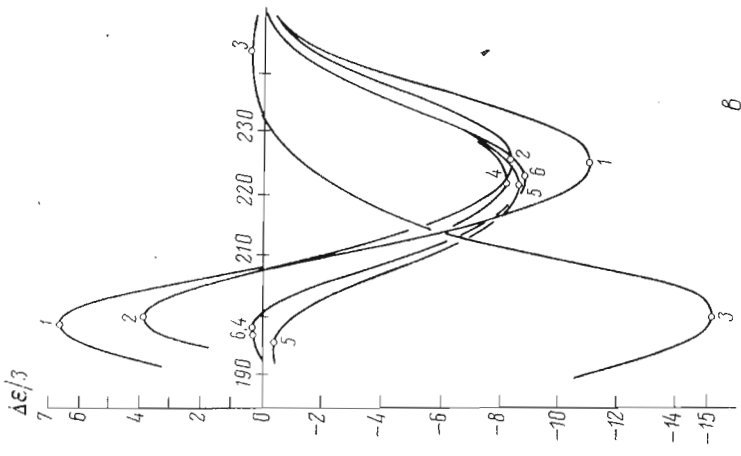
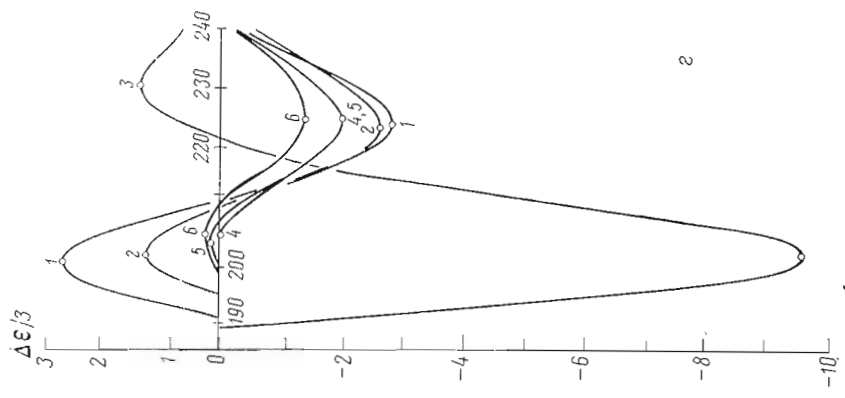
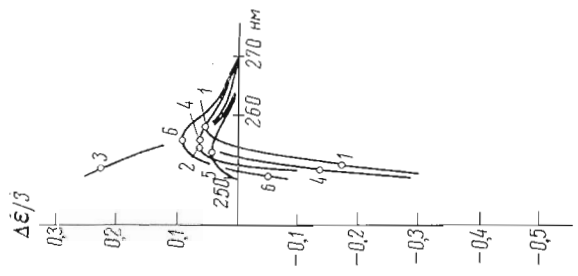


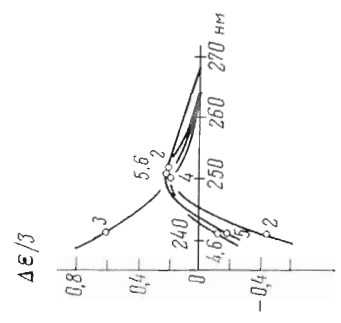
Рис. 10. Кривые КД энанти-
на В — а и соединений (II) —
б, (III) — в и (IV) — г в 96%
водном этаноле (кривые 1) и в
растворах солей в 96% вод-
ном этаноле: LiCl — 2, NaClO₄
— 3, KCl — 4, RbCl — 5,
CsCl — 6. Концентрации цик-
лодеспицитидов $c_0 = (3-6) \cdot$
 10^{-4} М; концентрации солей:
LiCl — $7,0 \cdot 10^{-2}$, NaClO₄ — 1,0,
KCl — $0,7 \cdot 10^{-2}$, RbCl — 1,3,
 $\cdot 10^{-2}$, CsCl — $1,7 \cdot 10^{-2}$ М



