

Искусственные ионные каналы

И.И.Стойков, И.С.Антипин, А.И.Коновалов

Казанский государственный университет, Химический факультет
420008 Казань, ул. Кремлевская, 18, факс (843) 231–5416
Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова
Казанского научного центра Российской академии наук
420088 Казань, ул. А.Е.Арбузова, 8, факс (843) 238–7577

В обзоре систематизированы подходы к конструированию искусственных ионных каналов, а также собраны данные об их строении, стабильности и электропроводящих свойствах.
Библиография — 104 ссылки.

Оглавление

I. Введение	1190
II. Соединения, используемые в качестве моделей природных каналов	1192
III. Искусственные трансмембранные ионные каналы на основе циклических пептидов	1195
IV. Супрамолекулярные ионные каналы на основе протяженных линейных молекул	1198
V. Ионные каналы на основе краун-эфиров	1204
VI. Использование «букетных» структур для конструирования синтетических ионных каналов	1206
VII. Использование каликсареновой платформы для построения ионных каналов	1208
VIII. Заключение	1212

I. Введение

Транспорт ионов через фосфолипидные мембраны является одним из важнейших условий функционирования живых организмов.^{1–4} Основной функцией фосфолипидного бислоя является создание барьера для проникновения гидрофиль-

ных молекул и ионов, находящихся в граничащих с клеткой водных фазах, внутрь клетки. Эту функцию выполняет гидрофобный внутренний слой фосфолипидной мембраны. Тем не менее через них селективно и с высокой скоростью проходят некоторые полярные соединения и ионы. Такая избирательная проницаемость природных мембран для различных частиц необходима для протекания многих биологических процессов.

Транспорт ионов через мембрану может осуществляться либо с помощью молекул-переносчиков, либо через трансмембранные каналы. В биологических системах транспорт ионов (биологический транспорт) происходит главным образом через ионные каналы, роль которых выполняют соответствующие белки, образующие в фосфолипидных мембранах каналные структуры (каналные белки), причем центры связывания транспортируемых веществ в таких белках доступны с обеих сторон мембраны одновременно. Перенос ионов в этом случае происходит чрезвычайно быстро (10^6 – 10^8 ион $\cdot$ с⁻¹ на один каналный белок).^{4–7}

Скорость транспорта ионов через мембрану с помощью переносчиков на несколько порядков меньше. Такие различия в скоростях связаны с рядом причин. Одной из важнейших является то, что каналные белки не претерпевают серьезных конформационных изменений при переносе ионов с одной стороны мембраны на другую, тогда как в молекулах-переносчиках при связывании транспортируемых ионов на одной стороне мембраны и их высвобождении на другой стороне происходят определенные конформационные изменения. Кроме того, центры связывания транспортируемых веществ в молекулах-переносчиках доступны только с одной стороны мембраны.

Для искусственного транспорта ионов чаще применяют молекулы-переносчики, чем трансмембранные каналы. Это

И.И.Стойков. Кандидат химических наук, доцент кафедры органической химии химического факультета КГУ, старший научный сотрудник лаборатории химии каликсаренов ИОФХ им. А.Е.Арбузова КНЦ РАН. Телефон: (843)231–5462, e-mail: Ivan.Stoikov@ksu.ru

Область научных интересов: органическая химия, синтез макроциклов, каликсарены, молекулярное распознавание, супрамолекулярные системы, мембранная экстракция.

И.С.Антипин. Член-корреспондент РАН, профессор, заведующий кафедрой органической химии химического факультета КГУ, заведующий лабораторией химии каликсаренов ИОФХ им. А.Е.Арбузова КНЦ РАН. Телефон: (843)231–5463, e-mail: iantipin@ksu.ru

Область научных интересов: термодинамика межмолекулярных взаимодействий, СН-кислотность, синтез и комплексообразующая способность макроциклических соединений, супрамолекулярная химия.

А.И.Коновалов. Академик, председатель Президиума Казанского научного центра РАН, заведующий отделом супрамолекулярной химии ИОФХ им. А.Е.Арбузова КНЦ РАН, профессор КГУ. Телефон: (843)238–7597, e-mail: konovalov@mail.knc.ru

Область научных интересов: синтез и реакционная способность органических, элементоорганических и супрамолекулярных соединений.

Дата поступления 14 марта 2003 г.

связано с тем, что искусственные трансмембранные каналы представляют собой сложноорганизованные соединения. Синтез и установление трехмерной структуры таких соединений сопряжены с большими трудностями. Тем не менее искусственные транспортные системы чрезвычайно важны, поскольку их изучение способствует более глубокому пониманию свойств канальных белков на молекулярном уровне и формирует основу для создания новых фармацевтических препаратов и систем доставки лекарств.^{1,8} Трансмембранные каналы осуществляют ионный перенос через мембраны в соответствии с поточным или прыжковым механизмом.^{1–4}

В последнее десятилетие ведутся интенсивные исследования биомиметических трубчатых структур, моделирующих природные ионные каналы,^{9–17} которые можно внедрять в бислоиные мембраны толщиной 3–5 нм. В зависимости от типа молекулы, образующей канал, и общих особенностей ее структуры, а также от природы центров связывания ионов и их относительного пространственного расположения синтетические ионные каналы подразделяются на различные типы. Некоторые из них схематично представлены на рис. 1.

Природные канальные белки состоят из двух главных функциональных единиц: «ворот» и «поры».⁸ Под «порой» понимают путь проникновения ионов через мембрану, а под «воротами» — механизм включения и выключения ионного потока. Ионы, проходящие через канал, рассматриваются как ионный поток. Ионный поток через мембрану зависит от разности электрохимических потенциалов по обе стороны мембраны. Мерой эффективности ионного потока является проводимость — величина, обратная сопротивлению.

Рассмотрим три основные характеристики ионных каналов:^{2,8} 1) время достижения каналом постоянной проводимости (т.е. время поддержания постоянной геометрической структуры канала, например, критической длины и диаметра поры); 2) ионную селективность, обусловленную энергетической и геометрической комплементарностью ионов и пор канала; и 3) тип воротного механизма (открытия-закрытия) канала.

Проводимость ионного канала зависит от размера поры, ее длины и диэлектрической постоянной. Ионная селективность также зависит от многих факторов, таких как размер поры, энергия дегидратации ионов, электростатическое взаимодействие между ионами и образующими пору аминокислотными остатками. (Для измерения канальной

активности синтетических пептидов часто используется метод плоских бислоев.⁸)

В зависимости от типа воротного механизма ионные каналы делятся на сенсорные, лигандные и механические. В сенсорных (потенциал-управляемых или электровозбудимых) каналах открытие канала происходит под действием электрического сигнала. К таким каналам относятся, например, быстрые Na^+ -каналы² или потенциал-управляемые K^+ -каналы, которые реагируют на изменения потенциала в нервных клетках (рис. 2,а).⁸ В лигандных (лиганд-управляемых или хемовозбудимых) каналах открытие или закрытие канала вызывают химические изменения, происходящие под действием соответствующего лиганда. К таким каналам относятся, например, никотиновые холинэргические рецепторы (рис. 2,б). В механических (механочувствительных) каналах открытие канала происходит в результате расширения клеточной мембраны. Каналы данного типа участвуют в процессах сокращения мышц и в контроле осмотического давления и объема клеток.

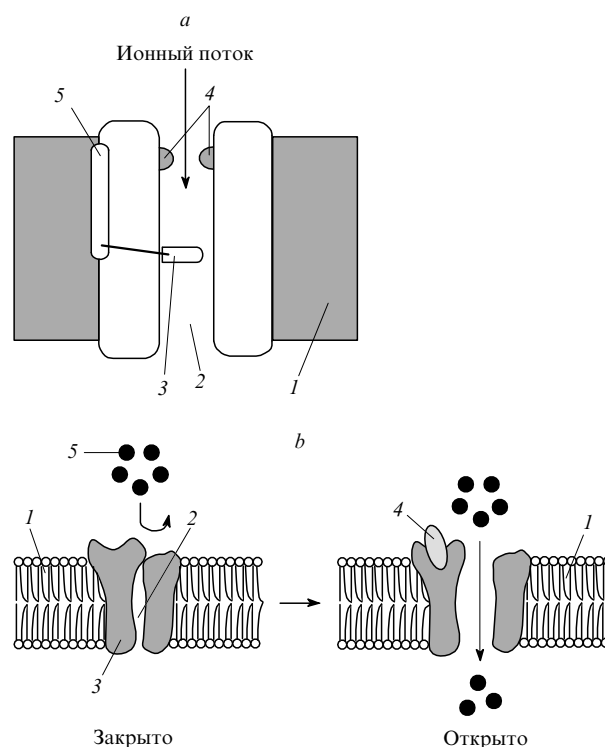


Рис. 2. Схематическое изображение ионных потенциал-управляемого (а) и лиганд-управляемого (б) каналов. Обозначения на рисунке а: 1 — мембрана, 2 — пора, 3 — ворота, 4 — ионный фильтр, 5 — потенциал-чувствительный фрагмент. Обозначения на рисунке б: 1 — мембрана, 2 — пора, 3 — лиганд-управляемый фрагмент, 4 — лиганд, 5 — ионы.

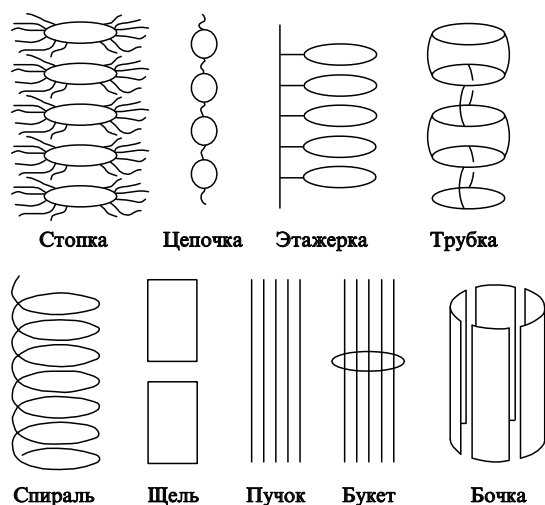


Рис. 1. Типы структур ионных каналов.

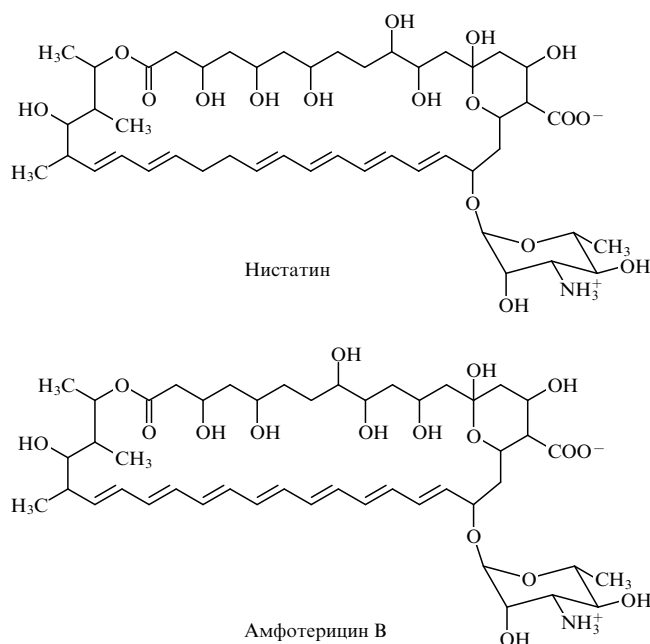
К настоящему времени предложено несколько подходов к дизайну ионных каналов и ионно-чувствительных мембранных систем, отличающихся высокой чувствительностью и избирательностью.¹⁸ Причем рост интереса к детектированию биологически активных веществ *in vitro* и *in vivo* (например, в отдельных клетках, в срезах тканей и органах), а также к созданию наноразмерных лекарственных препаратов и ионно-молекулярных устройств стимулирует исследования в области конструирования синтетических ионных каналов.

II. Соединения, используемые в качестве моделей природных каналов

По структуре и свойствам канальных белков, осуществляющих биологический транспорт, накоплен обширный материал.^{1–4} Расшифрована аминокислотная последовательность многих канальных белков. Однако до сих пор при изучении структуры и механизма работы каналов приходится прибегать к модельным системам, что связано со сложностью рентгеноструктурных исследований транспортных белков. Большие возможности для подобного моделирования открывает применение олиго- и полипептидов (например, некоторых токсинов,^{19, 20} полиеновых (нистатина, амфотерицина В) и пептидных (грамицидина А, аламетицина и меллитина)^{21–23} антибиотиков), способных образовывать в бислойных фосфолипидных мембранах каналоподобные ассоциаты.

