



УДК 547.96

ИЗУЧЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ СОСТОЯНИЙ
ЦИКЛОПЕПТИДНЫХ СИСТЕМ.

13 *. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ СТРОЕНИЕ СПОРИДЕСМОЛИДОВ I—IV

*Иванов В. Т., Лавринович И. А., Портнова С. Л.,
Спасов С. Л.**, Мецеракова Е. А., Селявина Л. В.,
Овчинников Ю. А.**Институт биорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Изучены спектры КД, ЯМР и ИК-спектры и проведен теоретический конформационный анализ природных циклогексадецепептидов споридесмолидов I—IV. Показано, что споридесмолиды I—IV обладают более высокой конформационной подвижностью, чем их ранее изученные синтетические аналоги. В неполярных растворителях споридесмолиды I—IV принимают компактные жесткие конформации с двумя трансаннулярными внутримолекулярными водородными связями типа 4→1 и дополнительными Н-связями типа 3→1. Сложноэфирные карбонильные группы ориентированы вниз по отношению к средней плоскости цикла. При переходе к полярным средам реализуются более свободные структуры с одним β-изгибом на участке 4—5—6—1.

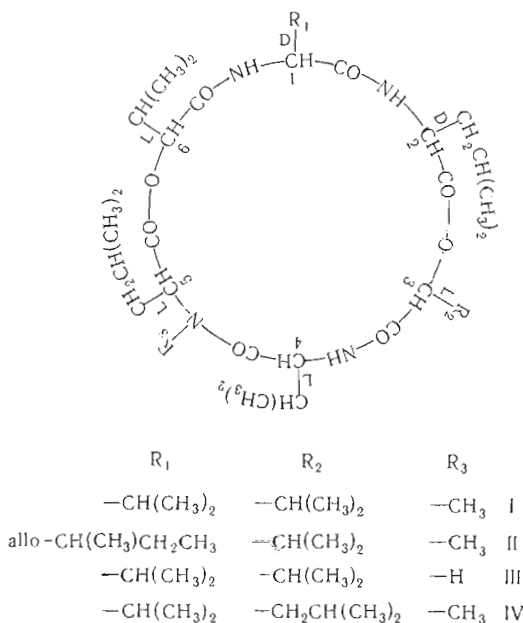
В предыдущих сообщениях настоящей серии были систематически рассмотрены закономерности формирования пространственной структуры циклических гексапептидов. Было показано, что гомодетные циклогексапептиды, построенные из остатков глицина, аланина, норвалина и лейцина, участвуют в сложном конформационном равновесии, в котором преобладают структуры «складчатого листа» с двумя трансаннулярными водородными связями (ВМВС) типа 4→1 [2]. Введение валиновых остатков с их объемистыми боковыми цепями резко сокращает число конформеров, участвующих в равновесии. Последовательное введение одной, двух (в положениях 1 и 3) и трех (в положениях 1,3 и 5) N-метильных групп дестабилизирует структуру «складчатого листа», и типичными становятся конформации с одним β-изгибом, стабилизированным одной ВМВС типа 4→1. При этом усиливается тенденция к образованию форм с *цис*-конфигурацией третичных амидных связей [3]. Симметричное расположение двух сложноэфирных (в положениях 1 и 4) или двух сложноэфирных и двух N-метильных (соответственно в положениях 1,4 и 3,6) групп, напротив, приводит к реализации исключительно устойчивых структур «складчатого листа» [4]. В неполярных растворителях циклические гексапептиды образуют дополнительные ВМВС типа 3→1 [1, 3, 4]. Перечисленные закономерности находят свое отражение и у споридесмолидов — природных цикло-

* Сообщение 12, см. [1].

** Институт органической химии Болгарской Академии наук, София.

гексадепептидов, пространственное строение которых рассматривается в данном сообщении.

Споридесмолиды I—IV [5, 6, 7] представляют собой нейтральные, биологически неактивные соединения, выделенные из оболочки спор гриба *Pithomyces chartarum*. Их строение, предложенное на основе масс-спектрометрического анализа и исследования продуктов гидролиза, было вскоре подтверждено полным синтезом. Как видно из формулы



споридесмолиды I—IV имеют несимметричную структуру. В их состав входят два оксикислотных остатка (в положениях 3 и 6) и четыре остатка гидрофобных аминокислот; у споридесмолидов I, II и IV один из них N-метилирован. Конформационный анализ споридесмолидов основывался на данных кривых КД (рис. 1), ИК-спектров (рис. 2) и спектров ЯМР-¹H (рис. 3, табл. 1).

