



УДК 547.96

ИЗУЧЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ СОСТОЯНИЙ
ЦИКЛОПЕПТИДНЫХ СИСТЕМ12 *. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ ГЕКСАПЕПТИДОВ,
СОДЕРЖАЩИХ ОСТАТКИ N-МЕТИЛАМИНО- И ОКСИКИСЛОТ ***Иванов В. Т., Лавринович И. А., Портнова С. Л.,
Спасов С. Л.***, Мецержкова Е. А., Архипова С. Ф.,
Сеявина Л. Б., Овчинников Ю. А.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Изучены спектры КД, ЯМР и ИК-спектры пяти циклогексадепептидов: *цикло*[-(D-Val-D-Leu-L-HyIv)₂-] (I); *цикло*[-(L-Val-L-MeLeu-L-HyIv)₂-] (II); *цикло*[-(D-Val-L-MeLeu-L-HyIv)₂-] (III); *цикло*[-(L-Val-L-Melle-D-HyIv)₂-] (IV); *цикло*[-(D-Val-L-Melle-D-HyIv)₂-] (V). На основании спектров КД, ЯМР, данных теоретического конформационного анализа и измерения дипольных моментов установлено, что соединения (I)–(V), имеющие по два симметрично расположенных α-оксикислотных остатка, принимают исключительно стабильные конформации «складчатого листа». Устойчивость этих конформаций слабо зависит от конфигурации остатков. Присутствие N-метильных групп не влияет на устойчивость водородных связей. На основании расчета интегральных интенсивностей полос в ИК-спектрах показано, что соединение (I), не содержащее N-метиламидных групп, в неполярных средах образует дополнительные внутримолекулярные водородные связи.

В сообщении [1] была поставлена задача исследовать конформационные состояния циклических гексапептидов, обладающих более ограниченными возможностями для образования ВМВС, чем рассмотренные ранее циклогексапептиды, построенные из остатков алифатических α-аминокислот (глицин, аланин, валин, лейцин, норвалин). Были синтезированы и изучены производные *цикло*[-(L-Val-Gly)₃-], в которых вместо одного, двух или всех трех остатков глицина присутствуют остатки саркозина. Данная статья посвящена конформационному анализу циклического гексапептида (I), содержащего два симметрично расположенных оксикислотных остатка (α-оксизовалериановая кислота, HyIv), а также депептидов (II)–(V), содержащих еще по два N-метиламинокислотных остатка (MeLeu или MeIle).

В соединениях (II)–(V) представлены все четыре возможных набора конфигураций образующих их трипептидных фрагментов (за исключением антиподных)

* Сообщение 11 см. [1].

** Сокращения HyIv-оксизовалериановая кислота, Melle-N-метилизольцин, Nva – норвалин, ВМВС – внутримолекулярные водородные связи.

*** Институт органической химии Болгарской Академии наук, София.

Циклас (-D-Val-D-Leu-L-HyIv-D-Val-D-Leu-L-HyIv-)	(I)
Цикло (-L-Val-L-MeLeu-L-HyLv-L-Val-L-MeLeu-L-HyIv-)	(II)
Цикло (-D-Val-L-MeLeu-L-HyIv-D-Val-L-MeLeu-L-HyIv-)	(III)
Цикло (-L-Val-L-Melle-D-HyIv-L-Val-L-Melle-D-HyIv-)	(IV)
Цикло (-D-Val-L-Melle-D-HyIv-D-Val-L-Melle-D-HyIv-)	(V)

Кривые КД соединений (I) — (V) отличаются высокой интенсивностью хирально-оптических эффектов, положение и интенсивность которых слабо зависят от природы растворителя в широком диапазоне полярности при переходе от гептана к водным растворам, см. рис. 1. Отсюда следует, что соединения (I) — (V) обладают жестко фиксированной системой амидных и сложноэфирных хромофорных групп.

В ИК-спектрах соединений (I) — (V) имеются симметричные полосы групп NH, участвующих в сильных ВМВС ($\nu_{\text{NH}}=3302-3326 \text{ см}^{-1}$ (рис. 2)). В спектре соединения (I) имеется еще полоса свободных групп NH при 3441 см^{-1} ; оценка числа групп NH, отвечающих каждой полосе, по ранее разработанному методу [2] приводит к соотношению $\sim 4:1$.