1. Нистатин и амфотерицин В

Полиеновые антибиотики — амфотерицин В,^{24–26} филипин²⁵ и нистатин²⁷ — мембраноактивные противогрибковые препараты. По-видимому, литическая активность[†] и способность данного типа антибиотиков индуцировать с низкой селективностью потерю из клеток низкомолекулярных соединений обусловлены их ассоциацией со стероидами мембраны с формированием пор. Образование таких комплексов зафиксировано методом ЯМР.^{21, 26}



Молекулы полиеновых антибиотиков в количестве от 8 до 10 штук образуют в бислое мембраны трубчатую структуру (пору), в которой гидроксильные группы направлены внутрь.^{22, 28} Диаметр такой поры составляет около 8 Å, и в ней свободно размещаются молекулы воды. Для образования канала в фосфолипидном бислое необходимы две цилиндрические структуры, расположенные «хвост к хвосту». Такой канал, неполярный снаружи, но гидрофильный внутри, заканчивается полярными фрагментами аминокислот. Ассоциация и диссоциация трубчатого ансамбля молекул полиена приводит соответственно к открытию и закрытию канала.^{22–28}

[†] Литическая активность — способность соединения вызывать разрыв клеточной стенки.

2. Грамицидин А и аламетицин

Наиболее полно охарактеризован ионный канал, образуемый грамицидином А^{2, 29, 30} — гидрофобным пептидом, который состоит из чередующихся L- и D-аминокислот³¹ (HCO–L-Val–Gly–L-Ala–D-Leu–L-Ala–D-Val–L-Val–D-Val–L-Trp–D-Leu–L-Trp–D-Leu–L-Trp–D-Leu–L-Trp–NHCH₂CH₂OH). Этот ионный канал построен из двух молекул грамицидина А, расположенных «голова к голове» N-концевыми фрагментами в β(L,D)-спиральной конфигурации³² (рис. 3,а). В такой спиральной структуре все боковые цепи располагаются снаружи, а карбонильные группы — внутри канала. Общая длина грамицидинового канала составляет ~30 Å; наружный и внутренний диаметры равны соответственно 15 и 5 Å. Благодаря небольшому внутреннему диаметру канала транспортируемые молекулы могут проходить через канал только поодиночке. Грамицидиновый канал является катион-селективным,³³ хотя сам грамицидин А чрезвычайно гидрофобен и не содержит ни одной полярной аминокислоты. Проводимость одиночного канала, образуемого грамицидином, довольно велика. При концентрации RbCl в омывающем мембрану растворе, равной 100 ммоль·л^{–1}, катионная проводимость канала (по Rb) составляет 30·10^{–12} Ом^{–1} на один канал,² в то время как проницаемость по хлорид-аниону равна нулю.³⁰ Такая избирательность связана с электростатическим отталкиванием анионов диполями карбонильных групп в воротах канала. Проницаемость грамицидинового канала для одновалентных катионов изменяется в следующем ряду: Cs⁺ > Rb⁺ > K⁺ > Na⁺ > Li⁺. Селективность, проявляемая грамицидиновым каналом в отношении данных катионов, невелика: она соответствует пятикратному изменению коэффициентов проницаемости. Открытие грамицидинового канала происходит в результате ассоциации мономеров, образующих димер, а его закрытие — в результате диссоциации димера (рис. 3,а). Время жизни димера составляет ~10^{–3} ÷ 10 с и зависит от липидного состава мембраны и других факторов.^{2, 29, 30} Следует отметить, что грамицидиновый канал не является потенциал-зависимым.

Аламетицин (Alm) — пептидный антибиотик, состоящий из 20 аминокислотных остатков, который формирует в искусственных^{34–37} и биологических³⁸ мембранах трансмембранные каналы с переменным числом ассоциированных субъединиц. Механизм ионного транспорта аламетицином достаточно хорошо исследован. Пептид образует в бислое α-спирали, которые, ассоциируясь друг с другом, формируют канал, состоящий из нескольких соединенных между собой α-спиралей^{39–43} (рис. 3,б). Его проводимость, в отличие от грамицидинового канала, зависит от потенциала, приложенного к поверхности бислойной мембраны. Аламетициновые каналы начинают проводить ионы (Na⁺, K⁺) только при положительном трансмембранном потенциале (> 60 мВ).

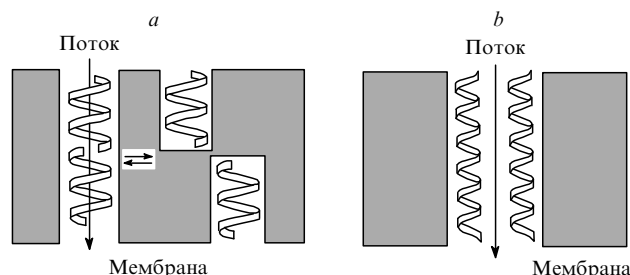


Рис. 3. Схематическое изображение ионных каналов, образуемых под действием осмотического давления в фосфолипидных мембранах пептидными антибиотиками — грамицидином А (а) и аламетицином (б).

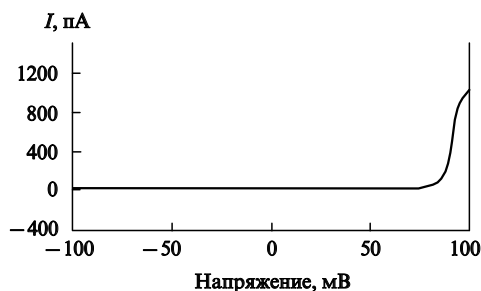


Рис. 4. Вольтамперная характеристика аламетицинового канала (130 пмоль аламетицина, 1 М KCl, яичный фосфатидилхолин – яичная фосфатидная кислота – холестерин, 10 циклов от –100 до 100 мВ при $5.7 \text{ мВ} \cdot \text{с}^{-1}$).

Таким образом, они представляют собой наноразмерные ионные диоды, которые, подобно макроскопическим диодам, способны проводить ток в одном направлении. Вольтамперная характеристика аламетицинового канала, сформированного в плоском бислое на основе смешанного липида (яичный фосфатидилхолин – яичная фосфатидная кислота – холестерин в мольном соотношении 8 : 2 : 1), представлена на рис. 4.

3. Ионные каналы на основе модифицированных пептидов и антибиотиков

Футаки с соавт.³⁴ получил каналный пептид Alm–LeuZ путем ковалентной пришивки лейцинобогатого олигопептида (LeuZ) к ионофору — аламетицину (Alm). В результате такой пришивки удается осуществлять экстрамембранный контроль за ассоциацией каналных пептидов Alm–LeuZ (рис. 5) и таким образом изменять каналную проводимость. Здесь Alm–LeuZ = Ac–Alm–Gly–Gly–Gly–Gly–LeuZ–CONH₂, Alm = UPUAUAQUVUGLUPVUUEQF, LeuZ = RXKQLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGE, где U — R-аминоизомасляная кислота (Aib), X — норлейцин (Nle), A — Ala, D — Asp, E — Glu, F — Phe, G — Gly, H — His, K — Lys, L — Leu, N — Asn, P — Pro, Q — Gln, R — Arg, S — Ser, V — Val, Y — Tyr.

Проводимость такого одиночного ионного канала в 1 М KCl составляет $120 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$. Данный канал является потенциал-зависимым. Конформационные переходы от спиральной к разупорядоченной структуре, происходящие в экстрамембранных сегментах, регулируют ионную проводимость канала. Таким образом, была показана возможность контроля за функционированием канала путем изменения конформации присоединенного синтетического экстрамембранного фрагмента.

В 1977 г. Бамберг и Жанко,⁴⁴ соединив две молекулы грамицидина А с помощью малоновой кислоты, получили малонилбис(дезформил)грамицидин. Было установлено, что этот ковалентно связанный димер образует в бислойной липидной мембране канал, проводимость и ионная селективность которого остаются такими же, как у грамицидинового канала, тогда как время жизни его в открытом состоянии существенно увеличивается. Если для грамицидинового одиночного канала оно составляет 1–2 с, то для малонилбис(дезформил)грамицидинового одиночного канала оно измеряется в минутах.

Арт с соавт.⁴⁵ также использовал молекулы грамицидина А в качестве строительных блоков для создания искусственных ионных каналов с долгоживущей активной конформацией (в отличие от природных короткоживущих димеров грамицидина). Для этого две молекулы грамицидина сшивали С₄-линкерами на основе янтарной кислоты.

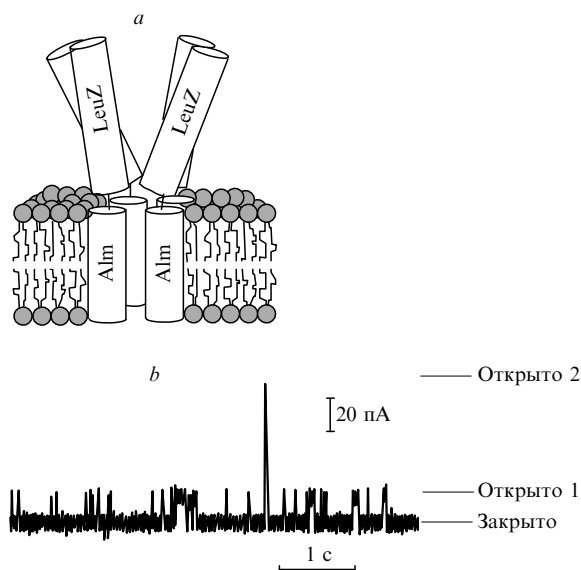


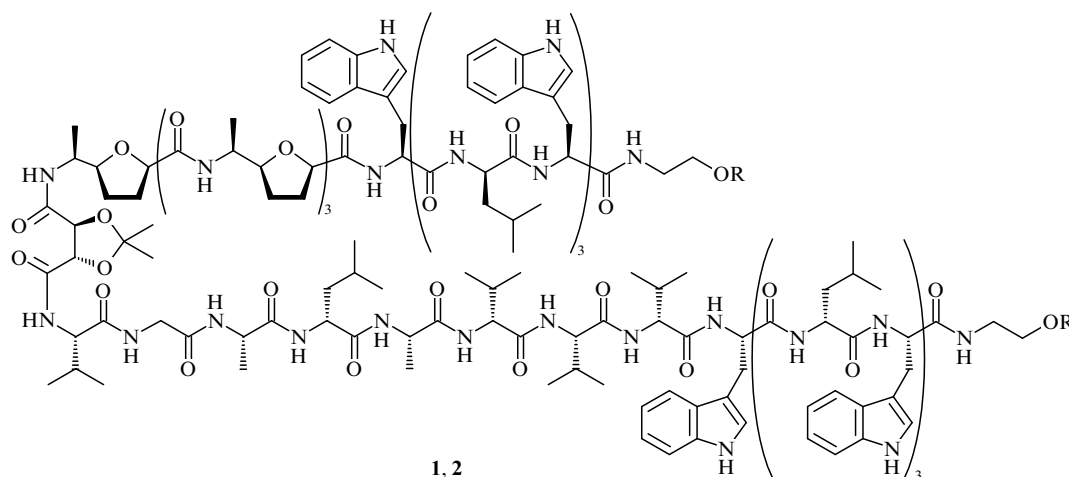
Рис. 5. Схематическое изображение одиночного канала, образованного в липидном бислое ассоциацией субъединиц модифицированного аламетицина Alm–LeuZ (50 нмоль Alm–LeuZ) (a) и запись тока, проходящего через этот одиночный канал, при 100 мВ (b).³⁴ Открыто 1 и Открыто 2 — уровень тока, наблюдаемый при двух различных конформациях канала.

Для изучения феномена активной конформации каналного белка прямыми методами была создана серия искусственных каналов на основе грамицидина с продолжительным временем жизни в открытом состоянии в растворе. Синтезированные для этих целей соединения содержали молекулы грамицидина, связанные различными С₄-линкерами. Было изучено влияние линкеров на поведение канала.⁴⁵

В последнее десятилетие ионные каналы на основе грамицидина и других антибиотиков, а также модифицированных пептидов стали использовать в качестве сенсорных элементов. Такие каналы, встроенные в бислойную липидную мембрану, обладают высокой чувствительностью и избирательностью.¹⁸ В работах^{46,47} описаны сенсоры, в которых использовались химически модифицированные грамицидин и аламетицин. Так, на основе грамицидиновых ионных каналов, ковалентно связанных с антителами, были созданы биосенсоры для определения белков, вирусов, антител, ДНК, электролитов, лекарственных веществ и пестицидов. Ионная проводимость таких каналов регулируется взаимодействием субстратов с антителами, соединенными через биотиновые мостики с молекулами грамицидина.