Споридесмолид III. Это соединение является диастереомером цикло-(-D-Val-D-Leu-L-HyIv-D-Val-D-Leu-L-HyIv-) (V), изученного ранее [1]. Структурное сходство и близость общего вида ИК-спектров в CHCl₃ споридесмолида III и соединения (V) (рис. 2, б) убеждают в подобии пространственного строения двух циклопептидов в этом растворителе, т. е. в образовании двух ВМВС типа 4→1 и присутствии некоторого количества форм, имеющих дополнительные ВМВС типа 3→1. Вместе с тем расчет интегральных интенсивностей обнаруживает несколько меньшее содержание ВМВС в споридесмолиде III [соотношение Н-связанных групп к свободным 3 : 1 по сравнению с 4 : 1 у соединения (V)]; кроме того, обращает на себя внимание более высокая частота поглощения связанных групп NH у споридесмолида III [3347 см⁻¹ по сравнению с 3320 см⁻¹ у (V)]. Отмеченные особенности ИК-спектров указывают на меньшую устойчивость Н-связей природного депептида III. Ослабление системы ВМВС четко проявляется при переходе к полярным средам, в которых только одна группа NH экранирована от взаимодействия с растворителем (δ 7, 40, Δδ/ΔT=0,000·10⁻³ м.д./град в CDCl₃—CD₃OD, 1 : 1, табл. 1), в отличие от соединения (V), у которого во всех исследованных растворителях сохранялись трансаннулярные ВМВС. Вероятнее всего, у споридесмолида III

в этих условиях присутствует только один β -изгиб (рис. 4), а остальная часть молекулы не имеет фиксированной конформации. Отсутствие полос дихроичного поглощения в области $n \rightarrow \pi^*$ переходов амидных или сложноэфирных хромофорных групп на кривых КД (рис. 1, а, б и в) также согласуется с равновесием нескольких конформеров, имеющих противоположные знаки дихроичного поглощения. Отметим попутно, что оптические свойства споридесмолида III в метаноле и водном этаноле уникальны

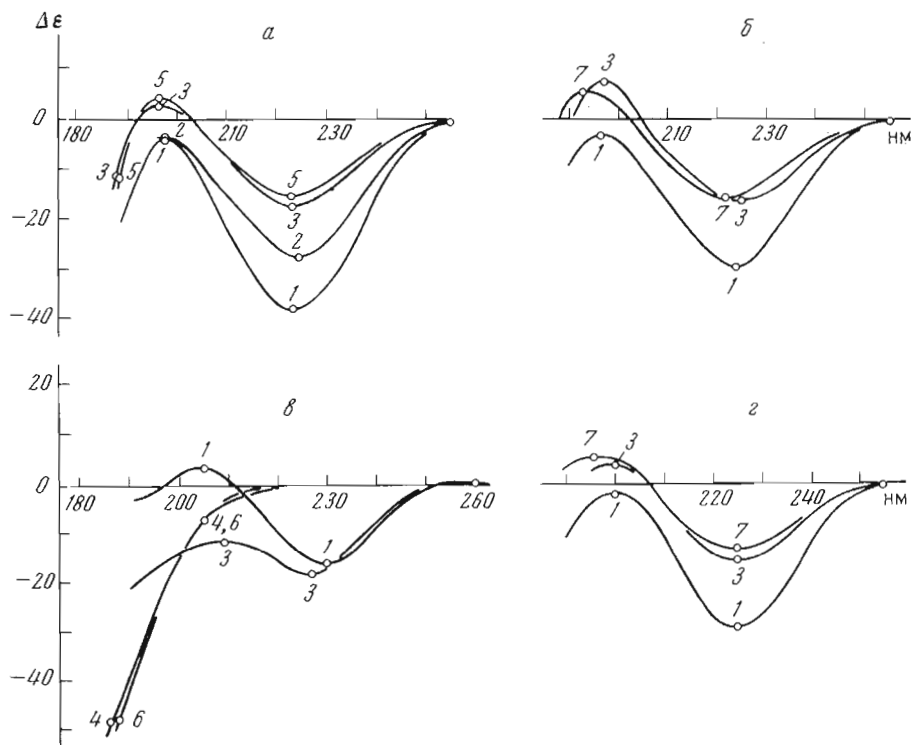


Рис. 1. Кривые КД споридесмолидов: а - I, б - II, в - III и г - IV. Растворители: 1 - $C_7H_{16} - C_2H_5OH$ (6 : 1), 2 - $C_7H_{16} - C_4H_8O_2$ (6 : 1), 3 - C_2H_5OH , 4 - CH_3OH , 5 - $H_2O - C_2H_5OH$ (2 : 5), 6 - $H_2O - C_2H_5OH$ (3 : 4), 7 - $H_2O - C_2H_5OH$ (1 : 2)