8



2



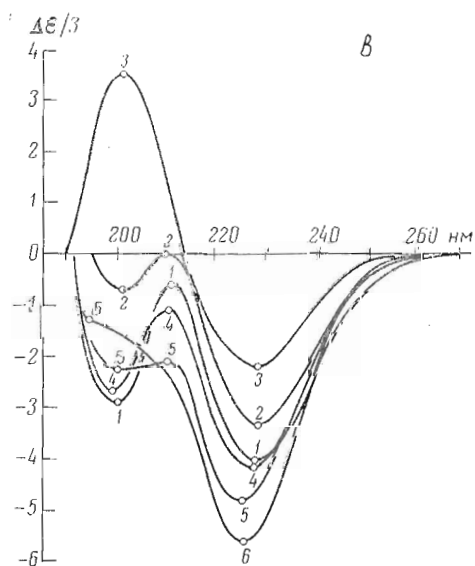
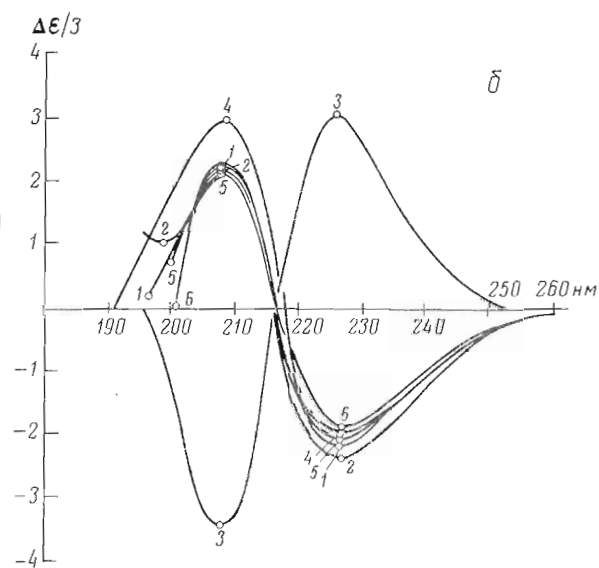
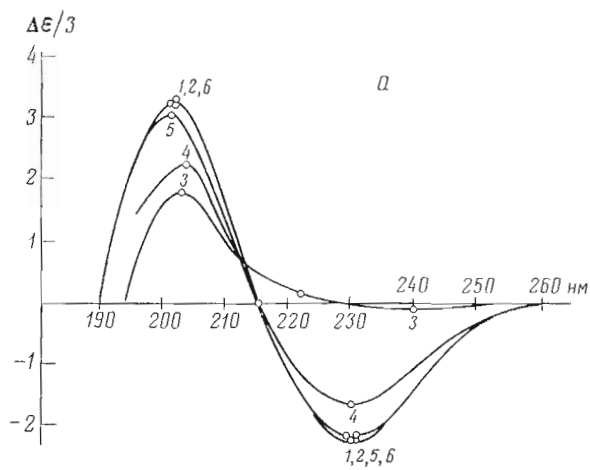


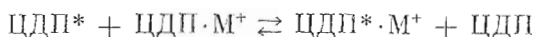
Рис. 11. Кривые КД соединений (VI) — а, (IX) — б и (X) — в в 96% водном этаноле и в растворах солей. Обозначения и условия съемки — см. подпись к рис. 10

плекса, чем аналогичное изменение *L*-*N*-метилвалинового остатка. Этот факт связан с особенностями потенциальных поверхностей окси- и аминокислотных фрагментов эниамина В (рис. 12). Действительно, при условии сохранения общей структуры комплекса и участия всех шести карбоксильных групп во взаимодействии с катионом обращение конфигурации *D*- α -оксиизовалериановой кислоты приводит к тому, что остаток *L*- α -оксиизовалериановой кислоты попадает в стерически запрещенную область конформационной карты (см. рис. 12г). В случае же аминокислотных фрагментов конформационные карты *L*- и *D*-энаптимеров весьма близки, чем и объясняется меньшая чувствительность комплексообразования к изменению их конфигурации. Комплексы диастереомеров (II) и (III) схематически изображены на рис. 13. В отличие от комплекса эниамина В в комплексах этих соединений одна из изопропильных групп имеет псевдоаксиальную ориентацию.

Как и следовало ожидать, обращение конфигурации сразу у двух соседних остатков (соединение (IV)) еще сильнее понижает способность образовывать специфические комплексы (табл. 15), хотя комплекс еще и сохраняет конформацию, характерную для комплекса эниамина В (ср. рис. 10а и 10г).

При более значительных изменениях последовательностей конфигураций по сравнению с эниатином В (соединения (V) — (XI)) способность к комплексообразованию падает настолько, что с помощью спектрополяриметрического метода или кондуктометрии можно лишь зафиксировать образование комплекса и ориентировочно оценить константу устойчивости (см. табл. 15). Соединение (XII) вообще не обнаруживает признаков комплексообразования. Наблюдаемые кривые ДОВ (КД) соединений (I), (III), (V) и (VII) в растворах 1 М NaClO₄ (рис. 1—3, 10 и 11) согласуются с конформацией типа *P* соответствующих комплексов, хотя и не исключают возможности реализации иных конформеров со сходной оптической активностью. В случае же соединений (VIII), (X) и (XI) комплексы имеют конформации, отличные от конформации комплексов природного антибиотика. Интересно, что у аналога (X) в отличие от остальных комплексообразующих соединений наблюдаются различные по знаку изменения кривых КД при образовании комплексов с Li⁺ и Na⁺, с одной стороны, и K⁺, Rb⁺ и Cs⁺ — с другой, указывающие на различия в конформациях соответствующих комплексов.

Комплексообразование соединения (II) с KNCS и (X) с RbNCS было изучено также методом ЯМР. В обоих случаях в спектрах не наблюдались отдельные сигналы от комплексов и соответствующих свободных форм циклодепептидов (ЦДП) (см. рис. 14а и 15а). Следовательно, взаимодействующие с ионами (M⁺) пространственные формы находятся в быстром равновесии (в шкале времени метода ЯМР) с комплексом



и комплексы имеют тот же набор конфигураций *N*-метиламидных групп, что и соответствующие свободные формы.