Спектры ЯМР¹-H соединений (I) — (V) состоят из узких, хорошо разрешенных сигналов, число которых указывает на эквивалентность противоположащих остатков по крайней мере во временной шкале метода ЯМР. На рис. 3 показан спектр соединения (IV); данные по остальным соединениям приведены в табл. 1. Из общего вида спектров ЯМР¹-H следует, что для соединений (II) — (V) в отличие от упомянутых выше циклопептидов, содержащих саркозин, не наблюдается равновесия нескольких форм, отличающихся конфигурацией третичных амидных связей. Химические сдвиги δ валиновых сигналов NH соединений (I) и (IV) в растворе $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ слабо зависят от температуры ($\Delta\delta/\Delta T$ $0,6 \cdot 10^{-3}$ и $0,0 \cdot 10^{-3}$ м.д./град, соответственно); кроме того, при переходе от CDCl_3 к $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ эти сигналы не только не сдвигаются в область слабого поля (как обычно при образовании связей NH...OS), но даже несколько смещаются в область сильного поля. Перечисленные данные не оставляют сомнения в том, что эти группы участвуют в образовании сильных ВМВС в обоих растворителях. Сигнал от группы NH остатка лейцина в соединении (V) в $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, напротив, сильно смещается в область сильного поля при повышении температуры ($\Delta\delta/\Delta T$ $9,1 \cdot 10^{-3}$ м.д./град), что указывает на его сольватацию растворителем. Интересно, что значения δ_{NH} N-метилированных циклопептидов в хлороформе хорошо коррелируют с ИК-частотами ν_{NH} в этом же растворителе: при переходе от (II) к (IV), (V) и далее к (III) наблюдается симбатное повышение ν_{NH} от 3302 до 3326 см^{-1} и уменьшение δ от 8,16 до 7,17 м.д. по-видимому, связанное с понижением энергии ВМВС.

Последующий конформационный анализ соединений (I) — (V) существенно облегчается тем, что константы $^3J_{\text{NHCH}}$ валиновых остатков имеют высокие значения 10,5—10,9 Гц, отвечающие *транс*-ориентации протонов в соответствующих фрагментах [3, 4]. Фрагменты $\text{C}^2\text{H}-\text{C}^6\text{H}$ валиновых остатков также принимают преимущественно *транс*-ориентацию (3J 9,6—10,5 Гц), а в остатках оксиизовалериановой кислоты — *гош*-ориентацию (3J 2,2—4,0 Гц) [5].

Изложенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что соединения (I) — (V) образуют более устойчивые структуры «складчатого листа», чем все другие исследованные до настоящего времени циклические гексапептиды (см. [1, 6]). Трансаннулярные ВМВС в соединениях (I) — (V) образованы валиновыми остатками. При определении поворотных углов Φ и Ψ соединений (II) — (V) мы принимали, что они располагаются вблизи энергетически выгодных областей на конформационных картах соединений, моделирующих соответствующие аминокислотные