для пептидных систем в том отношении, что у него нет экстремумов дихроичного поглощения во всей исследованной спектральной области от 188 до 260 нм. Сопоставление диастереомерной пары споридесмолид III - соединение (V) показывает, что конфигурация аминокислотных остатков может существенно влиять на устойчивость структуры «складчатого листа». По-видимому, для ее реализации наиболее благоприятны симметричные наборы конфигураций (т. е. одинаковые наборы двух «половин»), как было показано для N-метилованных аналогов споридесмолидов [1].

Споридесмолиды I, II и IV. Формулы споридесмолидов II и IV отличаются от формулы споридесмолида I только присутствием дополнительного метиленового звена в боковой цепи 1-го или 3-го остатка. Поэтому не удивительно, что перечисленные соединения не отличаются конформацией депептидного остова, как следует из практически совпадающих кривых КД, а также близости параметров спектров ЯМР- 1H и ИК-спектров. Исследование спектров ЯМР- 1H споридесмолидов II и IV оказалось полезным в том отношении, что с их помощью удалось различить сигналы оксикислотных, а также 1-го и 4-го аминокислотных остатков.

Споридесмолид I может быть получен из споридесмолида III с формальной замесной NH на NCH_3 в положении 5. В соответствии с этим в

Параметры спектров ЯМР-Н споридесмолидов I—IV

Спори- десмо- лид	Раствори- тель	Кон- цен- тра- ция, моль/л	Химические сдвиги, м. д.												$\delta J_{\text{C}^\alpha\text{H}-\text{C}^\beta\text{H}}$, Гц						$\delta J_{\text{NH}-\text{CH}}$, Гц
			C—CH ₃	CH ₂	N—CH ₂	C α H			C α H			NH*	Val, alle		Leu, MeLeu		H ν IV, H ν IC				
						Val, alle	Leu, MeLeu	H ν IV, H ν IC	C α H	C α H	C α H		1	2	3	4		5	6		
																				1	
I	CDCl ₃	0,05	0,88	1,63	3,40	3,26	4,60	4,44	3,57	5,08	4,89	7,13 (5,2) (L-Val)	6,1	10,1	7,3	7,0	3,6	2,9	10,5 (L-Val) 7,2 (D-Leu) 6,3 (D-Val)		
			0,99	1,96									7,82 (3,3) (D-Leu)	10,1	14,5						
II	CDCl ₃	0,05	0,91	~1,70	3,40	~3,37	4,60	4,44	3,57	5,08	4,89	7,16 (L-Val)	7,2	10,2	7,0	6,8	3,5	2,8	11,4 (L-Val) 8,5 (D-Leu) 7,2 (D-alle)		
			0,97	1,96									7,81 (D-Leu)								
III	CDCl ₃ — CD ₃ OD (1:1)	~0,01	0,98	~1,70	—	3,36	3,90—4,80		5,14; 5,34			7,53 (6,2)	**	**	**	**	3,0	3,0	**		
			0,94	1,01									7,40 (0,0)							**	
IV	CDCl ₃	0,05	0,86	~1,69	3,40	3,26	4,56	4,38	3,57	5,13	4,86	7,11 (L-Val)	5,6	10,0	7,1	7,2	6,0	3,8	10,5 (L-Val) 8,0 (D-Leu) 7,4 (D-Val)		
			0,93	2,33									7,81 (D-Leu)								
			1,03								7,90 (D-Val)						2,9				

* В скобках приведены значения $\Delta\delta/\Delta T \cdot 10^3$ м. д./град [для споридесмолида I — в CDCl₃—(CD₃)₂SO (3:2)].