Хорошо известно, что тетрагидрофуран способен эффективно сольватировать катионы металлов. В связи с этим при создании катион-проводящих синтетических пептидных каналов было предложено использовать олиготетрагидрофураны и ТГФ-замещенные аминокислоты. Так, на основе ТГФ-содержащих аминокислот были синтезированы катионные каналы с биомиметическим входом и выходом.⁴⁸

Биомиметическим фрагментом полученных структур 1 и 2 является грамицидин А. На входе и выходе каналов 1 и 2 имеются по четыре остатка триптофана. По-видимому, боковые индольные группы триптофана способствуют стабилизации структуры каналов 1 и 2 за счет их водородного связывания с полярными группами липидной мембраны и электростатического диполь-дипольного взаимодействия с поверхностным зарядом мембраны. Соединения 1 и 2 содержат гептапептид (L-Trp–D-Leu)₃–L-Trp, тетра-ТГФ-пеп-



R = Bu*Ph₂Si (1), H (2).

тидный фрагмент, линкер на основе винной кислоты[‡] и пентадекапептид — грамицидин А.

В соединении **1** концевые фрагменты этаноламина защищены липофильными *трет*-бутилдифенилсилильными группами, а в соединении **2** — свободны. Соединение **1** при включении в липидный бислой образует канал с разными уровнями проводимости, что свидетельствует о существовании нескольких активных конформаций канала. Первая конформация (с проводимостью $15.4 \cdot 10^{-12}$ Ом⁻¹) со средней продолжительностью существования в открытом состоянии 500 мс ответственна за прохождение ~30% катионов через канал. Вторая конформация ($19.7 \cdot 10^{-12}$ Ом⁻¹) реализуется реже, однако ее вклад в общий поток катионов больше, так как ее время жизни в открытом состоянии составляет ~15 с. Канал **1** продемонстрировал селективность по отношению к одновалентным катионам ($\text{NH}_4^+ > \text{Cs}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+$). Поскольку прохождение катионов через канал сопровождается, по крайней мере, частичной потерей ими гидратной оболочки, появление такой селективности обусловлено различиями в энергиях дегидратации катионов.

Электрохимические эксперименты с грамицидином D, проведенные группой Вонга,⁵⁰ посвящены изучению влияния концентрации грамицидина в бислойной липидной мембране на свойства формируемых им каналов. Предполагается, что при больших концентрациях грамицидина каналы в бислойной липидной мембране представлены только димерами.

Футаки⁸ сообщил о новом подходе к созданию натриевых ионных каналов на основе пептидного темплата H-Cys(Acm)-Lys-Cys(SH)-Pro-Gly-Cys(MBzl)-Glu-Cys(Ad)-Gly-OH (рис. 6). Им было синтезировано соединение, которое содержало четыре разных α-пептида ([NaI]–[NaIV]), присоединенных к данному пептидному темплату.

Схема сборки такого пептидного ионного канала представлена на рис. 7. К N-концевым фрагментам аминокислотных последовательностей пептидов [NaI]–[NaIV] в качестве спейсера была присоединена хлорацетил-γ-аминомасляная кислота. Все α-пептиды [NaI]–[NaIV] присоединялись к темплату за счет взаимодействия хлорацетильных фрагментов со свободными SH-группами темплата после избирательного удаления S-защитных групп. Полученный таким образом белок показал ионно-канальную активность в липидных бислоях, которая зависела от конформационных изменений канала, происходящих при изменении приложенного к мембране напряжения.

[‡] (S,S')-Винная кислота успешно использовалась и ранее в качестве мостика для ковалентной сшивки грамицидинового димера «голова к голове».⁴⁹

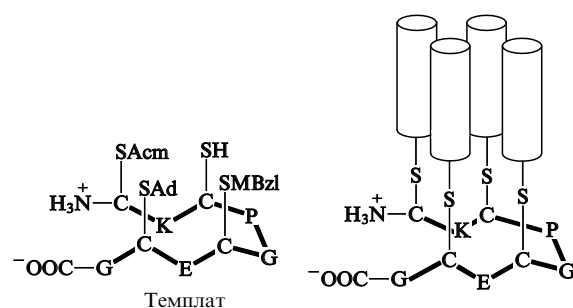


Рис. 6. Нонапептидный темплат и собранный на его основе искусственный ионный канал.

Принятые обозначения: C — Cys, K — Lys, P — Pro, G — Gly, E — Glu, Acm — ацетамидометил, MBzl — *n*-метоксibenзил, Ad — 1-адамантил.

4. Токсины

Токсины, способные образовывать каналы в бислойной мембране, также часто используются в качестве моделей ионных каналов. Наиболее интересным представляется вопрос о спонтанном встраивании этих водорастворимых гидрофильных белков в мембранный бислой. Для изучения этого вопроса использовали тионины и эпсилон-токсин.^{4,19} Тионины — это небольшие цистеинсодержащие амфипатические растительные белки. Многие из них токсичны для микроорганизмов и клеток млекопитающих. Хьюдженс и соавт.¹⁹ показали, что β-пуротионин, выделенный из пшеничной муки, может формировать катион-селективные ионные каналы в искусственных и биологических бислойных липидных мембранах (плазмалемме нейронов гиппокампа крыс), с чем, вероятно, и связана токсичность β-пуротионина и других тионинов по отношению к клеткам.

Пети с соавт.²⁰ продемонстрировал, что эпсилон-токсин, производимый микроорганизмом *Clostridium perfringens*, формирует в липидных мембранах широкие каналы, способные переносить вещества с молекулярной массой до 1 кДа, например 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромид. Ионная проводимость этого токсина в искусственной бислойной мембране составляет $50 \cdot 10^{-12}$ Ом⁻¹ при концентрации KCl, равной 100 мкмоль·л⁻¹.

Метод темплатной сборки синтетических пептидов был применен также для получения разветвленного пептида, содержащего фрагмент δ-токсина.⁵¹ Этот пептид использо-

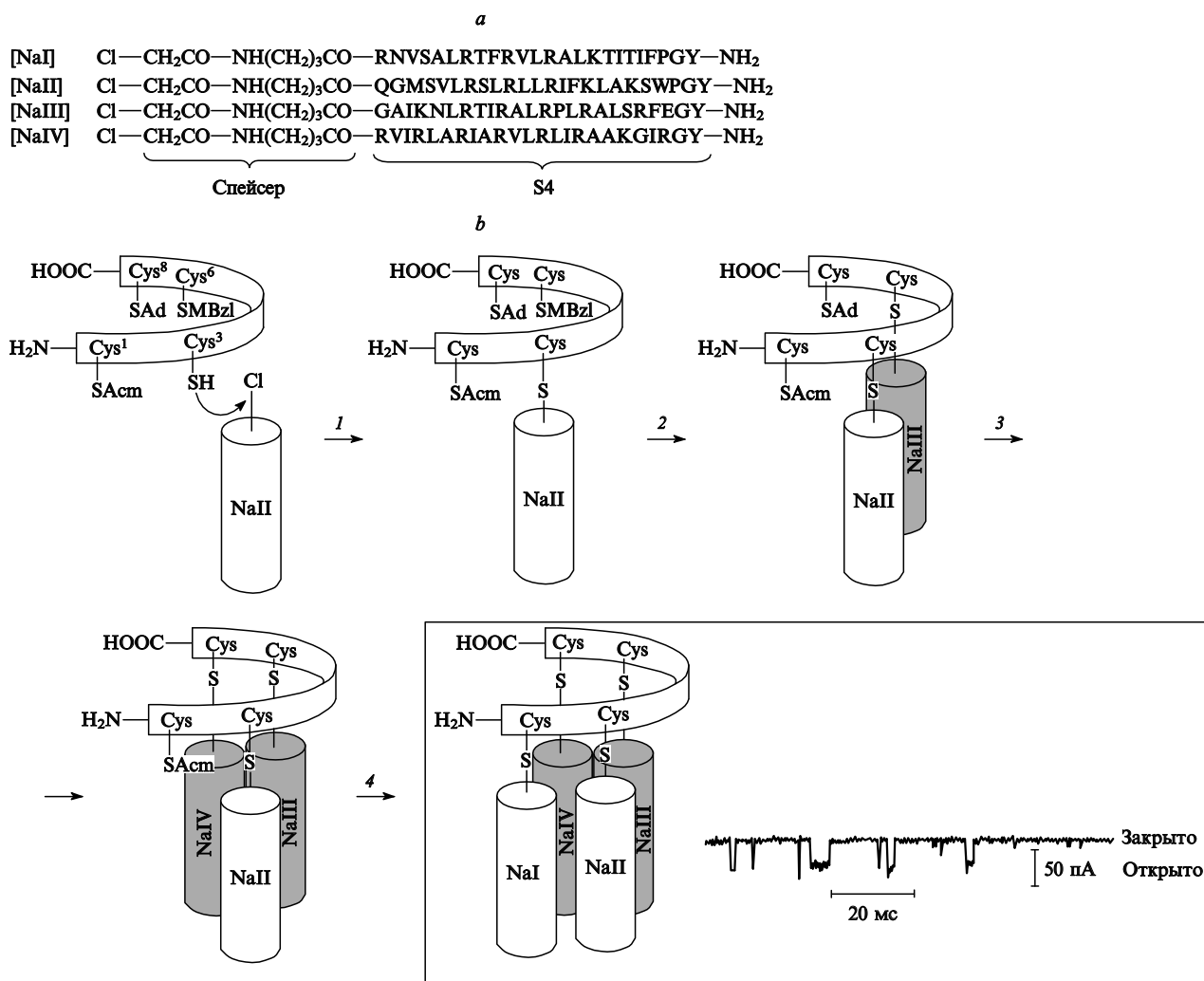


Рис. 7. Синтез четырехспирального «пучкового» пептидного натриевого канала [NaI]–[NaIV], содержащего пептидные потенциал-чувствительные сегменты (S4). Обозначения аминокислотных остатков см. в тексте, I — изолейцин, T — треонин.
a — Дизайн пептидных сегментов, *b* — сборка и профиль одиночного пептидного канала.
1 — Введение [NaII] в системе 6 М раствор гидрохлорида гуанидина–0.1 М трис-буфер (pH 8), 2 — снятие MBzl-защитной группы действием 1 М Me₃SiBr — тиоанизола в ТГФ и введение [NaIII] (в условиях *1*), 3 — снятие Ad-защиты действием 1 М CF₃SO₃H — тиоанизола в ТГФ и введение [NaIV] (см. *1*), 4 — снятие Acst-защитной группы действием AgOSOCF₃ в ТГФ и введение [NaI] (см. *1*).

вали в качестве модели для изучения структуры и транспортных свойств δ -токсина.

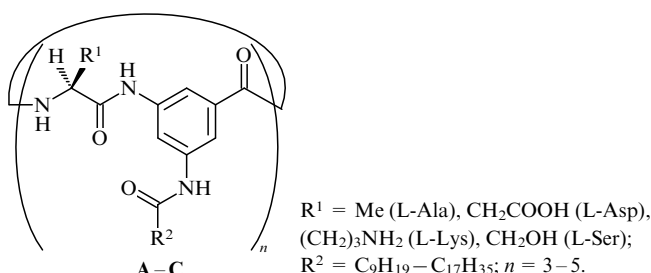
III. Искусственные трансмембранные ионные каналы на основе циклических пептидов

1. Циклические пептиды, состоящие из чередующихся природных и абиотических аминокислот

Циклические пептиды обычно образуют в бислойных мембранах гидрофильные ионные каналы в виде стопок. Такие каналы формируются в результате специфических межмолекулярных взаимодействий либо между пептидными фрагментами самого макроцикла, либо между аминокислотными остатками боковых цепей. Возможность образования циклическими пептидами подобного рода ассоциатов (см. рис. 1) была предсказана еще в 1972 г. Хэссалом с соавт.⁵² Позднее методом рентгеноструктурного анализа было показано,¹¹ что циклические тетрапептиды, состоящие из чередующихся остатков α - и β -аминокислот, за счет водородного

связывания циклических фрагментов упаковываются в стопки с образованием полых цилиндрических структур.