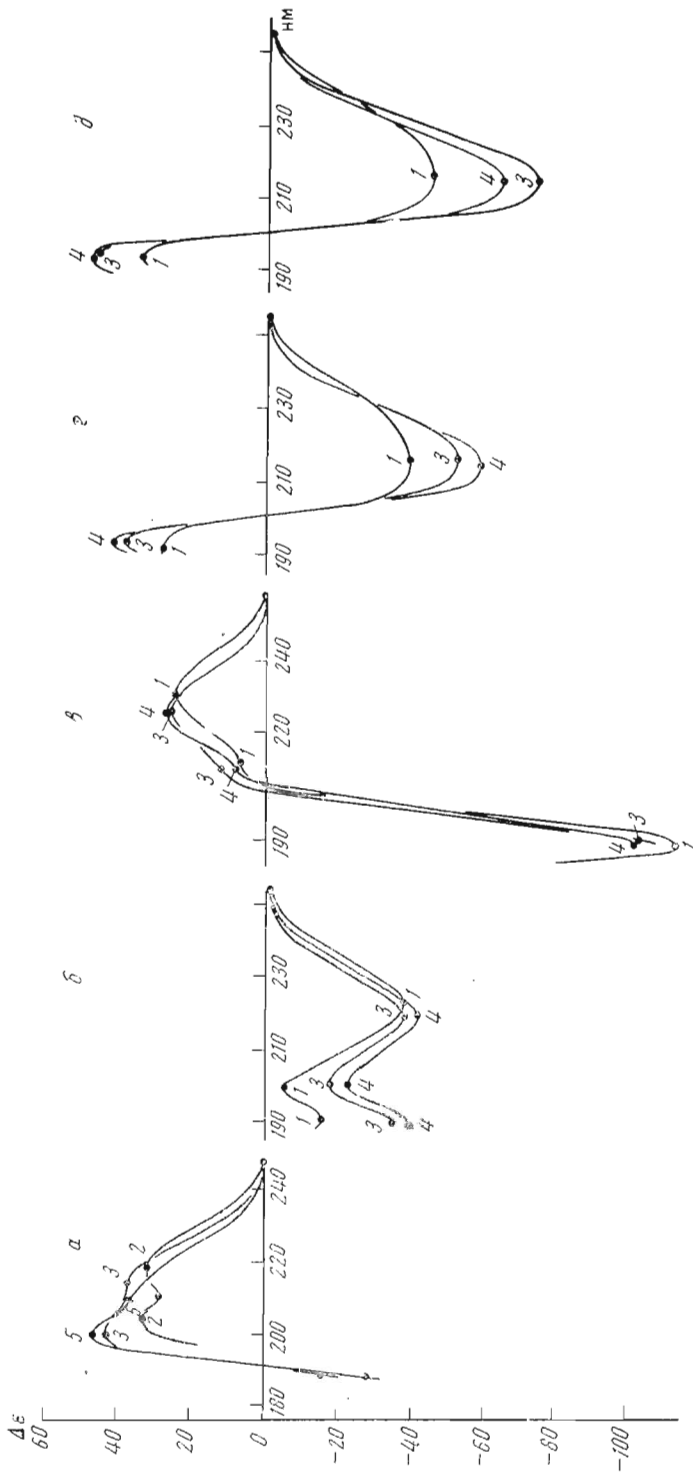


Рис. 1. Кривые КД соединений: а - (I), б - (II), в - (III), г - (IV) и д - (V). Растворители: 1 - C_7H_{16} , 2 - $C_7H_{16} - C_4H_8O_2$ (6:1), 3 - C_2H_5OH , 4 - $H_2O - C_2H_5OH$ (1:2), 5 - $H_2O - C_2H_5OH$ (3:4)