** Значения не измерены из-за неблагоприятного отношения сигнал/шум.

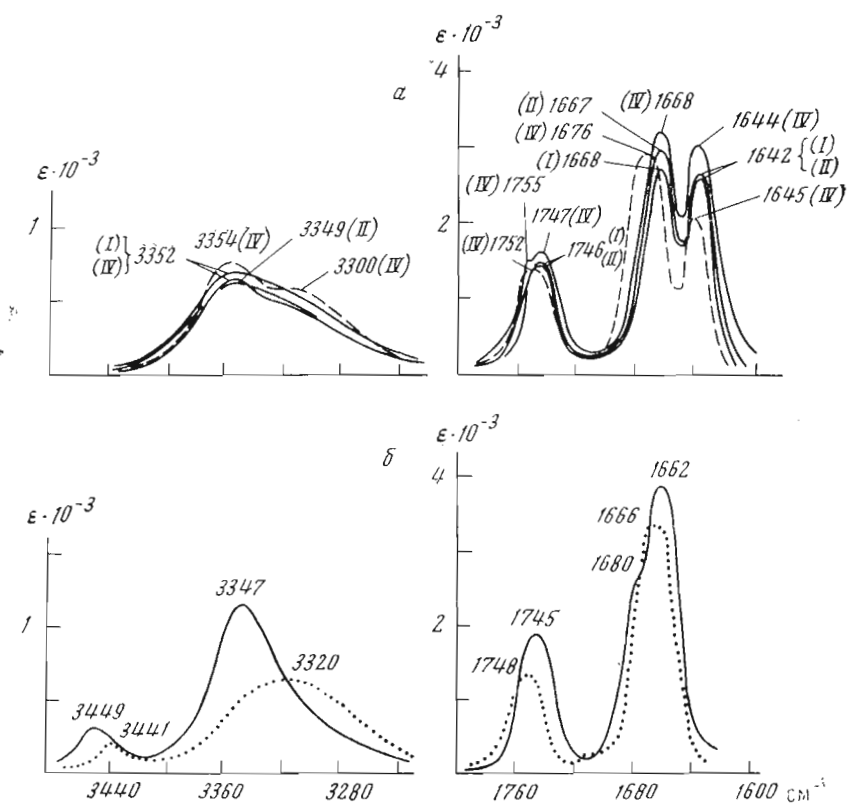


Рис. 2. ИК-спектры споридесмолидов в хлороформе: а – I, II, IV; штриховой линией показан спектр IV в CCl_4 ; б – III; пунктирной линией показан спектр V

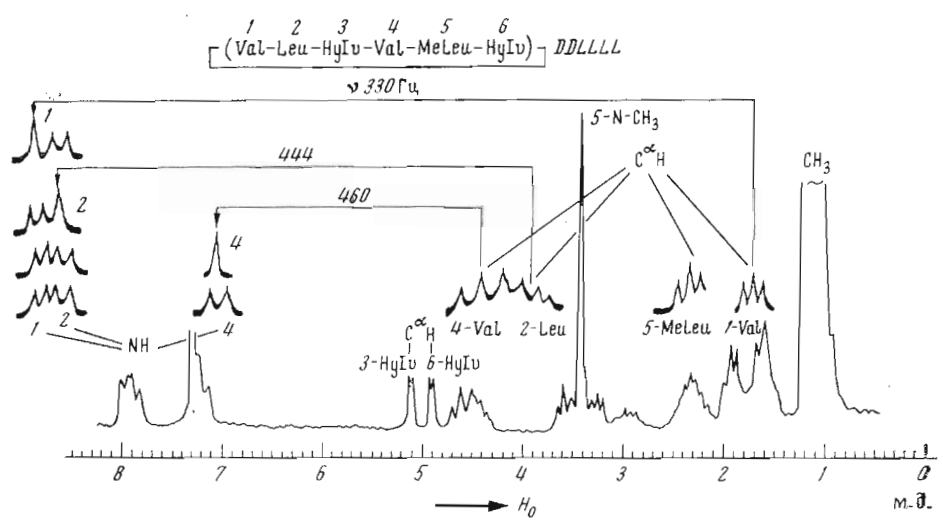


Рис. 3. Спектр ЯМР- ^1H споридесмолида в $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$