В соединении (II) по мере увеличения концентрации соли в растворе все сигналы *N*-метильных протонов доминирующей формы и два сигнала минорной формы смещаются в слабое поле (рис. 14а, б). Одновременно происходит уменьшение содержания минорной формы с 35% в чистом растворителе до нуля (с точностью до 5%) при соотношении концентраций [соль]/[макроцикл] (b_0/c_0) 1,75; интенсивность сигналов доминирующей формы при этом соответственно возрастает. Таким образом, обе медленно конвертирующие пространственные формы соединения (II) обладают способностью связывать катионы, однако предпочтительно катионы связываются доминирующей формой. Как видно из рис. 14б, экспериментальные кривые зависимости $\delta = f(b_0/c_0)$ сигналов *N*-метильных групп доминиру-

Антимикробная активность и константы устойчивости эквимолекулярных комплексов соединений (I) — (XII) с ионами щелочных металлов в абсолютном этаноле (кондуктометрические данные) и в 96% водном этаноле (спектрополлиметрические данные)

| Соединение | Минимальная концентрация, подавляющая рост <i>Mycobacterium phlei</i> , мкг/мл | Растворитель | Константа устойчивости ^{1*} (K, M ⁻¹) | | | | |
|----------------------------|--|------------------|--|---------------------------|--|----------------------------|---------------------------|
| | | | Катион | | | | |
| | | | Li ⁺ | Na ⁺ | K ⁺ | Rb ⁺ | Cs ⁺ |
| (I) LDLDLD (эниатион В) | 9—12 | EtOH 96% EtOH | <5 ¹⁾ ~50 ^{2*} | 1300 340 ^{2*} | 3700 2100 ^{2*} | 4000 3000 ^{2*} | 2200 740 ^{2*} |
| (II) LDLDOD | 9—12 | EtOH 96% EtOH | — 15 ^{3*} | 100 50 ^{2*} | 500 85 ^{3*} 400 ^{4*} | — 46 ^{3*} | — 22 ^{3*} |
| (III) LDLDLL | 18 | EtOH 96% EtOH | — 5 ^{3*} | <50 20 ^{2*} | <50 60 ^{3*} 100 ^{4*} | — 30 ^{3*} | — 20 ^{3*} |
| (IV) LDLDL | 18 | EtOH 96% EtOH | — 1,5 ^{5*} | <50 10 ^{2*} | 100 40 ^{3*} 150 ^{4*} | — 20 ^{3*} | — 25 ^{3*} |
| (V) LLLLLD | >50 | EtOH 96% EtOH | — — | <50 — | <50 15 ^{3*} | — — | — — |
| (VI) LLLLDD | 9—12 | EtOH 96% EtOH | — 1,5 ^{5*} | <50 <2 ^{2*} | <50 5 ^{3*} 100 ^{4*} | — <10 ^{5*} | — <10 ^{5*} |
| (VII) LLDDLD | >50 | EtOH 96% EtOH | — <5 ^{5*} | <50 — | <50 40 ^{3*} | — <20 ^{5*} | — <15 ^{5*} |
| (VIII) DLLLLL | >50 | EtOH 96% EtOH | — — | <50 — | <50 30 ^{3*} | — — | — — |
| (IX) DLLLLD | 9—18 | EtOH 96% EtOH | — <4 ^{5*} | <50 <10 ^{2*} | ~50 40 ^{3*} | — <15 ^{5*} | — <15 ^{5*} |
| (X) LDLLDL | 9—12 | EtOH 96% EtOH | — 7 ^{3*} | <50 25 ^{2*} | 100 50 ^{4*} | <50 60 ^{5*} | <50 — |
| (XI) DDDLLL | >50 | EtOH 96% EtOH | — — | <50 — | <50 45 ^{5*} | — — | — — |
| (XII) DDDDDD | — | EtOH 96% EtOH | — — | — — | — — | — — | — — |

^{1*} Первые из приведенных значений констант соответствуют комплексам в этаноле, вторые — в 96% этаноле.

^{2*} Константы рассчитаны по методу, указанному в работе [7].

^{3*} Ввиду низкой устойчивости комплекса и ограниченной растворимости соли достичь полного комплексообразования не удается. Константа устойчивости комплекса рассчитана при допущении идентичности кривой ДОВ (КД) 100% комплекса с данным катионом кривой этого соединения в 1 М растворе NaClO₄ (по аналогии с эниатином В, у которого кривые ДОВ/КД всех комплексов близки друг другу). Использовались следующие растворы солей в 96% водном этаноле: LiCl — 7,04·10⁻², KCl — 0,72·10⁻², RbCl — 1,28·10⁻², CsCl — 1,73·10⁻² М.

^{4*} Константа рассчитана приближенным методом, описанным в «Экспериментальной части».

^{5*} Изменение кривой ДОВ (КД) при переходе от 96% водного этанола к раствору соответствующей соли (см. примечание ^{2*}) не превышает ошибки измерения: [Ф] в области 230—240 нм — ± 1000 град·см⁻²·дмоль⁻¹, а в области 205—220 нм — ± 5000 град·см⁻²·дмоль⁻¹. Δε в области 230—240 нм — ± 0,5 моль⁻¹·л·см⁻¹, а в области 205—215 — ± 1,0 моль⁻¹·л·см⁻¹. Верхний предел константы устойчивости определен при допущении, принятом в примечании ^{2*} и с учетом возможных ошибок измерений.