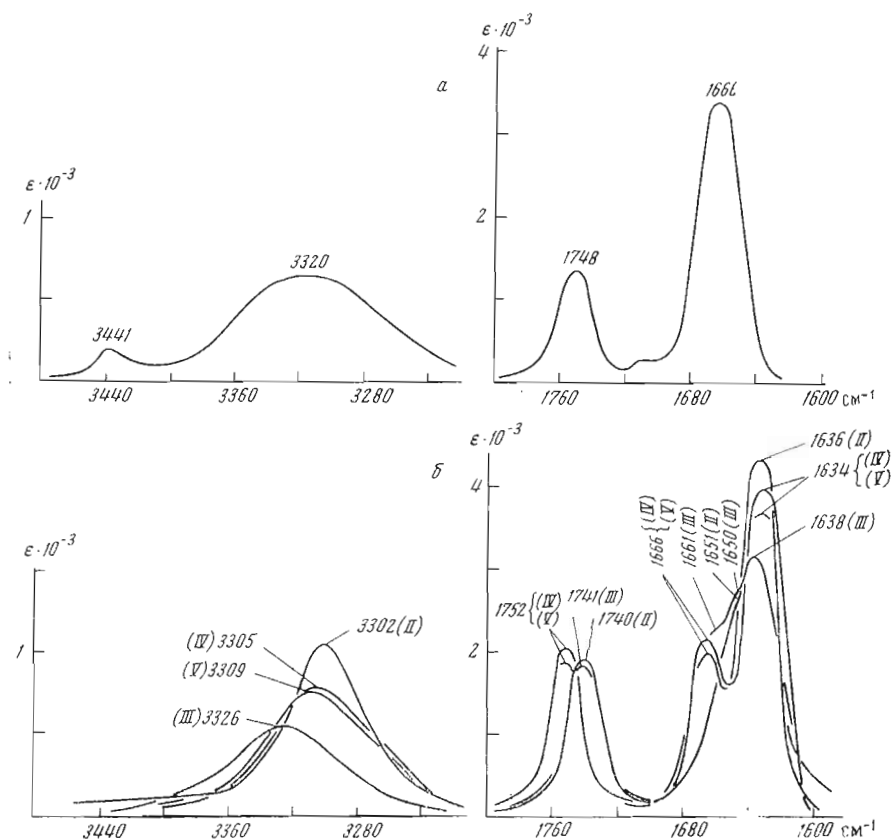


Рис. 2. ИК-спектры циклогексапептидов в хлороформе: а - (I), б - (II) - (V)

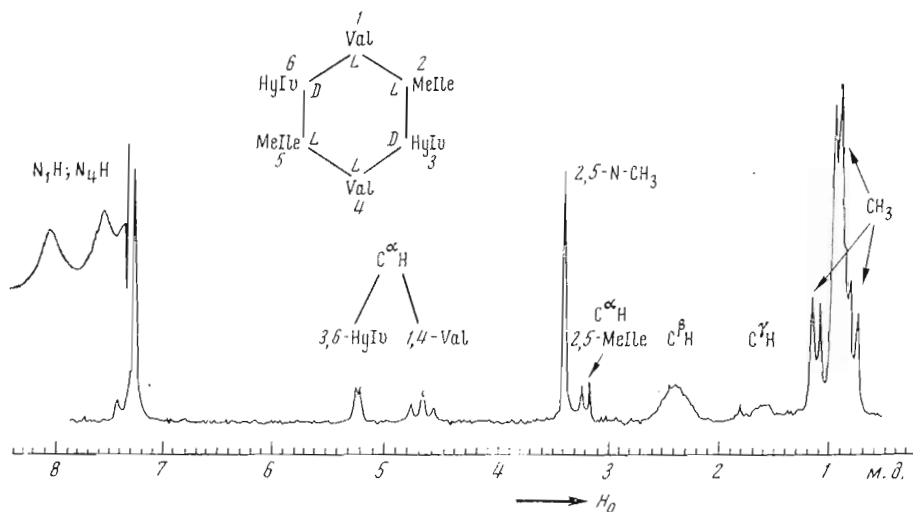


Рис. 3. Спектр ЯМР-¹H соединения (IV) в CDCl₃

Параметры спектров ЯМР-1H соединений (I)–(V)

Соединение	Растворитель	Концентрация, моль/л	Химические сдвиги δ , м.д.										^{13}C NMR, Гц			$^3\text{J}_{\text{NH}-\text{CH}}$, Гц
			C-CH ₃	CH ₂	H-CH ₃	C ² H Val	C ² H Leu, MeLeu, MeIle	C ² H H ₂ IV	NH *	Val	Leu, MeLeu, MeIle	H ₂ IV	^{13}C NMR, Гц			
													Val	H ₂ IV		
(I)	CDCl ₃	0,04	0,77	4,72	—	4,26	3,82	5,22	7,94 (Val)	10,5	—	3,5	10,5 (Val)	8,0 (Leu)		
			0,88	1,90	—	—	—	—	—	8,91 (Leu)	10,5	—	4,0	10,5 (Val)	7,0 (Leu)	
(II)	CDCl ₃	0,06	0,72	1,67	—	4,26	3,88	5,00	7,80 (0,6) (Val)	10,5	—	—	10,5 (Val)	7,0 (Leu)		
			0,80	2,08	—	—	—	—	—	9,20 (9,1) (Leu)	10,5	—	—	10,5 (Val)	7,0 (Leu)	
(III)	CDCl ₃	0,05	0,89	1,5—3,0	3,40	4,66	3,56	5,04	8,15 (1,5)	10,0	6,0	2,2	10,5	—		
			0,98	—	—	—	—	—	—	—	10,0	7,9	—	—	—	
(IV)	CDCl ₃	0,06	0,78	1,2—2,6	3,05	4,77	5,40	5,36	7,17 (1,5)	9,7	6,0	3,8	10,5	—		
			0,92	1,5—1,8	—	—	—	—	—	—	9,7	10,0	—	—	—	
(V)	(CD ₃) ₂ SO	0,02	0,94	—	—	—	—	—	7,38 (0,0)	10,2	8,0	3,6	10,9	—		
			1,13	—	—	—	—	—	—	—	10,2	—	—	10,5	—	
(V)	CDCl ₃	0,04	0,78	1,4—1,7	3,38	4,65	3,48	5,23	7,38 (0,0)	9,6	8,0	3,4	10,5	—		
			0,90	~2,37	—	—	—	—	—	—	9,6	—	—	—	—	
			0,93	—	—	—	—	—	7,23 (0,0)	—	—	—	—	—		
			1,13	—	—	—	—	—	7,38 (0,0)	—	—	—	—	—		