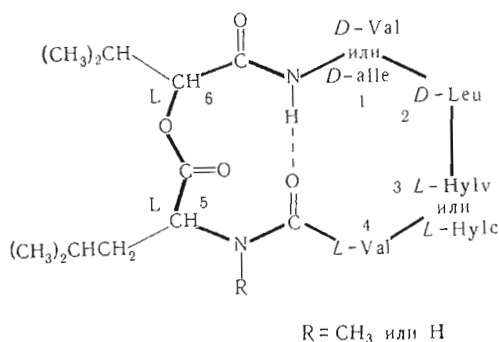


Рис. 4. Положение VMBC в споридесмолидах I–IV в полярных средах

ИК-спектре споридесмолидов I, II и IV, в области валентных колебаний групп NH, отсутствует полоса при 3449 см^{-1} , соответствующая у споридесмолида III одной свободной группе NH. Наблюдаемая широкая асимметричная полоса при $\sim 3350\text{ см}^{-1}$ с плечом при $\sim 3300\text{ см}^{-1}$ указывает на участие всех трех групп NH в VMBC. По аналогии с изученными ранее циклами мы отнесли их к трансаннулярным VMBC между 1-м и 4-м остатками и дополнительной H-связи типа 3→1 между NH (2-*D*-Leu) и CO (6-*L*-HyIv). При этом

учитывалось, что у споридесмолидов I, II и IV отсутствуют формы с *цис*-связями N-MeLeu, как следовало из отсутствия дополнительных сигналов в спектрах ЯМР-¹H (см. рис. 3).

Из двух возможных конформаций 7-членного цикла, замкнутого дополнительной VMBC, M и H (учитывая *D*-конфигурацию остатка 1, им отвечают соответственно значения $\Phi \sim 60^\circ$, $\psi \sim 60^\circ$ и $\Phi \sim -60^\circ$, $\psi \sim 60^\circ$), только

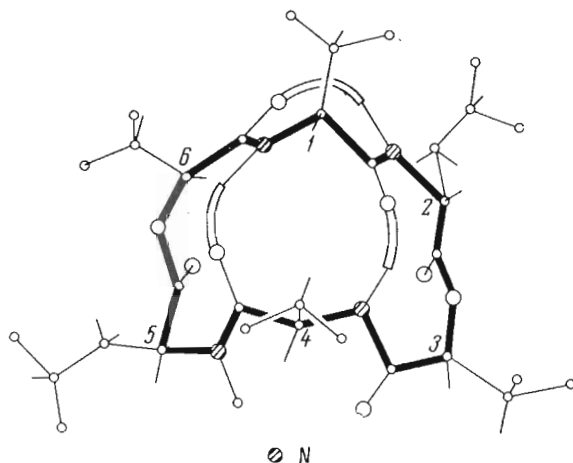


Рис. 5. Конформация споридесмолида I в неполярных средах

вторая согласуется с измеренными из спектров ЯМР-¹H константами $^3J_{\text{NHCH}}$ 6,3–7,4 Гц (табл. 1), [8, 9]. Высокие значения констант $^3J_{\text{NHCH}}$ 10,5–11,4 Гц остатков 4-*L*-Val указывают на *транс*-ориентацию протонов во фрагментах NH-C^αH, т. е. $\Phi \sim 120^\circ$. Из молекулярных моделей видно, что угол ψ , при этом фиксируется при $\sim 90^\circ$. Значения $^3J_{\text{NHCH}}$ 7,2–8,5 Гц остатков 2-*D*-Leu определяют угол $\Phi_2 \sim 80^\circ$, поскольку при меньших углах резко падает значение констант, а при больших — невозможно замыкание VMBC типа 4→1 [10].

Изложенными данными в значительной мере определяется пространственное строение споридесмолидов I, II и IV в неполярных средах; неясной остается лишь ориентация сложноэфирных карбонильных групп. При дальнейшем анализе с учетом положения разрешенных областей на конформационных картах молекул, моделирующих отдельные участки споридесмолидов

Таблица 2

Вычисленные значения двугранных углов Φ и Ψ

Угол, град	<i>D</i> -Val <i>D</i> -Alle *	<i>D</i> -Leu	<i>L</i> -HyIv <i>L</i> -HyIc *	<i>L</i> -Val	<i>L</i> -MeLeu	<i>L</i> -HyIv
Φ	-60	80	-60 ± 20	-120	40	-100 ± 40
Ψ	60	-80 ± 20	-20	90	-90 ± 30	-10 ± 20

* alle — алло-изолейцин, HyIc — оксизокапроновая кислота.