^{6*} Титрование RbNCS в дейтероацетонитриле. Ход титрования контролировался по спектрам ЯМР. При расчете не учитывалась возможность образования комплексов (ЦДП)₂Rb⁺.

ющей формы проходят круче теоретических кривых образования эквимолекулярного комплекса с бесконечно большой константой устойчивости (на рис. 14, 15 обозначены тонкими линиями). Подобный ход кривой зависимости δ от соотношения b₀/c₀ может быть обусловлен двумя факторами: во-первых, образованием неэквимолекулярных комплексов со сте-

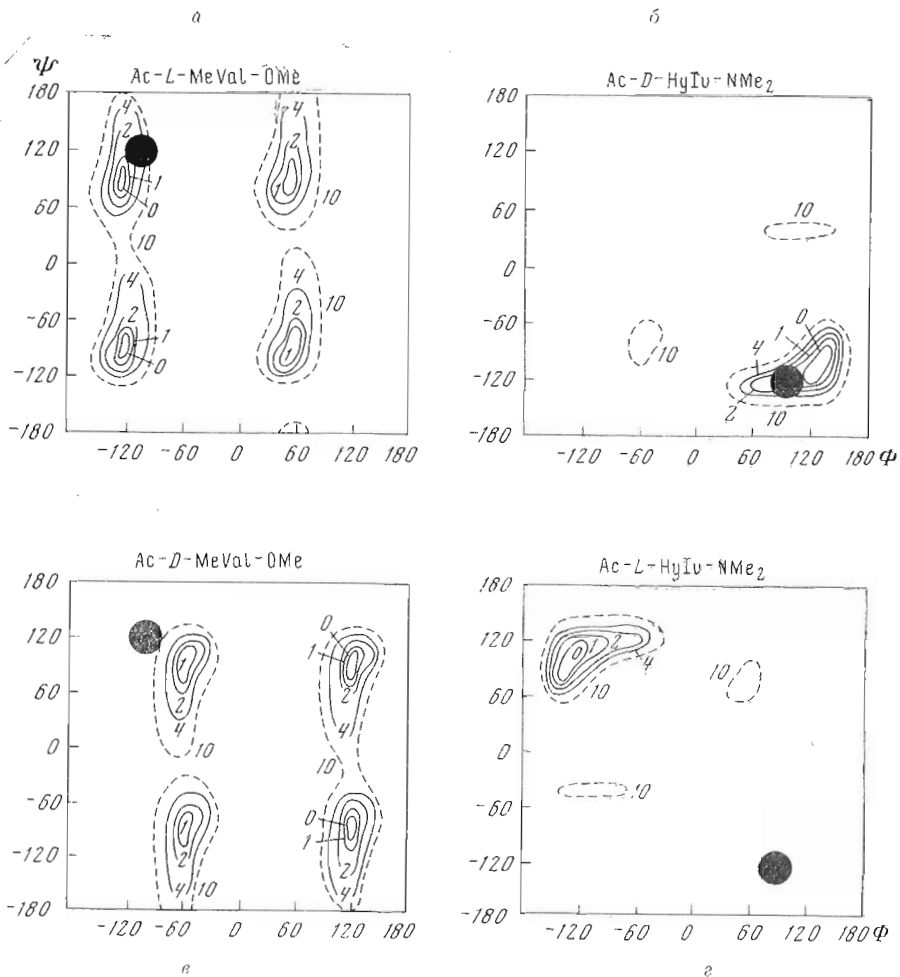
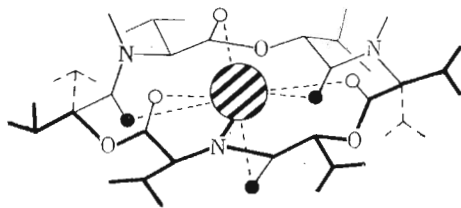


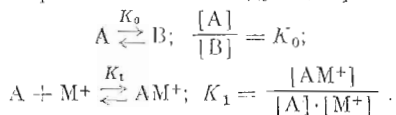
Рис. 12. Конформационные карты энантимерных фрагментов энциалина В. Положение кружков отвечает параметрам Φ и ψ энциалиновых комплексов

Рис. 13. Схематическое изображение K^+ -комплексов энциалина В и его диастеромеров (II) и (III). Пунктирными линиями показана ориентация изопропильных групп в остатках с измененной конфигурацией асимметрического атома



хиометрией ЦДП: $M^+ > 1:1$ и, во-вторых, присутствием в растворе заряду с хорошо комплексирующей пространственной структурой плохо комплексирующей мипорной формы *. Немонотонный характер зависимости

* Если в растворе присутствуют комплексирующая и некомплексирующая пространственные формы (назовем их формы А и В соответственно), в присутствии комплексируемых катионов в растворе имеют место следующие равновесные процессы:



При этом аналитическая концентрация циклодесипнептида (c_0) равна

$$c_0 = [A] + [B] + [AM^+].$$

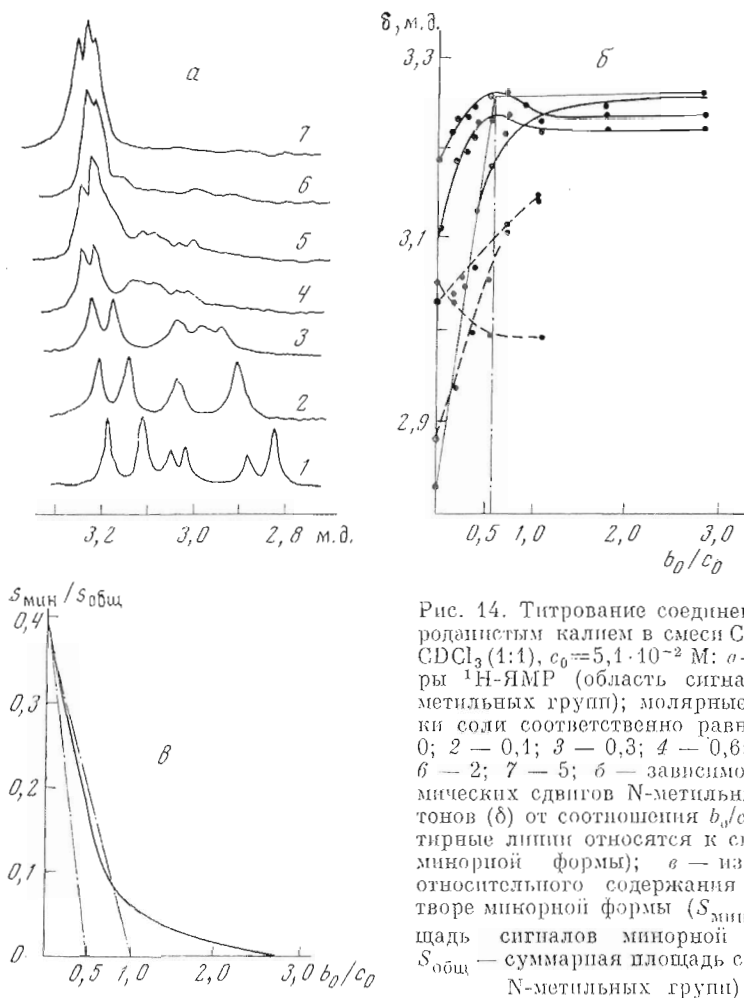
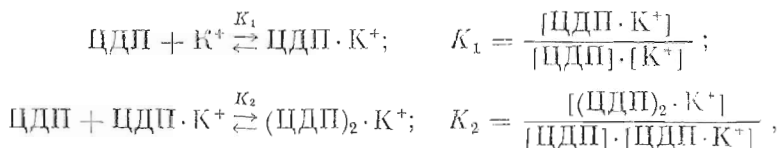


Рис. 14. Титрование соединения (II) роданистым калием в смеси $\text{CD}_3\text{CN} - \text{CDCl}_3$ (1:1), $c_0 = 5,1 \cdot 10^{-2}$ M: а — спектры ^1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп); молярные избытки соли соответственно равны: 1 — 0; 2 — 0,1; 3 — 0,3; 4 — 0,6; 5 — 1; 6 — 2; 7 — 5; б — зависимость химических сдвигов N-метильных протонов (δ) от соотношения b_0/c_0 (пунктирные линии относятся к сигналам минорной формы); в — изменение относительного содержания в растворе минорной формы ($S_{\text{мин}}$ — площадь сигналов минорной формы, $S_{\text{общ}}$ — суммарная площадь сигналов N-метильных групп).

изменения химических сдвигов двух сигналов N-метильных групп доминирующей формы дает основания предположить, что преобладающим фактором является первый из перечисленных. Поскольку экстремальные точки на кривых зависимости $\delta = f(b_0/c_0)$ лежат вблизи соотношения $b_0/c_0 \sim \sim 0,5$, следует ожидать, что в растворе имеют место равновесия



в результате которых, как и в случае природных антибиотиков, образуются двойные («сэндвич») комплексы.

В случае быстрого равновесия комплекс свободная форма наблюдаемый химический сдвиг формы А ($\delta_{\text{набл}}$) будет определяться выражением

$$\delta_{\text{набл}} = \delta_0 \frac{[A]}{c_0 - [B]} + \delta_K \frac{[AM^+]}{c_0 - [B]},$$

где δ_0 и δ_K — значения химических сдвигов свободной формы А и ее комплекса. Как следует из приведенного уравнения, в рассматриваемом случае кривая зависимости $\delta_{\text{набл}} = f(b_0/c_0)$ должна проходить круче, чем в случае реализации у свободного циклодепептида только одной пространственной формы, т. е. при условии $[B] = 0$.