* В скобках приведены значения $\Delta\delta/\Delta T \cdot 10^3$ м.д./град.

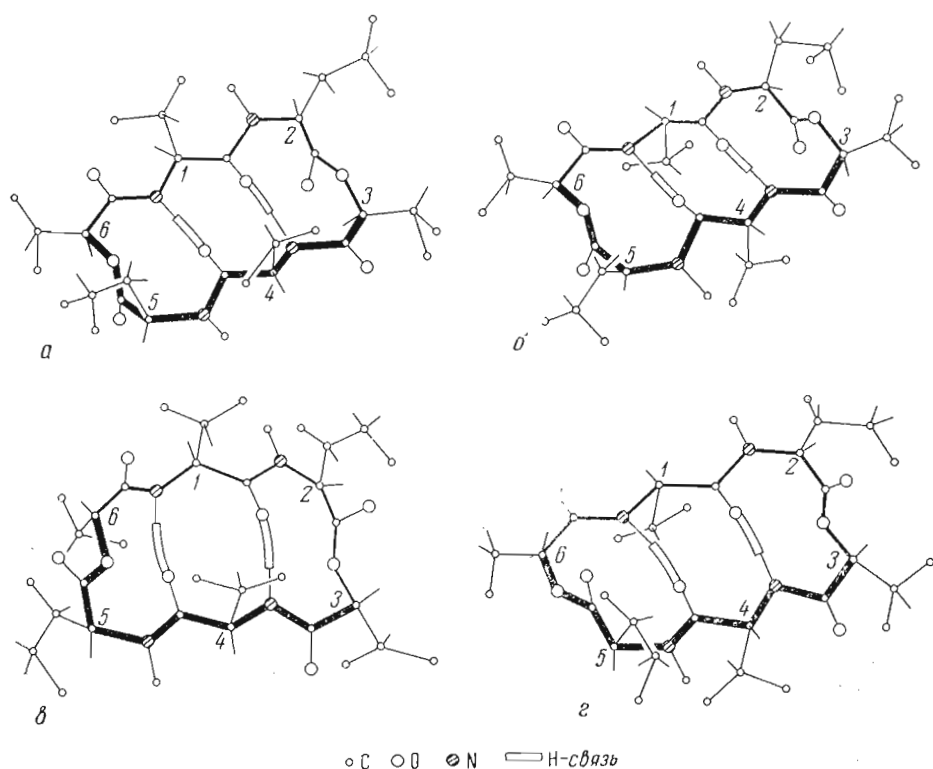


Рис. 4. Конформации циклогексадепептидов: а - (II), б - (III), в - (IV) и г - (V)

остатки AcValNMe₂, AcMeValOMe и AcHylvNHMe [7, 8]; *транс*-ориентация протонов NH и C^αH отвечает значениям $\Phi_{L-val} \sim -120^\circ$ и $\Phi_{D-val} \sim 120^\circ$ *. Для выбранных таким образом комбинаций двугранных углов рассчитывали расстояния между концами цепи при стандартных значениях длин связей и валентных углов [10]. Одновременно рассчитывали дипольный момент основной депептидной цепи [11]. Оказалось, что для каждого соединения существует только один набор углов, допускающий замыкание цикла (расстояние между концами цепи менее 1 Å). Найденные значения Φ и Ψ приведены в табл. 2, а соответствующие им конформации циклопептидов (II) — (V) на рис. 4. Интервалы возможных для соединений (II) и (IV) дипольных моментов (1,0–5,5 Д и 0,3–3,5 Д) согласуются с экспериментальными значениями (4,3 Д и 3,0 Д в CHCl₃).