Японские исследователи⁵³ на основе одной абиотической (5-(*n*-алканоиламино)-3-аминобензойной кислоты) и одной природной (L-аланин, L-аспарагиновая кислота, L-лизин и L-серин) аминокислот синтезировали циклические пептиды А–С, содержащие от 3 до 5 дипептидных единиц (рис. 8). Неприродная аминокислота придавала циклическим пептидам структурную жесткость.



$R^1 = \text{Me (L-Ala), CH}_2\text{COOH (L-Asp), (CH}_2\text{)}_3\text{NH}_2 \text{ (L-Lys), CH}_2\text{OH (L-Ser);}$
 $R^2 = \text{C}_9\text{H}_{19} - \text{C}_{17}\text{H}_{35}; n = 3 - 5.$

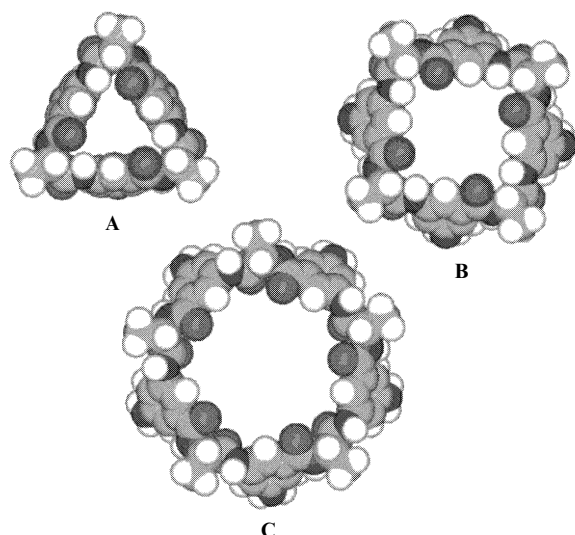


Рис. 8. Модели пептидов, содержащих 3 (А), 4 (В) и 5 (С) дипептидных единиц (вид сверху).⁵³

$R^1 = \text{Me}$, для упрощения алканоильные цепи $R^2\text{C(O)}$ не показаны.

Анализ структуры возможных ассоциатов, образуемых такими пептидами, и результаты потенциал-зависимой блокады сформированных на их основе каналов ионами Ca^{2+} позволили авторам работы⁵³ сделать вывод о том, что ионные каналы состоят из двух пептидных колец, упакованных по типу «хвост к хвосту». Пептидные части колец образуют вход в канал и выход из него, а длинные алканоильные цепи пронизывают мембрану. Было также показано, что варьирование природной аминокислоты, входящей в состав циклопептида, т.е. замена нейтрального L-аланина на положительно заряженный L-лизин или отрицательно заряженную L-аспарагиновую кислоту, не оказывает влияния на селективность канала.

Ионные каналы, сформированные циклическими пептидами А–С с систематически варьируемыми размерами поры, формой и липофильностью, обладали проводимостью $\sim 9 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$ в 500 мкМ водном растворе КСl. Селективность переноса катиона калия по отношению к хлорид-аниону ($P_{\text{K}^+}/P_{\text{Cl}^-}$) составила 5.9, а по отношению к катиону натрия ($P_{\text{K}^+}/P_{\text{Na}^+}$) — ~ 12.5 .

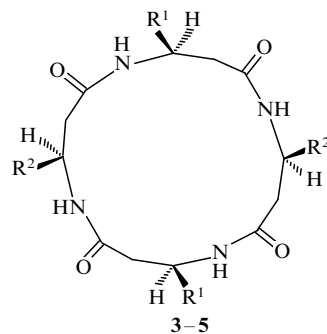
В условиях, имитирующих биологические (добавление равных количеств растворов глюконата натрия и калия), натриево-калиевая селективность ($P_{\text{Na}^+}/P_{\text{K}^+}$) для тетрапептида $n = 4$ (рис. 8, структура В) составила 0.40. Катион Li^+ , несмотря на существенно меньший размер (1.56 Å), чем у катиона K^+ (2.66 Å), не способен проходить через такой канал из-за больших энергетических затрат, требующихся для его дегидратации (выше уже отмечалось, что дегидратация является необходимым этапом процесса транспорта катионов через канал²).

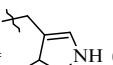
2. β^3 -Пептиды

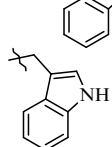
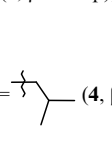
β^3 -Пептиды — класс биополимеров абиотического происхождения, склонных к образованию необычных типов вторичных структур.^{11, 54–57} Гелман с соавт.^{54, 56} показал, что гомоолигомеры *транс*-2-аминоциклогексан- и -циклопентанкарбоновых кислот образуют спиральные структуры. Циклические олигомеры α -незамещенных β -аминокислот с β -хиральным атомом углерода могут принимать плоские кольчатые конформации, которые в твердом состоянии способны объединяться посредством водородного связывания в полые

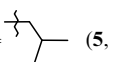
трубчатые ансамбли (циклические β^3 -пептидные нанотрубки).⁵⁷ Эти ансамбли структурно аналогичны самособирающимся ассоциатам циклических пептидов, состоящих из чередующихся D- и L- α -аминокислот (циклические D,L- α -пептидные нанотрубки).^{58–62} Эти два класса нанотрубок дополняют друг друга по структуре и функциям.¹¹

Жадири с сотр.¹¹ показал, что β^3 -пептиды 3–5 с соответствующим образом подобранными гидрофобными боковыми цепями могут самособираются в липидных бислойных мембранах и формировать высокоэффективные трансмембранные ионные каналы (рис. 9).



$R^1 = R^2 =$  (3, β^3 -HTrp);

$R^1 =$ , $R^2 =$  (4, β^3 -HTrp- β^3 -HLeu);

$R^1 = R^2 =$  (5, β^3 -HLeu).

Благодаря своей необычной структуре циклические β^3 -пептидные нанотрубки абиотического происхождения проявляют уникальные свойства (селективность, растворимость). В частности, вследствие однонаправленного размещения в пространстве полярных амидных групп, нанотрубки на основе циклических β^3 -тетрапептидных субъединиц обладают макродипольным моментом (рис. 10,а), в то время как

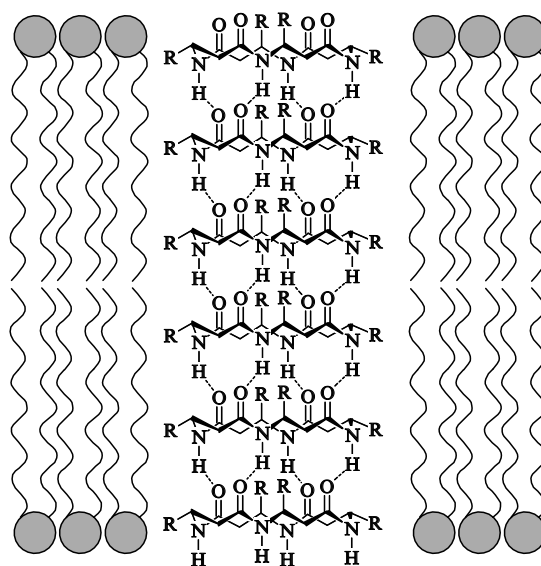


Рис. 9. Предполагаемая структура самособирающихся трансмембранных каналов, образованных β^3 -пептидами 3–5.¹¹

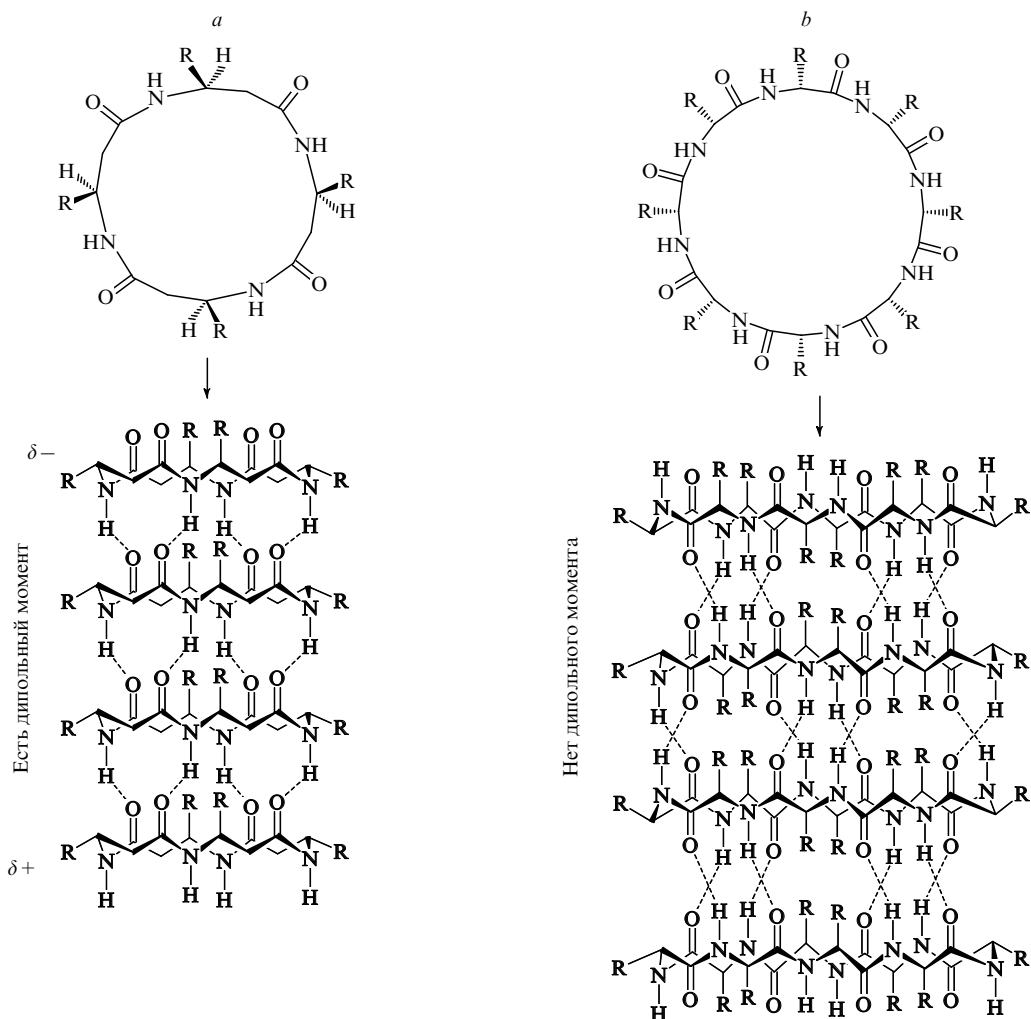


Рис. 10. Циклические пептидные нанотрубки, состоящие из циклических абиотических β^3 -тетрапептидов (a) и циклических D,L- α -октапептидов (b).¹¹

нанотрубки на основе циклических D,L- α -октапептидов (рис. 10,b) не являются диполями. Дипольный момент амидных групп (макродиполь), усиленный параллельным расположением макроциклов, повышает селективность ионного канала, образованного β^3 -тетрапептидами. β^3 -Тетрапептид 3, содержащий индолные группы в боковых фрагментах, хорошо растворим в полярных растворителях, таких как ДМСО и ДМФА.

Циклические β^3 -тетрапептиды обладают большей конформационной жесткостью и степенью предорганизации

для самосборки, чем более крупные β^3 -пента- и β^3 -гексапептиды. Метод рентгеновской порошковой дифрактометрии и молекулярное моделирование показали, что молекула β^3 -тетрапептида может находиться в C_2 - и C_4 -симметричных конформациях (рис. 11).

Расчеты диаметров макроциклов позволили предположить, что в липидной мембране β^3 -тетрапептиды находятся в C_4 -симметричной конформации, так как диаметр кольца в этом случае составляет 2.6–2.7 Å, что позволяет проникать через центральную пору трансмембранного канала молекулам воды и небольшим ионам.

Искусственный трансмембранный канал на основе циклического β^3 -тетрапептида 3 продемонстрировал K^+ -проводимость на уровне $56 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$ (рис. 12), которая в одинаковых условиях оказалась выше, чем у канала на основе

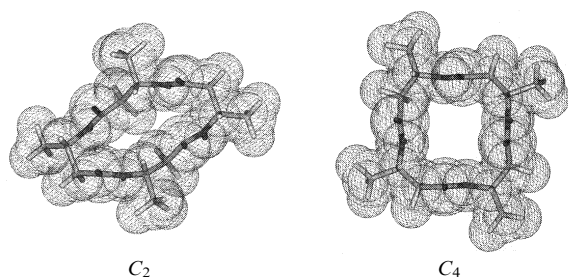


Рис. 11. Циклические β^3 -тетрапептиды в конформациях с C_2 - и C_4 -симметрией.¹¹ Для простоты изображения боковые группы даны в виде метильных групп.