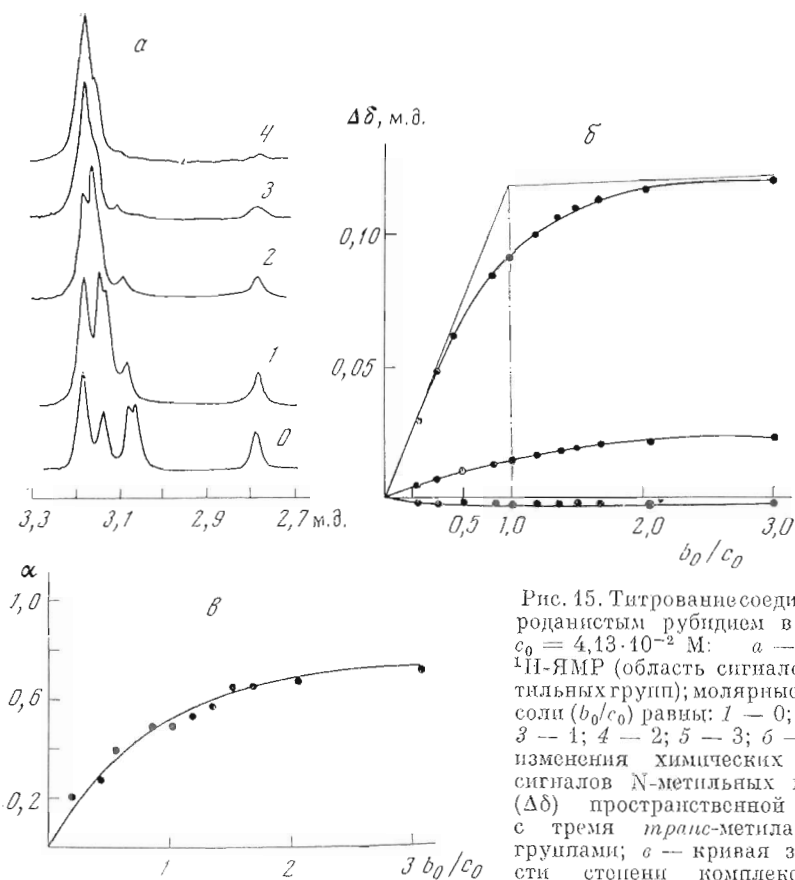


Рис. 15. Титрование соединения (X) роданистым рубидием в CD_3CN , $c_0 = 4,13 \cdot 10^{-2}$ М: а — спектры 1H -ЯМР (область сигналов N-метильных групп); молярные избытки соли (b_0/c_0) равны: 1 — 0; 2 — 0,5; 3 — 1; 4 — 2; 5 — 3; б — кривые изменения химических сдвигов сигналов N-метильных протонов ($\Delta\delta$) пространственной формы с тремя *транс*-метиламидными группами; в — кривая зависимости степени комплексообразования (α) от соотношения b_0/c_0 .

Устойчивость «сэндвич»-комплексов, образованных доминирующей формой соединения (II), существенно ниже устойчивости эквимолекулярных комплексов, так как при увеличении молярного избытка соли в растворе кривые зависимости $\delta = f(b_0/c_0)$ выходят на плато уже при 1,5-кратном избытке соли, указывая на переход в этих условиях комплексов 2 : 1 в эквимолекулярные. Основываясь на этих данных, можно считать, что величина K_2 примерно на 2 порядка ниже константы K_1 .

Химические сдвиги сигналов N-метильных групп минорной формы в начале кривой титрования претерпевают значительные изменения, однако по мере приближения величины b_0/c_0 к единице кривые обнаруживают признаки выхода на плато. Учитывая, что сигнал, смещающийся в сильное поле, выходит на плато при $b_0/c_0 \sim 0,5$, можно предположить участие минорной формы в образовании «сэндвич»-комплексов, устойчивость которых существенно ниже устойчивости комплексов, образуемых доминирующей пространственной формой. Эквимолекулярные комплексы минорная форма не образует, или их устойчивость примерно на 2 порядка ниже устойчивости эквимолекулярных комплексов доминирующей формы, так как в противном случае в конце титрования в спектре ЯМР должны быть видны сигналы от комплексов двух медленно конвертирующих форм.

Еще сильнее различаются по комплексообразующей способности пространственные формы соединения (X). Как было показано выше, одна из этих форм (форма I, табл. 9) содержит все метиламидные группы в *транс*-конфигурации, в то время как форма II содержит одну *цис*-метиламидную группу. Сигналы формы II при добавлении к раствору циклодипептида роданистого рубидия не меняют своего положения, а убывают по интен-

сивности; сигналы формы I смещаются по направлению к предельным значениям, отвечающим значениям химических сдвигов комплекса, и возрастают по интенсивности (см. рис. 15б). При этом кривая зависимости изменения химических сдвигов ($\Delta\delta$) сигналов формы I от соотношения b_0/c_0 проходит ниже теоретической кривой, соответствующей образованию эквимолекулярного комплекса с бесконечно большой константой устойчивости.

Анализ кривых зависимости $\Delta\delta$ и α (степень комплексообразования) от соотношения b_0/c_0 (рис. 15 б, в) показывает, что аналог (X) не обнаруживает признаков образования комплексов состава ЦДП — катион, 2 : 1. При попытке титровать соединение (X) роданистым рубидием в метаноле из раствора выпал кристаллический комплекс, имеющий, по данным микроанализа, эквимолекулярную структуру.

В соответствии с низкой устойчивостью комплексов соединения (II) и (X) весьма слабо влияют на ионную проницаемость липидных бислойных мембран. Как видно из табл. 16, проводимость (g_0) лецитиновых бислойных мембран, модифицированных аналогами (II) и (X), на 2—3 порядка ниже проводимости мембран, модифицированных эрниатином В.