десмолидов (Ac-Ala-OMe, Ac-MeAla-OMe, Ac-HyIv-NHMe [11, 12], получили значения двугранных углов (табл. 2).

Расчитанные для них дипольные моменты основной депептидной цепи находятся в интервале 2,5–4,9 Д, включающем экспериментально найденные величины: 4,4 Д для (I) и 3,4 Д для (IV).

Из приведенных в табл. 1 значений констант спин-спинового взаимодействия следует, что протоны фрагментов $C^{\alpha}H-C^{\beta}H$ остатков α -оксизовалериановой кислоты имеют, как и у валиномицина [13], *гош*-ориентацию (J 2,8–3,8 Гц; χ_1 -60°), а *L*-валиновых остатков — *транс*-конформацию (J 10,0–10,2 Гц; χ_1 180°). Фрагмент $3-C^{\alpha}H-C^{\beta}H_2$ споридесмолида IV принимает преимущественно *гош*-конформацию (J_1 2,9 Гц, J_2 6,0 Гц; χ_1 60°), а 5 — $C^{\alpha}H-C^{\beta}H_2$ -*транс-гош*-конформацию (χ_1 -60 или 180°). Боковые цепи остатков *D*-Val и *D*-Alle не имеют четко выраженной *транс*-конформации (J 5,6–7,2 Гц). По-видимому, это связано с псевдоаксиальной ориентацией боковой цепи в конформации Н 7-членного цикла и возникающими отсюда стерическими затруднениями. Пространственная структура споридесмолида I в неполярных растворителях показана на рис. 5. Молекула компактна, ее депептидный остов изогнут сильнее, чем у описанных в предыдущем сообщении [1] синтетических аналогов споридесмолидов: сложноефирные карбоксильные группы ориентированы вниз по отношению к плоскости рисунка.

В полярных средах две BMBC разрушаются и сохраняется β -изгиб на участке 4–5–6–1 ($\Delta\delta/\Delta T$ $1,9 \cdot 10^{-3}$ м.д./град для групп NH остатка 1-*D*-Val в смеси $(CD_3)_2SO-CDCl_3$, 2:3). Другими словами, конформации споридесмолидов I и III (следовательно, и всех четырех природных депептидов этой группы) в полярных средах весьма близки и напоминают в общих чертах структуру антибиотиков туберактиномициновой группы в кристаллическом состоянии [14, 15]. Большая, чем у споридесмолида III, интенсивность полос дихроичного поглощения споридесмолидов I, II и IV в полярных средах, по-видимому, связана с присутствием N-метиламидных хромофорных групп.

Биологическая функция споридесмолидов еще не установлена. Нами было показано, что кривые КД споридесмолидов I и III в этаноле не изменяются при добавлении солей натрия или калия, т. е. споридесмолиды не являются комплексами щелочных металлов. Этот вывод согласуется с отсутствием у них антимикробной активности [16]. Учитывая химическую инертность споридесмолидов, а также их гидрофобность и термическую устойчивость (при температурах $>250^\circ$ они возгоняются без разложения), можно предположить, что роль споридесмолидов сводится к участию в образовании водоотталкивающей оболочки грибковых спор. В этом случае конформационная подвижность споридесмолидов может оказаться полезной для их эффективного взаимодействия с другими компонентами оболочки спор.

Экспериментальная часть

В работе использовали синтетические образцы споридесмолидов I–IV. Перед физико-химическими измерениями их высушивали над P_2O_5 при 0,5 мм и 50° 16 ч. Кривые КД измеряли на спектрополяриметре «Сагу-60» с приставкой для получения кривых КД «Сагу-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 cm^{-1} – 20 мм; 1800–1600 cm^{-1} – 5 мм; концентрация растворов $(5,4-5,6) \cdot 10^{-4}$ моль/л. Спектры ЯМР- 1H снимали на приборе JNM 4H-100 (100 МГц); в качестве внутреннего стандарта использовали тетраметилсилан (δ 0,0 м.д.). Химические сдвиги определяли с точностью $\pm 0,01$ м.д., константы спин-спинового взаимодействия – с точностью $\pm 0,1$ Гц. Температуру измеряли медь-константановой терморпарой с точностью $\pm 2^\circ$. Соотношение протонов, связанных спин-спиновым взаимодействием в спектрах ЯМР- 1H , определяли методом двойного резонанса (см. рис. 3). Химические сдвиги сигналов $C^{13}N$ в ряду споридесмолидов I, II и IV почти не изменялись. Исключение составлял сигнал $C^{13}N$ остатка D-але, смещенный на 0,41 м.д. в область более слабого поля по сравнению с D-Val, что и позволило отнести сигналы остатков в положениях 1 и 4 (см. табл. 1). Оксикислотные сигналы $C^{13}N$ при 5,08–5,13 м.д. легко соотносятся к положению 3 по мультиплетности сигнала Ну1с споридесмолида IV. Константы $^3J_{NH-SH}$ в табл. 1 и тексте приведены с учетом поправки на электроотрицательность заместителей ($J_{испр.} = 1,09 J_{эсл.}$) [10]. О методе измерения дипольных моментов см. в работе [4], об определении параметров Φ и ψ – в [1].