Рис. 12. Проводимость ионов K^+ при 60 мВ (пептид 3, вероятность открытия канала — 0.14).¹¹

грамидина А. Пептиды **3** и **5** обеспечивают протонную проводимость сквозь липосомную мембрану.

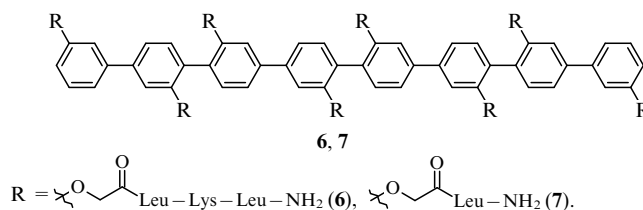
Проведенные эксперименты подтвердили возможность использования циклических пептидов как каналов для молекул воды и небольших ионов. Скачки измеренного тока (см. рис. 12) указывают на открытие или закрытие канала, вследствие быстрых конформационных превращений (см. рис. 11) или изменений структуры канала.

IV. Супрамолекулярные ионные каналы на основе протяженных линейных молекул

1. β -Бочки на основе функционализированного олиго(*n*-фенилена)

В работах ^{14–17} сообщается о создании гигантских трансмембранных каналов (β -бочек) (см. рис. 1), состоящих из жестких брусков окта-*n*-фениленов **6** и **7**, соединенных короткими антипараллельными структурами β -листа (рис. 13). Жесткость структуры канала основана на электронном отталкивании фениленовых групп, образующих внутреннюю

поверхность β -бочки. Запись тока одиночного канала при -50 мВ выявила флуктуационное появление потоков величиной 178 пА.



Встроенный в мономеллярные везикулы канал **6** способен переносить анионный флуорофор — 5(6)-карбоксифлуоресцеин — с помощью катионных групп NH_3^+ лизина, которыми выстлана внутренняя поверхность гексамера соединения **6** (см. рис. 13). Для оценки внутреннего диаметра самоорганизующейся в мембране β -бочки был изучен перенос карбоксифлуоресцеина (рис. 14). Так как молекула карбоксифлуоресцеина обладает диаметром более 9 Å, для ее переноса необходимы каналы диаметром не менее 20 Å. По величине эта нанопора сравнима с природной β -бочкой, формируемой полипептидом α -гемолизином, состоящим из 293 аминокислотных остатков.

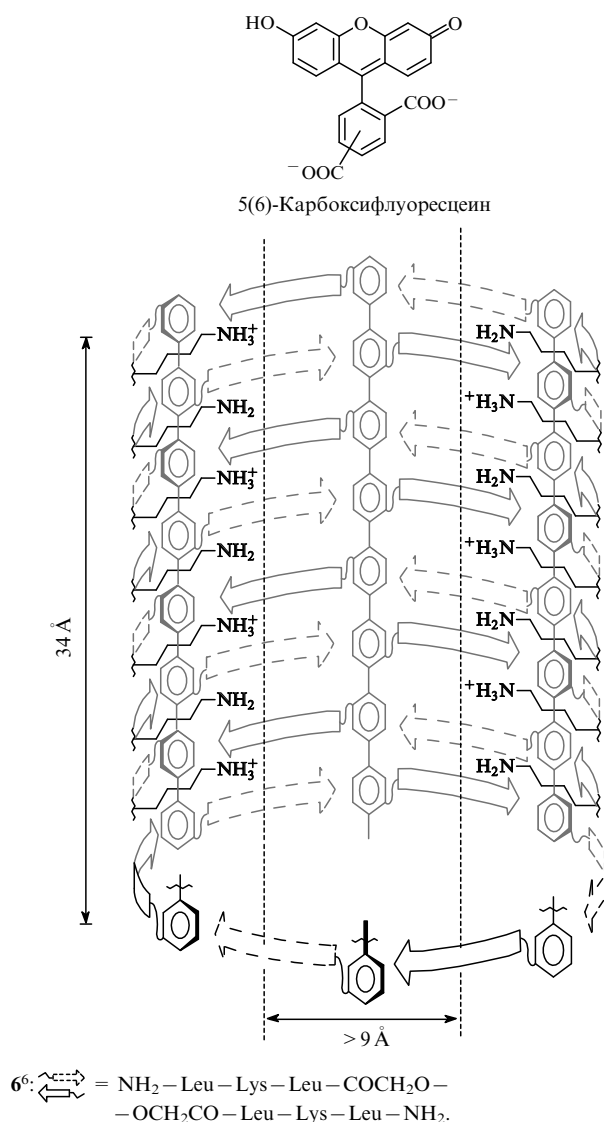


Рис. 13. Структуры самособирающегося гексамера **6**.¹⁵

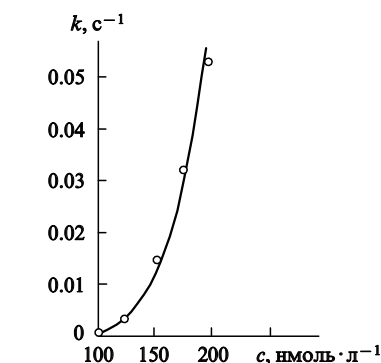
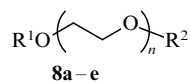


Рис. 14. Наблюдаемые константы скорости потока карбоксифлуоресцеина как функция концентрации окта-*n*-фенилена **6**.

2. Биомиметические олиго(оксипропиленовые) эфиры карбоновых кислот

Для построения искусственных ионных каналов помимо пептидов могут использоваться также различные непептидные структуры. В 1990 г. Менгер с соавт.⁶³ синтезировал ряд соединений общей формулы $\text{R}^1\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{R}^2$ (**8**), способствующих транспорту ионов через бислоиные мембраны.



- 8a:** $\text{R}^1 = n\text{-C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})$; $\text{R}^2 = \text{PhCH}_2$, $n = 5$;
8b: $\text{R}^1 = n\text{-C}_{13}\text{H}_{27}\text{C}(\text{O})$; $\text{R}^2 = \text{PhCH}_2$, $n = 4$;
8c: $\text{R}^1 = n\text{-C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})$; $\text{R}^2 = \text{PhCH}_2$, $n = 4$;
8d: $\text{R}^1 = n\text{-C}_9\text{H}_{19}\text{C}(\text{O})$; $\text{R}^2 = \text{PhCH}_2$, $n = 5$;
8e: $\text{R}^1 = n\text{-C}_7\text{H}_{15}\text{C}(\text{O})$; $\text{R}^2 = \text{PhCH}_2$, $n = 5$.

Наибольшую активность проявило соединение **8a** ($\text{R}^1 = n\text{-C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})$; $\text{R}^2 = \text{PhCH}_2$, $n = 5$), растянутые молекулы которого проходят через всю толщину липидной мембраны, формируя каналы. Самопроизвольное включение соединения **8a** в липидную мембрану обусловлено как гидрофобным участком жирной кислоты, так и взаимодействием

п-электронной системы бензильного заместителя с четвертичной аммонийной группой мембранных липидов. Величина ионного потока через мембрану везикулы определялась методом время-разрешенной флуоресцентной спектроскопии с использованием в качестве pH индикатора флуоресцентного красителя (пираина). Оказалось, что при концентрации вещества **8a**, составляющем 75 молекул на везикулу диаметром 30 ± 5 нм, равновесие между внутренними и внешними ионами устанавливается практически мгновенно. Сравнение эффективности переноса протонов соединением **8a**, грамицидином D и 18-краун-6-эфиром показало, что соединение **8a** превосходит грамицидин, а 18-краун-6 вообще не влияет на ионный поток через бислойную липидную мембрану. Последний факт заслуживает особого внимания, поскольку эксперименты на объемных жидких хлороформных мембранах (в этом случае перенос ионов осуществляется с помощью молекул-переносчиков) дают обратный результат: 18-краун-6 переносит катионы K^+ через хлороформную жидкую мембрану, тогда как соединение **8a** полностью инертно. Это связано с тем, что краун-эфиры являются хорошими лигандами, способными эффективно переносить катионы через хлороформную мембрану,⁶⁴ а соединение **8a** — слабый лиганд для катиона K^+ . Данный факт подтверждает, что соединение **8a** переносит катионы за счет образования каналов в бислойной мембране. Об образовании ионного канала в мембране свидетельствуют и другие факты. Так, эфир **8a** активен уже в наномолярных концентрациях, кроме того, эффективность переноса катионов структурно специфична: аналоги соединения **8a**, обладающие большей ($n > 5$) или меньшей ($n < 5$) гидрофильностью, не изменяют проницаемость мембраны.

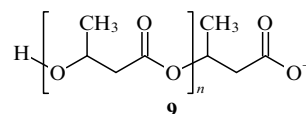
С целью установления влияния длины остатка жирной кислоты и длины олиго(оксиэтиленового) фрагмента на эффективность переноса катионов соединениями **8** Шафером с сотр.⁶⁵ были синтезированы и исследованы производные **8b–e**. Изучение переноса катионов Li^+ , K^+ и Cs^+ через фосфолипидную мембрану показало, что только соединения **8b–d** образуют одиночные каналы (установлено по току). Наибольшую эффективность проявило соединение **8d**, что, по-видимому, обусловлено наиболее благоприятным соотношением общей длины цепи и числа этиленгликолевых фрагментов. Повышение проводимости этого канала в ряду $Li^+ < K^+ < Cs^+$ коррелирует с увеличением ионного радиуса катионов (Li^+ 78, K^+ 133, Cs^+ 169 пм), а также с уменьшением радиуса гидратированных катионов (Li^+ 382, K^+ 331, Cs^+ 329 пм). По-видимому, в этом случае диаметр поры колеблется от 340 до 660 пм.

Сравнивая соединение **8d** и грамицидин D по их способности переносить катионы, необходимо отметить, что в случае грамицидина D максимальная ионная проводимость везикул наблюдается уже при его концентрации $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ (дальнейшее увеличение концентрации грамицидина D до $5 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ не приводит к увеличению ионной проводимости). Напротив, увеличение концентрации соединения **8d** до $20 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ все еще вызывает увеличение проводимости везикул. Это свидетельствует об участии в образовании ионного канала более двух молекул соединения **8d**, в отличие от грамицидина D. Причем авторы работы⁶⁵ полагают, что ассоциация соединений **8** должна осуществляется по типу «голова к хвосту», поскольку только в этом случае гидрофильная часть каналообразующего соединения сможет протянуться через всю мембрану.

3. Биомиметические олиго-(*R*)-3-гидроксibuтираты

Низкомолекулярные полигидроксibuтираты, состоящие из 50–150 остатков (*R*)-3-гидроксibuтирата, и олигогидроксibuтираты, состоящие из менее чем 50 остатков, распростра-

нены в прокариотических и эукариотических клетках, где они образуют множественные координационные связи с катионами. Они способны транспортировать ионы через фосфолипидную мембрану в модельных плоских бислойных системах и в липосомах. Однако эти каналы характеризуются низкой селективностью и низкой чувствительностью к изменению трансмембранного потенциала.⁶⁶ Кроме того, чтобы осуществить перенос ионов, необходимо встроить в мембрану большие количества этих веществ ($> 0.1\%$).⁴ Более высокой эффективностью этой транспортной системы добились Даз и соавт.⁶⁶ Ими были синтезированы комплексы олиго-(*R*)-3-гидроксibuтиратов **9** ($n = 18–22$) с неорганическими полифосфатами, которые демонстрируют более высокую катионную проводимость ($275 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$) по сравнению с комплексами поли-(*R*)-3-гидроксibuтиратов ($n = 120–140$) с полифосфатами ($100 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$).



$n = 18–22$.

Однако селективность транспорта катионов Ca^{2+} по отношению к Na^+ с помощью этих олигомеров значительно меньше селективности транспорта с помощью полимеров: 4:1 и $> 90:1$ соответственно. Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что полифосфатные фрагменты играют главную роль в катионной селективности, а олиго- и поли-(*R*)-3-гидроксibuтираты являются сольватирующими агентами (рис. 15). Таким образом, монодисперсная биомиметическая система олиго-(*R*)-3-гидроксibuтираты/полифосфаты может быть эффективно использована для создания потенциал-активируемых искусственных ионных каналов с ограниченной катионной селективностью (рис. 16).