Таблица 16

Проводимость лецитиновых мембран (g_0), модифицированных эрниатином В (I) и аналогами (II) и (X)

Концентрации депептидов $4,0 \cdot 10^{-6}$ М; мембраны разделяют 1 М растворы одноименных солей

| Соединение | g_0 ; NaCl | g_0 ; KCl |
|----------------|---------------------|---------------------|
| Эрниатин В (I) | $2,5 \cdot 10^{-7}$ | $4,0 \cdot 10^{-6}$ |
| (II) | $3,0 \cdot 10^{-9}$ | $1,5 \cdot 10^{-8}$ |
| (X) | $3,0 \cdot 10^{-9}$ | $1,0 \cdot 10^{-8}$ |

Вместе с тем антибиотическая активность в исследованном ряду соединений не обнаруживает прямой корреляции с устойчивостью комплексов. Например, соединения (II) — (IV), (VI), (IX) и особенно (X) обладают сравнимой с эрниатином В антимицробной активностью, хотя значительно уступают ему по значениям K_1 (см. табл. 15). Причины этого явления пока остаются неясными. Напрашивается предположение, что антимицробная активность эрниатинов и их стереоизомерных аналогов не связана исключительно с изменением проницаемости биологических мембран для ионов щелочных металлов. Исследования в этом направлении продолжаются.

Экспериментальная часть

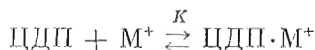
Физико-химические измерения. Спектры ^1H -ЯМР снимали на приборах JNM-4H-100 фирмы Jeol (Япония) и XL-100 фирмы Varian (США) с рабочей частотой 100 МГц и стабилизацией резонансных условий по внутреннему стандарту, в качестве которого использовали тетраметилсилан. Химические сдвиги определяли с точностью $\pm 0,01$ м. д., а константы спин-спинового взаимодействия — с точностью до $\pm 0,2$ Гц.

Кривые ДОВ снимали на спектрополяриметре Cary-60 (Varian, США), кривые КД — на дихрографе Roussel Jouan II (Франция) или на спектрополяриметре Cary-60 с приставкой CD-6001 (Varian, США). Кривые ДОВ и КД снимали, если это не оговорено особо, при концентрации вещества $(2-6) \cdot 10^{-4}$ М и температуре 23—26°; толщина кювет 0,01—2 см. Значения молекулярного вращения $[\Phi]$ приведены без поправки на коэффициент преломления растворителя.

Расчет констант устойчивости комплекса. В связи с тем что константы устойчивости комплексов изученных соединений с ионами щелочных

металлов невелики ($< 500 \text{ M}^{-1}$), при достижимых избытках солей (за исключением растворов NaClO_4) не удается добиться полного переведения циклодепептидов в комплекс, и расчет констант устойчивости комплексов по уравнениям, приведенным в работе [7], становится невозможным. В этом случае расчет константы устойчивости комплексов ведется следующим образом.

Как известно [7], для реакции образования эквимолекулярного комплекса



константу равновесия можно вычислить по уравнению

$$K = \frac{\alpha}{(1 - \alpha)(b_0 - c_0\alpha)}, \quad (1)$$

где α — степень комплексообразования, b_0 и c_0 — соответственно аналитические концентрации соли и циклодепептида. Для двух независимых опытов (1 и 2), выполненных при одинаковых внешних условиях (температура, растворитель и т. п.), но различных концентрациях комплекса и соли, справедливо выражение

$$\frac{\alpha_1}{(1 - \alpha_1)(b_{01} - c_{01}\alpha_1)} = \frac{\alpha_2}{(1 - \alpha_2)(b_{02} - c_{02}\alpha_2)}. \quad (2)$$

Для использованных нами методов (КД или ДОВ) экспериментально наблюдаемые величины спектральных параметров ($Z_{\text{набл}}$) будут соответственно равны:

$$Z_{\text{набл } 1} = (1 - \alpha_1) \cdot Z_{\text{своб}} + \alpha_1 \cdot Z_{\text{компл}}, \quad (3)$$

$$Z_{\text{набл } 2} = (1 - \alpha_2) \cdot Z_{\text{своб}} + \alpha_2 \cdot Z_{\text{компл}}, \quad (4)$$

где $Z_{\text{своб}}$ и $Z_{\text{компл}}$ — спектральные параметры свободного циклодепептида и комплекса.

Определяя $Z_{\text{компл}}$ по уравнениям (3) и (4), имеем

$$Z_{\text{компл}} = \frac{Z_{\text{набл } 1} - (1 - \alpha_1) \cdot Z_{\text{своб}}}{\alpha_1}, \quad (5)$$

$$Z_{\text{компл}} = \frac{Z_{\text{набл } 2} - (1 - \alpha_2) \cdot Z_{\text{своб}}}{\alpha_2}. \quad (6)$$

Приравняв правые части уравнения (5) и (6) и выражая α_2 через α_1 , получаем

$$\alpha_2 = \alpha_1 \frac{Z_{\text{своб}} - Z_{\text{набл } 2}}{Z_{\text{своб}} - Z_{\text{набл } 1}}. \quad (7)$$

Обозначив $\frac{Z_{\text{своб}} - Z_{\text{набл } 2}}{Z_{\text{своб}} - Z_{\text{набл } 1}}$ через Δ и подставив выражение $\alpha_2 = \Delta\alpha_1$ в уравнение (2), получаем

$$(c_{02}\Delta^2 - c_{01}\Delta)\alpha_1^2 + [(c_{01} + b_{01}) - (c_{02} + b_{02})]\Delta\alpha_1 + b_{02} - b_{01}\Delta = 0. \quad (8)$$

Решая уравнение (8) относительно α_1 и подставляя в уравнение (1) значения α_1 , c_{01} и b_{01} , находим значение K . Достоинством этого метода является его общность, т. е. применимость к расчету констант устойчивости комплексов, имеющих любую величину K , а недостатком — меньшая точность по сравнению с методом, описанным в работе [7], так как в данном случае экспериментальные ошибки определения $Z_{\text{набл}}$ значительно сильнее сказываются на вычисленном значении K .