Как видно из рис. 4, боковые цепи аминокислотных остатков ориентированы псевдоаксиально, а оксикислотных — псевдоэкваториально по отношению к оси симметрии; направление ориентации (вверх или вниз по отношению к средней плоскости цикла) определяется конфигурацией остатка. Ориентация сложноэфирной карбонильной группы определяется конфигурацией оксикислотного остатка и не зависит от конфигурации предшествующего аминокислотного остатка.

В полярных средах конформация соединения (I) подобна конформации циклопептида (III), если не учитывать их энантимерного характера. Другими словами, параметры Φ и Ψ соединения (I) в полярных средах близки по абсолютной величине, но противоположны по знаку соответствующим значениям соединения (III) (табл. 2). Константа $^3J_{NHCH} = 7,0$ Гц, приведенная в табл. 1 для *D*-лейциновых остатков, не противоречит расчетным значениям $\Phi - 50 \pm 10^\circ$ (табл. 2). Как уже упоминалось, соотноше-

* Относительно конформационной номенклатуры пептидов см. [9].

Предпочтительные конформации соединений (I) — (V)

Соединение	Конфигурация аминокислот	Угол, град.	Аминокислотный остаток		
			Val	Leu, MeLeu, MeIle	HuIv
(I)	<i>DDLDDL</i>	Ф	130±10	-50±10	-90±40
		Ψ	-130±30	-30±30	0±10
(II)	<i>LLLLLL</i>	Ф	-110±10	50±10	-100±20
		Ψ	110±10	-100±20	0±20
(III)	<i>DLLDLL</i>	Ф	130±10	40±20	-100±40
		Ψ	-170±10	-90±10	-10±20
(IV)	<i>LLDJLD</i>	Ф	-130±10	50±10	90±40
		Ψ	130±30	30±30	0±10
(V)	<i>DLDDLD</i>	Ф	130±10	40±20	90±30
		Ψ	-170±10	70±50	-20±20

ние свободных и Н-связанных групп NH соединения (I) в CHCl_3 составляет ~1:4, в то время как в структуре «складчатого листа» оно составляет 1:1. По-видимому, в CHCl_3 образуются дополнительные ВМВС типа 3→1, обнаруженные ранее в гомодетных циклопептидах [2]; не исключено также, что в условиях измерения ($5,3 \cdot 10^{-4}$ моль/л, 30°) присутствуют Н-связанные ассоциаты.

Компактная антипараллельная укладка депсипептидного остова соединений (I) — (V) не оставляет места для молекулярной полости. В соответствии с этим они не должны образовывать комплексов с ионами металлов, в отличие, например, от циклопептидов энниатиновой группы [12]. Действительно, их кривые КД в этаноле не изменяются при добавлении 10^{-2} М КСl и NaCl.

В целом поведение соединений (I) — (V) свидетельствует о том, что включение оксикислотных остатков создает благоприятные условия для образования ВМВС типа 4→1 и β-изгибов — свойство, которое природа использовала для антибиотика валиномицина, образующего при функционировании шесть таких структур [13]. Полученные результаты облегчили исследование конформационных состояний природных депсипептидов споридесмолидовой группы.

Экспериментальная часть

Соединения (I) — (V) получены ранее реакцией удвоения [14]. Перед измерениями их высушивали 16 ч над P_2O_5 при 0,5 мм и 50°. Кривые КД измеряли на спектрополяриметре «Cary-60» с приставкой для получения кривых КД «Cary-6001» при концентрациях растворов $(1-3) \cdot 10^{-3}$ моль/л и температуре растворов 23—26°; толщина кювет 0,01—1 см. ИК-спектры регистрировали на приборе UR-10 с призмами из LiF и NaCl. Толщина кюветы при измерениях в области 3500—3200 см^{-1} — 20 мм и при 1800—1600 см^{-1} — 5 мм; концентрация растворов — $5,1-5,7 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Спектры ЯМР- ^1H снимали на приборе JNM 4H-100 (100 МГц). В качестве внутреннего стандарта (δ 0,00 м.д.) использовали тетраметилсилан. Химические сдвиги определяли с точностью $\pm 0,01$ м.д., константы спин-спинового взаимодействия — с точностью до $\pm 0,1$ Гц, константы, на рис. 3 и в табл. 1 значения констант $^3J_{\text{NHCl}}$ приведены с учетом поправки на электроотрицательность заместителей ($J_{\text{испр}} = 1,09 J_{\text{эсп}}$ [4]). О методе измерения дипольных моментов см. [2].