Образование ион-селективных потенциал-активируемых каналов поли-(*R*)-3-гидроксibuтират/полифосфатными комплексами подробно рассмотрено в работе⁶⁷. Комплексы этих двух полимеров, выделенные из плазматических мембран

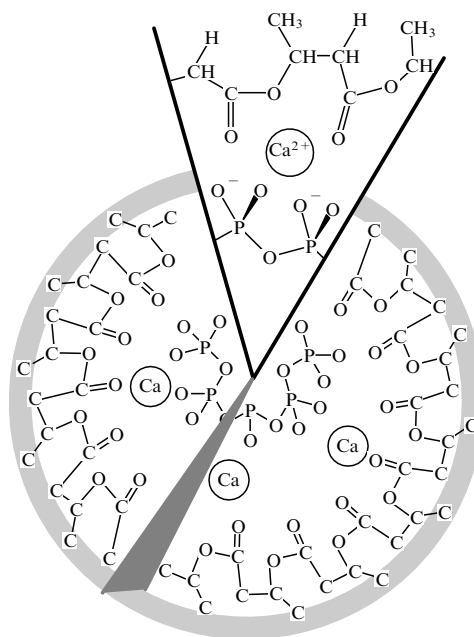


Рис. 15. Структура канала, образованного олиго-(*R*)-3-гидроксibuтиратами с неорганическими полифосфатами (вид сверху).⁶⁸

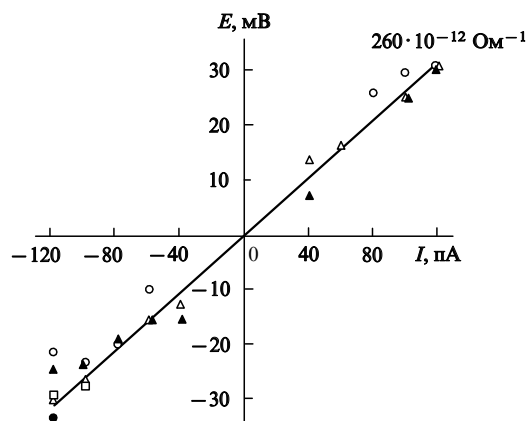


Рис. 16. Зависимость ток – приложенное напряжение для канальных комплексов олиго-(*R*)-3-гидроксibuтиратов с полифосфатами. Различные обозначения экспериментальных точек соответствуют значениям, полученным в параллельных экспериментах.

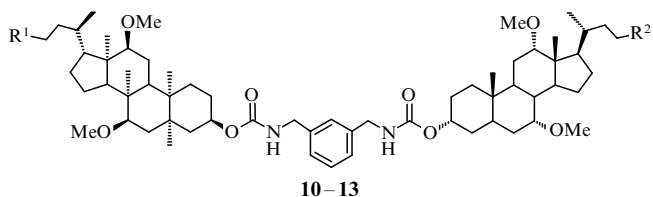
бактерий или полученные из синтетических полимеров, образуют потенциал-зависимые Ca^{2+} -селективные каналы в плоской бислойной мембране. Решающим фактором в сольватации полигидроксibuтиратами кальциевых солей полифосфатов является гибкий остов полимера и оптимальное расстояние между карбонильными группами сложноэфирных фрагментов. В моделях канальных комплексов, которые предложили Рош⁶⁸ и Сибэч,⁶⁹ сильнополярные полианионные полифосфаты экранированы от гидрофобной области бислоя амфифильными полигидроксibuтиратами. В результате между двумя полимерами образуются многочисленные участки связывания катионов — нерегулярные связывающие полости, сформированные принадлежащими полифосфату фосфорильными атомами кислорода и кислородными атомами сложноэфирных групп поли-(*R*)-3-гидроксibuтирата, которые предпочитают связывать катион Ca^{2+} , чем Mg^{2+} .

4. Потенциал-зависимые каналы на основе производных холевых кислот

Природные транспортные белки характеризуются высокой степенью регулируемости. Их переход из закрытого в открытое (или проводящее) состояние обычно происходит в результате определенного процесса: фосфорилирования, связывания малых молекул (ацетилхолина, Ca^{2+} и т.п.) или изменения трансмембранного потенциала. Напротив, большинство искусственных ионных каналов не регулируются: они переходят из закрытого состояния в открытое в результате случайных агрегационных процессов в липидном бислое.

Регулирование проницаемости бислойных мембран с помощью приложенного напряжения — один из фундаментальных подходов к контролю за общей проводимостью ионных каналов и созданию новых супрамолекулярных ионных устройств (селективных фильтров, проводников и т.д.) и лекарственных препаратов. Потенциал-зависимые каналы открываются или закрываются при наложении потенциала выше или ниже какого-то критического значения. На сегодняшний день существует лишь несколько сообщений о получении синтетических потенциал-зависимых ионных каналов.

В работах^{70,71} сообщается о создании потенциал-зависимых ионных каналов **10–13** на основе холевой кислоты и ее производных. Соединения **10–13** образуются в результате сшивания двух фрагментов холевой кислоты или ее производных *1*-ксилилендикарбаматным фрагментом.



$\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{CO}_2\text{H}$ (**10**), $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$ (**11**);
 $\text{R}^1 = \text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$, $\text{R}^2 = \text{CO}_2\text{H}$ (**12**); $\text{R}^1 = \text{CO}_2\text{H}$, $\text{R}^2 = \text{OH}$ (**13**).

Длина каналов, формируемых этими соединениями, приблизительно соответствует толщине бислойной мембраны ($\sim 40 \text{ \AA}$). Жесткие амфифильные стероидные скелеты

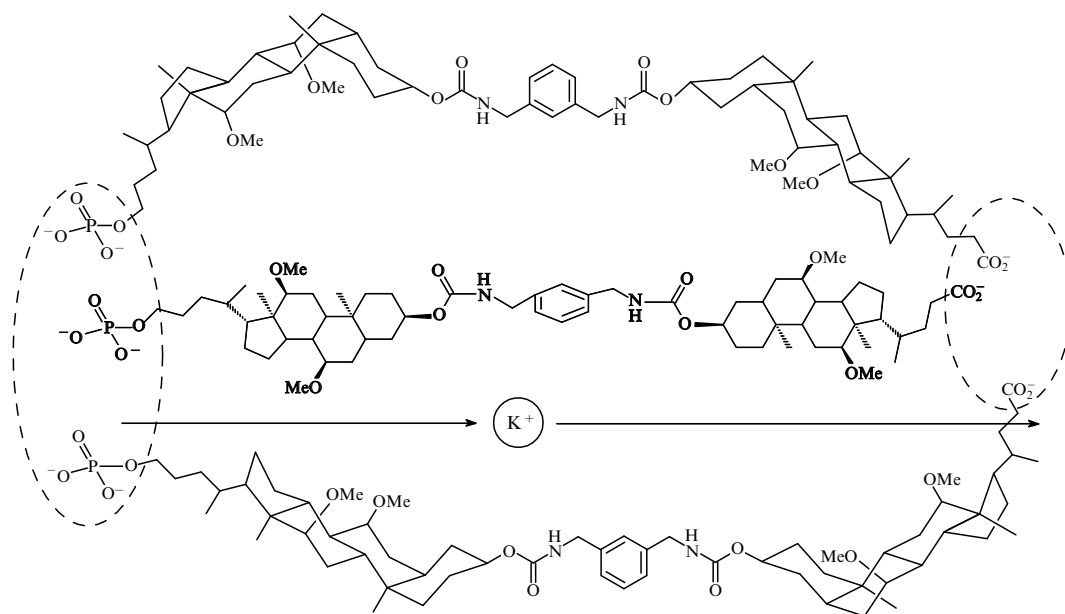


Рис. 17. Движение катиона калия в канале **12**.⁷¹

соединений **10–13** положительно влияют на стабильность образующихся каналов. С целью выяснения влияния электрической асимметрии ионного канала на возможность управления им с помощью приложенного трансмембранного потенциала были синтезированы два типа соединений — с одинаковыми (соединения **10, 11**) и различными (соединения **12, 13**) концевыми гидрофильными группами. Электрическая асимметрия структур соединений **12** и **13** была достигнута введением различных концевых гидрофильных групп: карбоксильной группы и фрагмента фосфорной кислоты, а также гидроксильной и карбоксильной групп соответственно.

Соединения **10–13** образовывали в бислойной мембране стабильные одиночные ионные каналы, характеризующиеся продолжительным временем существования в открытом состоянии (от 200 мс до 4.7 с), причем при наложении положительного потенциала наблюдались более высокие значения ионного тока, чем при наложении отрицательного потенциала, т.е. наблюдалась существенная нелинейность вольтамперных характеристик. Принимая во внимание катионную селективность каналов, образованных соединениями **12** и **13** (например, для канала **12** отношение P_{K^+}/P_{Cl^-} равно 11), авторы предположили, что в канале, образованном соединением **12**, катионы калия движутся от фосфорильного конца молекулы к карбоксилатному. Схематически функционирование канала на основе соединения **12** проиллюстрировано на рис. 17.

5. Потенциал-зависимые ионные каналы на основе бисмакроциклических амфифилов

В работе¹² описан синтез бисмакроциклических амфифильных соединений **14** и **15**, имеющих на противоположных концах молекулы группы, которые способны нести разные заряды: меркаптоацетатную (1—) и тиоглюкозную (нейтральная) группы в соединении **14**; меркаптоацетатную (1—) и меркаптосукцинатную (2—) группы в соединении **15**. Наличие таких групп придает соединениям **14** и **15** значительный дипольный момент и способствует их фиксации на поверхности бислойной мембраны.

Оказалось, что присутствие отрицательно заряженной (1—) и нейтральной концевых групп в соединении **14** приводит к образованию ионного канала, характеризующегося регулярными изменениями ионной проводимости. Однако вольтамперные характеристики такого канала оказались практически линейными, т.е. его открытие не зависело от приложенного потенциала, что было объяснено случайной ориентацией каналаобразующих молекул **14** в мембране. В то же время соединение **15** образует канал за счет асимметрической ориентации в бислойной дифитаноилфосфатидилолиновой мембране с предпочтительным расположением суццинатной группы на *цис*-стороне бислоя. Как следствие, наблюдается нелинейная вольтамперная характеристика канала (подобная той, которая характерна для аламетицинового канала) с порогом открытия около –30 мВ (рис. 18, кривая 1). К недостаткам данного канала следует отнести неустойчивый характер его открытия и функционирования. Нелинейная вольтамперная характе-

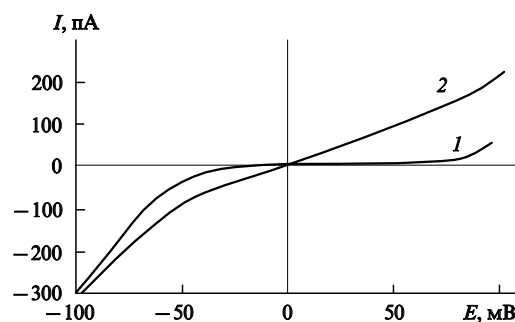


Рис. 18. Вольтамперные характеристики ионного канала на основе соединения **15** (118 нмоль **15**, 1М LiCl, дифитаноилфосфатидилолин) с числом циклов 1–7 (1) и 8–20 (2).

ристика наблюдается лишь для первых циклов и пропадает через 10–15 мин работы канала (рис. 18, кривая 2). Время существования открытого канала чрезвычайно мало и составляет 0.5–10 мс, а наблюдающаяся при этом амплитуда тока непостоянна и может меняться на порядок (1–10 пА). Таким образом, качественные характеристики данных каналов — «взрывное» открытие, нерегулярные величины потоков, приходящихся на одно открытие, и малая катионная селективность — свидетельствуют о сравнительно низкой структурированности образующихся каналов.

Предполагаемый механизм функционирования потенциал-зависимого канала **15** представлен на рис. 19.