ЛИТЕРАТУРА

1. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М. (1974) Мембрано-активные комплексы, «Наука», М.
2. Haynes D. H., Pressman B. C. (1974) J. Membr. Biol., 18, 23—38.

3. Grell E., Funck Th., Eggers F. (1974) in Membranes (Eisenman G., ed.), vol. 3, pp. 175—218, Marcel Dekker, Inc., N. Y., Basel.
4. Ivanov V. T., Evstratov A. V., Sumskaya L. V., Melnik E. I., Chumburidze T. S., Portnova S. L., Balashova T. A., Ovchinnikov Yu. A. (1973) FEBS Lett., 36, 65—71.
5. Roeske R. W., Isaac S., King T. E., Steinrauf L. K. (1974) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 57, 554—561.
6. Prince R. C., Crofts A. R., Steinrauf L. K. (1974) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 59, 697—704.
7. 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.
8. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Evstratov A. V., Mikhaleva I. I., Bystrov V. F., Portnova S. L., Balashova T. A., Meshcheryakova E. A., Tulchinsky V. M. (1974) Int. J. Pept. Prot. Res., 6, 465—498.
9. Шемякин М. М., Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Рябова И. Д. (1972) Ж. общ. химии, 42, 3220—3334.
10. Karpovich J. (1954) J. Chem. Phys., 22, 1767—1772.
11. Perricaudent M., Pullman A. (1973) Int. J. Pept. Prot. Res., 5, 99—107.
12. Subrahmanyam S. V., Piercy J. F. (1965) J. Acoust. Soc. Amer., 37, 340—344.
13. Иванов В. Т., Костецкий П. В., Балашова Т. А., Портнова С. Л., Ефремов Е. С., Овчинников Ю. А. (1972) Химия природн. соедин., 339—346.
14. De Santis P., Rizzo R., Ughetto G. (1972) Biopolymers, 11, 279—289.
15. Goodman M., Steinfeld A., Tonelli A., Lepore U., Palumbo M., Douzel B. (1974) Bioorgan. Chem., 3, 184—203.
16. Deber C. M., Fossel E. T., Blout E. V. (1974) J. Amer. Chem. Soc., 96, 4015—4017.
17. Isbrandt L. B., Rogers M. T. (1971) J. Chem. Soc., ser. D, 1378—1380.
18. Solomon I. (1955) Physical Review, 99, 559—565.
19. Bystrov V. F., Portnova S. L., Balashova T. A., Gavrilov Yu. D., Koz'min S. A., Afanas'ev V. A. (1973) Pure and Appl. Chem., 36, 19—34.
20. Попов Е. М., Плетнев В. З., Евстратов А. В., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. (1970) Химия природн. соедин., 616—622.
21. Плетнев В. З., Попов Е. М. (1975) Биооргани. химия, 1, 160—165.
22. Андреев И. М., Маленков Г. Г., Шкроб А. М., Шемякин М. М. (1971) Молекулярн. биология, 5, 614—623.

Поступила в редакцию
4.V.1976.

STRUCTURE-CONFORMATION RELATIONS OF THE STEREOISOMERIC CYCLOHEXADESIPEPTIDES IN THE ENNIATIN B SERIES

IVANOV V. T., EVSTRATOV A. V., BALASHOVA T. A.,
MESHCHERYAKOVA E. A., PORTNOVA S. L., BYSTROV V. F.,
OVCHINNIKOV Yu. A.

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

All possible diastereomeric forms of the ionophore antibiotic enniatin B have been investigated by means of ORD, CD, ¹H-NMR, and dipole moments techniques. It is shown that only the DDDDDD-diastereomer has a rigid conformation with all *trans* amide and ester bonds. In other compounds the complex conformational equilibrium takes place at room temperature. Three main types of conformational transitions can be proposed for the enniatin derivatives on the basis of their coalescence temperatures: *cis-trans* isomerism of ester bonds, *cis-trans* transitions in N-methylamide groups (substantiated by experiments with shift and broadening reagents), and the rotation isomerism about the N—C^α, O—C^α and C^α—C' bonds. The complexes with alkali metal ions were also investigated. A change in configuration of one, two or more amino acid residues considerably decreases the stability of respective equimolecular complexes. Among the enniatin B analogs, that with the altered configuration of only one methylvalyl residue is more similar to the parent antibiotic in conformational and metal binding properties since it gives 1 : 1 and 2 : 1 macrocycle-cation complexes. On the other hand, D₆-enniatin forms no complexes at all. Any change in hydroxyisovaleryl residues was found to exert very pronounced effect on the complex stability. The results obtained are discussed in the light of conformational analysis data.