Авторы выражают благодарность Е. С. Ефремову за измерение дипольных моментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов В. Т., Лавринович И. А., Портнова С. Л., Лапшин В. В., Костецкий П. В., Овчинников Ю. А. (1974) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2320—2328.
2. Иванов В. Т., Сенявина Л. Б., Ефремов Е. С., Шплин В. В., Овчинников Ю. А. (1971) Химия природн. соедин., 347—352.
3. Ramachandran C. N., Chandrasekaran R., Kopple K. D. (1971) Biopolymers, 10, 2113—2120.
4. Bystrov V. F., Ivanov V. T., Portnova S. L., Balashova T. A., Ovchinnikov Yu. A. (1973) Tetrahedron, 29, 873—877.
5. Kopple K. D., Wiley G. R., Tauke R. (1973) Biopolymers, 12, 627—634.
6. Kopple K. D., Go A., Schamper T. J., Wilcox C. S. (1973) J. Amer. Chem. Soc., 95, 6090—6097.
7. Попов Е. М., Лишкинд Г. М., Архипова С. Ф. (1971) Изв. АН СССР, Сер. хим., 312—317.
8. Попов Е. М., Лишкинд Г. М., Плетнев В. З., Архипова С. Ф. (1971) Химия природн. соедин. 184—190.
9. IUPAC — IUB Commission (1970) J. Mol. Biol. 52, 1—12; (1970), 9, 3471—3479; (1971) Arch. Biochem. and Biophys. 145, 405—412.
10. Попов Е. М., Дашевский В. Г., Лишкинд Г. М., Архипова С. Ф. (1968) Молекулярн. биология, 2, 612—618.
11. Ефремов Е. С., Костецкий П. В., Иванов В. Т., Попов Е. М., Овчинников Ю. А. (1973) Химия природн. соедин., 348—354.
12. Shemyakin M. M., Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., 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—410.
13. Иванов В. Т., Лайне И. А., Абдуллаев Н. Д., Плетнев В. З., Лишкинд Г. М., Архипова С. Ф., Сенявина Л. Б., Мещерякова Е. А., Попов Е. М., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А. (1971) Химия природн. соедин., 221—227.
14. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Кирюшкин А. А., Шемякин М. М. (1963). Докл. АН СССР, 153, 122—129.

Поступила в редакцию
27. VI 1974

STUDY OF CONFORMATIONAL STATES OF CYCLOPEPTIDE SYSTEMS. XII. THE SPATIAL STRUCTURE OF CYCLOHEXAPEPTIDES CONTAINING N-METHYLAMINO AND α -HYDROXY ACID RESIDUES

V. T. IVANOV, I. A. LAVRINOVICH, S. L. PORTNOVA, S. L. SPASSOV,
E. A. MESHCHERYAKOVA, S. F. ARKHIPOVA, L. B. SENYAVINA,
Yu. A. OVCHINNIKOV

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

The spatial structure of cyclohexapeptides cyclo[-(D-Val-D-Leu-L-HyIv)₂-] (I), cyclo[-(L-Val-L-MeLeu-L-HyIv)₂-] (II), cyclo[-(D-Val-L-MeLeu-L-HyIv)₂-] (III), cyclo[-(L-Val-L-MeIle-D-HyIv)₂-] (IV) and cyclo[-(D-Val-L-MeIle-D-HyIv)₂-] (V) consisting of two oppositely placed α -hydroxy acid residues and four hydrophobic amino acid residues was studied by means of CD, IR and NMR-¹H techniques, dipole moment measurements and theoretical conformational analysis. Compounds (I)–(V) regardless of the differences in configurational sets form exceptionally stable «pleated sheet» structures. From integral intensities of NH stretching vibration it follows that compound (I) containing no N-Me groups forms in non-polar solvents 3→1 intramolecular hydrogen bonds, in addition to 4→1 bonds characteristic of the «pleated sheet» structure.