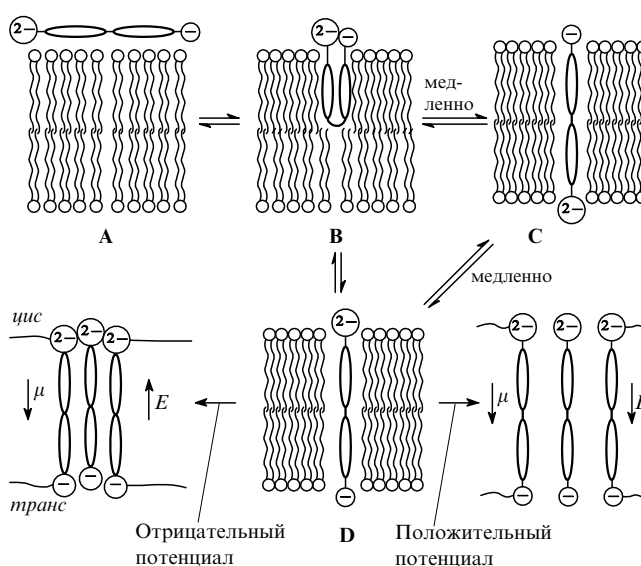
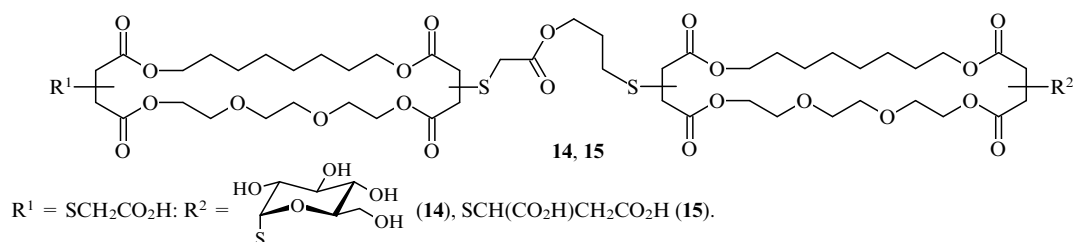


Рис. 19. Предполагаемый механизм работы потенциал-зависимого канала, образованного соединением **15**.



Помимо предварительной неспецифической ассоциации соединения **15** с бислоем (структура **A**) авторами рассмотрены и другие типы ассоциации этого соединения с бислоем с образованием промежуточных U-образной (**B**) и трансмембранных (**C** и **D**) структур. Учитывая, что процессы, включающие проникновение дианионной сукцинатной концевой группы через липофильную мембрану (переход от структуры **B** к структуре **C** и от структуры **D** к структуре **C**), протекают медленнее, чем процессы проникновения моноанионной ацетатной группы (переход от **B** к **D**), можно предположить, что первоначально образуется структура **D** с сукцинатной концевой группой на *cis*-стороне бислоя (см. рис. 18). В этом случае открытие или закрытие канала обусловлено параллельным или антипараллельным расположением векторов дипольного момента соединения и внешнего поля. Поскольку электростатическое отталкивание сукцинатных групп должно быть значительным, то степень агрегации будет сильно зависеть от стабилизации образующейся супрамолекулярной системы за счет внешнего электрического поля. В случае антипараллельной ориентации векторов дипольного момента и внешнего поля ион-проводящие агрегаты образуются при отрицательных потенциалах на поверхности бислоя и система оказывается более устойчивой. Параллельная ориентация

о-дящие

руют олигоэфирную цепочку катиона, препятствуя образованию супрамолекулярного ансамбля в липидной мембране.

Все исследованные ионные каналы проявили катионную селективность (катионы транспортируются эффективнее, чем анионы). Например, для каналов **19** и **20** величины P_{K^+}/P_{Cl^-} равны 4.9 и 16.8 соответственно. И это, несмотря на различный характер анионных концевых групп в гидрофобной компоненте ионной пары. Следовательно, характер селективности определяется не типом концевых групп, формирующих вход в канал, а природой внутримембранных стенок канала.

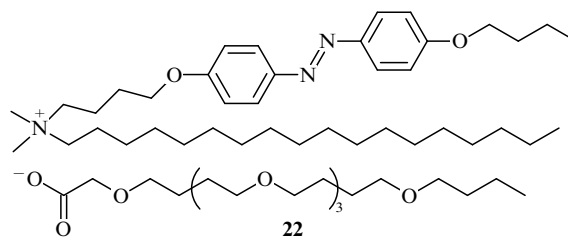
Другим важным результатом работы стало обнаружение потенциал-зависимых ионных каналов. Вероятность открытия и закрытия каналов, образованных из ионных пар моноаммонийного катиона и дианиона алкилфосфорной кислоты (соединения **17** и **19**), зависит от приложенного напряжения. В то же время ионные пары, состоящие из моноаммонийного катиона и карбоксилатного (соединения **16**, **18**) или диалкилфосфатного (соединение **20**) моноаниона, не образуют потенциал-зависимых ионных каналов.

Как отмечалось ранее, наличие различных зарядов (дипольного момента) на противоположных концах канала является необходимым условием для функционирования потенциал-зависимых ионных каналов. Очевидно, что степень агрегации амфифильных ионных пар в полуканал зависит от многих факторов, и в мембране образуются агрегаты самого разного состава. Это приводит к тому, что одиночный канал, собранный из двух таких полуканалов, имеет на противоположных концах различный отрицательный заряд, иными словами, обладает дипольным моментом. Однако дипольный момент разных одиночных каналов, собранных случайным образом из двух полуканалов, не одинаков и не может быть проконтролирован. В связи с этим вольтамперные характеристики полученных каналов меняются от эксперимента к эксперименту.

7. Фотохимический контроль ионного переноса соединениями, содержащими азобензольный фрагмент

О фотохимическом способе управления ионными каналами на основе модифицированных пептидов грамицидина сообщалось рядом авторов.^{75–77} Так, Шрайбер с соавт.⁷⁵ обнаружил, что димер грамицидина, содержащий азобензольный мостиковый фрагмент в *цис*-форме, действует как ионный канал. Хигучи с соавт.⁷⁶ показал, что в случае азобензолов, связанных с α -спиралью бисполиглутамата, суммарный ионный поток контролируется фотоизомеризацией. Вулли с соавт.⁷⁷ наблюдал изменения одиночного ионного потока под действием изомеризации азобензольных фрагментов, присоединенных к каналным воротам грамицидина. При воздействии лазерного излучения с длиной волны 337 нм каналы переходят из *транс*-состояния, характеризующегося наивысшим уровнем потока 14.9 ± 0.4 пА и низкими уровнями тока 0.6 ± 0.1 пА, в *цис*-состояние с уровнем потока 12.8 ± 0.4 пА и тремя уровнями тока: 1.1 ± 0.1 пА (первый уровень), 2.6 ± 0.1 пА (второй уровень) и 3.5 ± 0.2 пА (третий уровень). Последующее освещение *цис*-каналов настольной лампой 100 Вт в течение 10 мин приводило к их переходу в *транс*-форму.

Кобуке и Огоши⁷⁸ синтезировали и исследовали супрамолекулярный искусственный ионный канал на основе 3,8,13,18,23-пентаоксагептакозаноата *N,N*-диметил-*N*-октадецил-*N*-[4-(4-бутоксид)-*транс*-азофеноксид]бутиламмония (**22**). Канал представляет собой амфифильную ионную пару, изомеризующуюся под действием фотоизлучения.



После того, как эта ионная пара (одиночный канал) была встроена в плоскую фосфолипидную мембрану, через нее пропустили поток ионов (рис. 21). Одной из важных характеристик данного канала является преобладание периода, в течение которого канал открыт, над временем пребывания канала в закрытом состоянии. Канал на основе соединения **22** показал различные значения удельной электропроводности, главным образом, в диапазоне $(2–13) \cdot 10^{-12}$ Ом⁻¹. Была зафиксирована селективность канала по отношению к катиону калия по сравнению как с хлорид-анионом, так и с катионом натрия: соотношение проницаемостей $P_{K^+}/P_{Cl^-} = P_{K^+}/P_{Na^+} = 6.1$.

При фотооблучении при 367 нм *транс*-азобензольный фрагмент переходит в *цис*-форму (рис. 22). Такая изомериза-

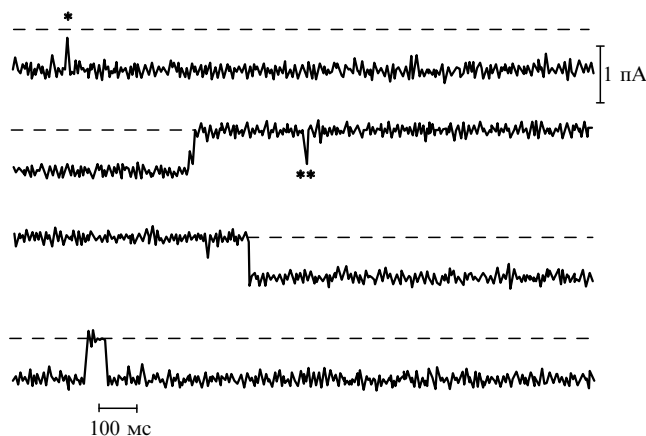


Рис. 21. Запись тока, создаваемого *транс*-азобензольной ионной парой **22** при напряжении 96.9 мВ в 500 мМ растворе KCl, 5 мМ буфере Трис–HEPES (pH 7.2) (Трис — трис(гидроксиметил)аминометан, HEPES — *N*-2-гидроксиэтилпиперазин-*N'*-этансульфоновая кислота). Пунктирная линия соответствует закрытому каналу. Непродолжительные закрытие и открытие канала наблюдались в точках, отмеченных одной и двумя звездочками соответственно.

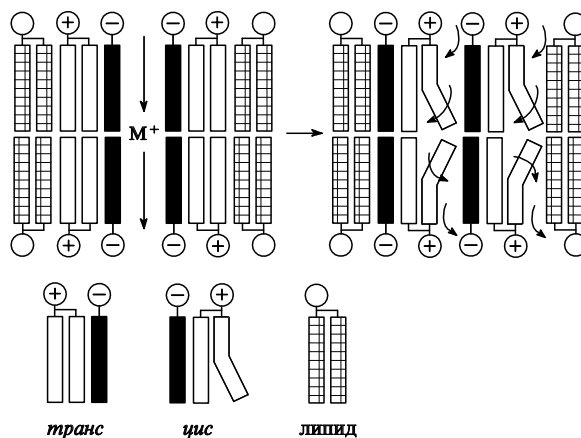


Рис. 22. Возможный механизм фотохимического контроля ионного потока при использовании ионной пары **22**.

ция приводит к закрытию канала, и ток через него не идет. Последующий переход *цис*-азобензольного фрагмента в *транс*-форму приводит к возобновлению потока ионов через одиночные каналы. Таким образом, удалось реализовать фотоконтроль за пропускающей способностью канала.⁷⁸

V. Ионные каналы на основе краун-эфиров

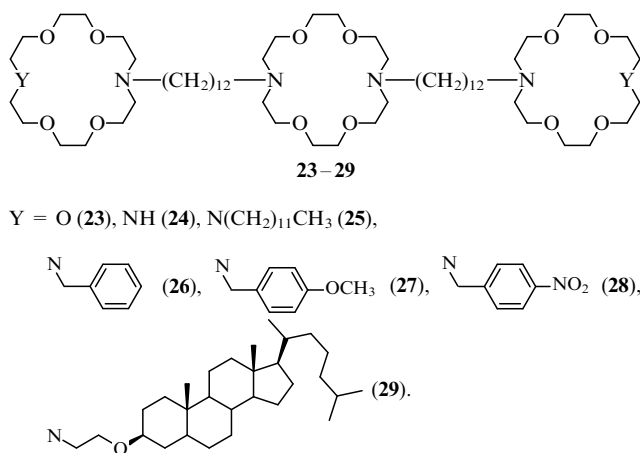
1. Трис- и тетракис(диаза-краун-эфирные) каналообразующие структуры

Производные краун-эфиров являются удобными моделями для изучения механизма функционирования ионных каналов в бислойных фосфолипидных мембранах. В искусственных каналообразующих системах краун-эфиры используются либо в качестве головных групп, либо как участки связывания соответствующего иона.

В работах^{79,80} было показано, что *N,N'*-бисалкилированные и *N,N'*-бисбензилированные диаза-18-краун-6-эфиры способны за счет самоагрегации образовывать каналоподобные ансамбли в твердой фазе. Протяженность формирующихся супрамолекулярных структур, определенная методом светового лазерного рассеяния, составляла 2000–3000 Å, причем агрегаты алкилированных производных диаза-18-краун-6 оказались более устойчивыми по сравнению с агрегатами бензилированных производных.

В работе⁸¹ сообщается об образовании комплексами пропаргилзамещенного диаза-18-краун-6 с KBF_4 канало-подобной протяженной структуры, супрамолекулярная организация которой свидетельствует о том, что молекула диаза-18-краун-6 в составе искусственных каналов может играть ту же роль, что и вода, формирующая гидратную оболочку в природных белках. Такая структура, образованная катионами и донорными группами, может имитировать природные катионные каналы, находящиеся в липидном бислое.