Авторы признательны Е. С. Ефремову за измерения дипольных моментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов В. Т., Лавринович И. А., Портнова С. Л., Спассов С. Л., Мецержакова Е. А., Архипова С. Ф., Сеявина Л. Б., Овчинников Ю. А. (1975) Биорган. химия, 1, 25–32.
2. Иванов В. Т., Портнова С. Л., Балашова Т. А., Быстров В. Ф., Шилин В. В., Берлат Я., Овчинников Ю. А. (1971) Химия природн. соедин., 339–347.
3. 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.
4. Иванов В. Т., Сеявина Л. Б., Ефремов Е. С., Шилин В. В., Овчинников Ю. А. (1971) Химия природн. соедин., 347–354.
5. Shemyakin M. M., Ovchinnikov Yu. A. (1967) «Recent Developments in the Chemistry of Natural Carbon Compounds» (R. Bogner, Bruckner V., Fodor G., Szantay Cs., eds.) Publ. Hous. of the Hung. Acad. Sci., Budapest, vol. 2, p. 1.
6. Овчинников Ю. А., Кирюшкин А. А., Шемякин М. М. (1966) Ж. общ. химии, 36, 620–626.
7. Bishop E., Russell D. W. (1967) J. Chem. Soc., C, 634–639.
8. Иванов В. Т., Костецкий П. В., Мецержакова Е. А., Ефремов Е. С., Попов Е. М., Овчинников Ю. А. (1973) Химия природн. соедин., 363–369.
9. IUPAC–IUB Commission. (1970) J. Mol. Biol., 52, 1–12; Biochemistry, 9, 3471–3477; (1971) Arch. Biochem. Biophys., 145, 405–412.
10. Bystrov V. F., Ivanov V. T., Portnova S. L., Balashova T. A., Ovchinnikov Yu. A. (1973) Tetrahedron, 29, 873–877.
11. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф. (1971) Изв. АН СССР. Сер. хим., 312–317.
12. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Шлетнев В. З., Архипова С. Ф. (1971) Химия природн. соедин., 184–187.
13. Иванов В. Т., Лайне И. А., Абдуллаев Н. Д., Шлетнев В. З., Липкинд Г. М., Архипова С. Ф., Сеявина Л. Б., Мецержакова Е. А., Попов Е. М., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А. (1971) Химия природн. соедин., 221–229.
14. Yoshioka H., Aoki T., Goko H., Nakatsu K., Noda T., Sakakibara H., Take T., Nagata A., Wakamiya T., Shiba T., Kaneko T. (1971) Tetrahedron Lett., 2043–2049.
15. Bycroft B. W. (1972) Chem. Comm., 660–665.
16. Shemyakin M. M., Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Kiryushkin A. A., Zhdanov G. L., Ryabova I. D. (1963) Experientia, 19, 566–571.

Поступила в редакцию
27.VI.1974

STUDY OF CONFORMATIONAL STATES OF CYCLOPEPTIDE SYSTEMS.

XIII. SPATIAL STRUCTURE OF SPORIDESMOLIDES I—IV

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

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

The spatial structure of naturally occurring cyclohexadepsipeptides sporidesmolides I—IV was studied using CD, IR and NMR-¹H methods combined with theoretical conformational analysis. Sporidesmolides I—IV were shown to possess a higher degree of conformational mobility than their previously studied synthetic analogues. In non-polar solvents rigid compact conformation are found with two transannular 4→1 intramolecular hydrogen bonds and one additional 3→1 bond, the ester carbonyls being oriented down with respect to the average ring plane. In polar media more flexible structures are formed with one «β-turn» at the 4-5-6-1 site.