Амфифильность краун-эфиров позволяет использовать их в качестве ворот канала. Значительный вклад в понимание принципов дизайна и функционирования искусственных ионных каналов на основе краун-эфиров внесли работы Гокеля с сотр.^{10,13,82,83} В частности, им была синтезирована серия трис(диаза-18-краун-6) **23–29**,⁸² которые продемонстрировали способность встраиваться в липидные мембраны и образовывать ионные каналы.



Для оценки эффективности ионного транспорта использовали в основном два метода: определение скорости обмена катиона натрия в везикулах методом динамической спектроскопии ЯМР ^{23}Na с применением сдвигающих реагентов и определение проводимости плоских бислойных мембран.

Для установления механизма действия искусственных каналов на основе трисмакроциклических систем необходимо ответить на три основных вопроса. Первый вопрос касается возможности объяснения различия в потоках катиона Na^+ через бислойную мембрану различной растворимостью ионофоров в мембране. С этой целью были рассчитаны коэффициенты распределения трис(краун-эфиров) **23–29** в системе октанол–вода. Расчеты показали, что все изученные соединения предпочтительно находятся в липидном бислое: соотношение коэффициентов распределения составляет $10^{10}:1$ (т.е. все краун-эфиры полностью находятся в мембранной фазе).⁶⁰

Второй вопрос касается ионного переноса, поскольку хорошо известна способность краун-эфиров выполнять функции переносчиков катионов.⁸⁴ Чтобы ответить на этот вопрос, нужно было определить, как функционируют изучаемые системы — как переносчики или как ионные каналы? В этой связи были проведены эксперименты по транспорту Na^+ с помощью краун-эфиров **23–29** через липидную и объемную хлороформную мембраны. Очевидно, что транспорт через хлороформную мембрану по каналному механизму невозможен, так как в этом случае расстояние между подающей и принимающей водными фазами, в отличие от липидной бислойной мембраны, слишком велико. На рис. 23 представлены измеренные константы скоростей транспорта катионов Na^+ с помощью краун-эфиров **23–29** в липидной бислойной и хлороформной мембранах. Для сравнения аналогичные эксперименты были проведены с грамицидином (природным каналообразующим пептидом) и валиномицином (природным рецептором ионов Na^+).

Из рис. 23 видно, что большинство изученных соединений **23–29** менее активны в качестве переносчиков ионов, чем природные соединения. Как и ожидалось, валиномицин оказался наиболее эффективным переносчиком, а грамицидин — наиболее эффективным каналообразующим соединением. Отсутствие корреляции между скоростями транспорта ионов Na^+ через фосфолипидную и хлороформную мембраны с помощью трис(краун-эфиров) **23–29** подтвердило, что они функционируют в бислойной мембране не как переносчики, а как каналообразующие соединения.

Наконец, последний вопрос касается выяснения роли концевых остатков краун-эфиров — являются ли они головными группами, через которые проходят катионы при входе и выходе из мембраны? Если концевые краун-эфирные фрагменты играют роль входных элементов канала, то эффективность транспорта должна зависеть от электронной плотности на макроцикле и от природы заместителей у атома

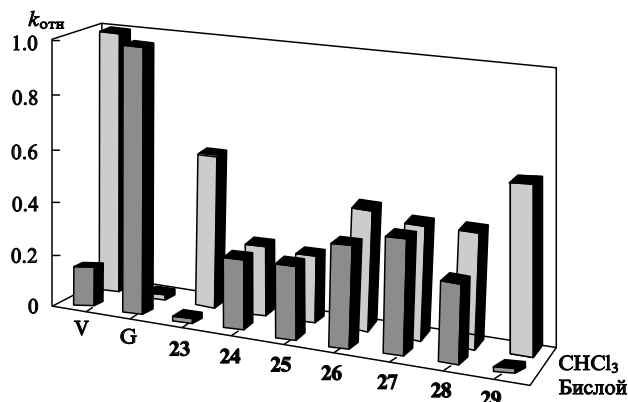
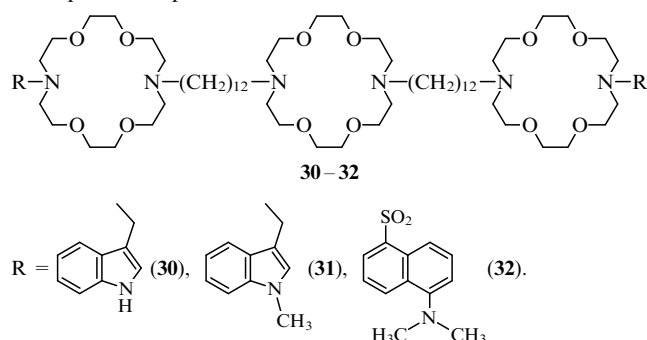


Рис. 23. Сравнение эффективности транспорта Na^+ с помощью соединений **23–29**, грамицидина (G) и валиномицина (V) через хлороформную и липидную бислойную мембраны.

азота. На примере соединений **26–28**, различающихся только заместителями (H, OCH₃ и NO₂) в бензольном кольце, было показано положительное влияние на ионный поток электронодонорных заместителей. Такое влияние вполне объяснимо, так как увеличение электронной плотности на входе в канал должно ускорять транспорт через него катионных частиц. На этом основании авторы работы⁸² предположили, что концевые остатки краун-эфиров являются головными группами ионного канала, через которые проходят катионы.

Дальнейшее изучение трис(диаза-18-краун-6-эфиров) в качестве каналаобразующих структур в бислойных фосфолипидных мембранах позволило предложить структуру образующегося ионного канала (рис. 24).⁸³ Авторы предположили, что молекулы воды заполняют канал и помогают транспорту катиона. Такое предположение основывалось на известном факте быстрого насыщения хлороформной мембраны водой при наличии в ней некоторых трис(макроциклических) соединений.

Позже Гокель с соавт.¹³ предложил использовать гетероциклические соединения в качестве концевых фрагментов трисмакроциклических структур на основе диаза-краун-эфиров. Известно, что боковые группы некоторых аминокислотных остатков в трансмембранных белках служат для фиксации спиралей белков друг относительно друга и относительно бислойной мембраны.⁴ Довольно часто такие функции выполняет индолный фрагмент триптофана. Так, с помощью спектроскопии ЯМР было показано, что многочисленные остатки триптофана в грамицидиновом канале направлены к поверхности раздела фаз вода–бислойная мембрана. Поэтому Гокель выбрал в качестве концевого гетероциклического фрагмента индол. Им была получена серия соединений общей формулы **30–32**, которые были использованы для создания ионных каналов в фосфолипидных везикулах. Экспериментально было подтверждено, что *N*-алкилиндолы способны образовывать устойчивые везикулы при нейтральных головных группах, которыми служили краун-эфирные фрагменты, регулирующие перенос катионов (канальные ворота). Гидрофобный мостик C₁₂ в трис(диаза-краун-эфирах) **30–32** способен ориентироваться в мембране параллельно липидным цепям. В целом, длина таких трисмакроциклических каналов оказалась достаточной для того, чтобы перекрыть углеводородную область мембраны и образовать канал.



Соединения **31** и **32** способны переносить катион натрия в бислойной мембране, а соединение **30** — не способно, что по-видимому, связано с образованием соединения **30** в мембране глобулярной гидрофильной конформации за счет сильного внутримолекулярного водородного связывания NH-групп индолного заместителя с гетероатомами макроцикла.

В работе⁸⁵ описан синтез тетракис(диаза-краун-эфира) **33**. Авторы этой работы связали два макроциклических фрагмента, соединенных между собой длинными алифати-

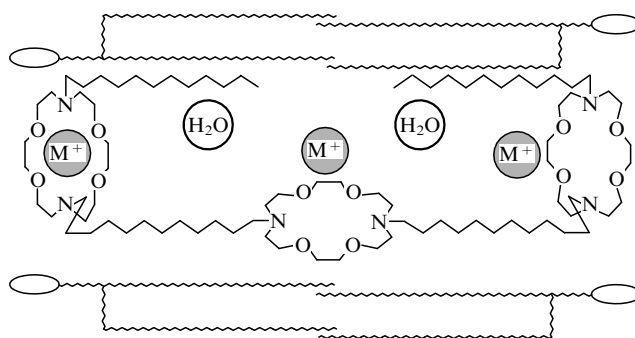
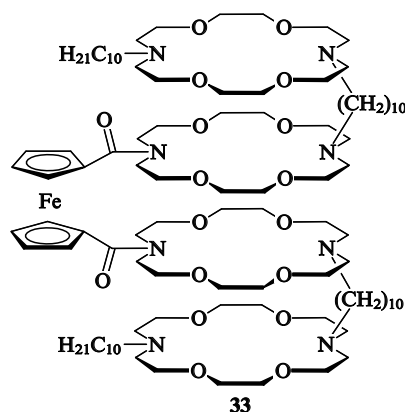


Рис. 24. Модель структуры ионного канала, образованного трис(диаза-18-краун-6-эфиром) **25**.¹³

ческими цепями, с центральным ферроценовым фрагментом, способным работать в качестве катионного «фильтра».

Длина получившегося канала составила ~30 Å, что соответствовало толщине типичной биологической мембраны. Предполагалось, что варьирование головных групп создаст основу для контроля катионной селективности.

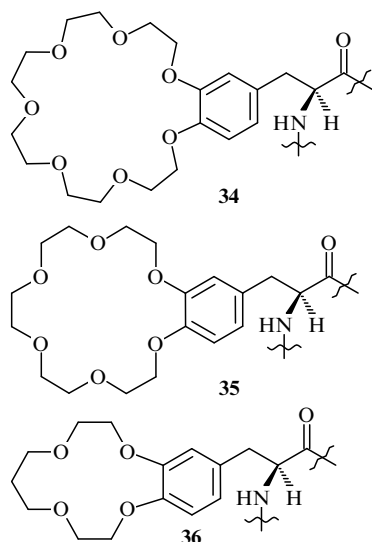
Электрохимические исследования соединения **33** методом циклической вольтамперометрии показали, что сила координационных взаимодействий ионов Na⁺ с амидной группой ферроценового фрагмента снижается по мере заполнения канала катионами, что можно объяснить отталкиванием зарядов. Этого не наблюдается в случае ионов Ca²⁺, по-видимому, из-за более сильной координации амидных групп с ионом Ca²⁺.



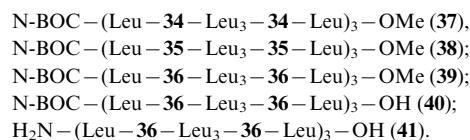
Транспорт ионов через такие каналы был изучен с использованием биологических мембран (фрагментов мозговых клеток хомячка). Изменение мембранного потенциала от –60 до +60 мВ приводило к снижению трансмембранного потока катионов по мере накопления положительного заряда с внутренней стороны клетки. При –80 мВ амплитуда среднего потока K⁺ через одиночный канал составляла –4.0 пА, что соответствовало проводимости 50 · 10^{–12} Ом^{–1}, тогда как при потенциале 80 мВ эта величина равнялась 2.4 пА (30 · 10^{–12} Ом^{–1}). Эти результаты говорят о возможности в некоторой степени контролировать активность данных каналов путем изменения приложенного напряжения.

2. Искусственные ионные каналы на основе пептидов, содержащих краун-эфирные фрагменты

Войер с соавт.^{86,87} предложил использовать фрагменты краун-эфиров **34–36** для создания ионных каналов новой архитектуры на основе синтетических пептидов.



Им была синтезирована серия пептидов **37–41**, состоящих из 21 аминокислотного остатка и несущих шесть краун-эфирных фрагментов:



Так как пептид **37** содержит 15 остатков L-лейцина из 21 аминокислотного остатка, он достаточно гидрофобен для встраивания в липидную мембрану. Поэтому канал, скорее всего, образуется за счет стекинга краун-эфирных колец (рис. 25).

При изучении конформации гексакраун-пептида **37** и его аналогов **38–41** методами поляриметрии и Фурье-спектроскопии было найдено, что они существуют в двух формах **A** и **B** (рис. 26), находящихся в равновесии. Пептиды в неактивной форме **A** адсорбируются на поверхности бислоя, а пептиды в активной форме **B** располагаются параллельно алифатическим хвостам липидов.

Краун-пептид в агрегированной форме адсорбируется из раствора на поверхности бислоидной мембраны. Из адсорбированной, частично погруженной в мембрану неактивной формы **A** пептид реорганизуется в активную форму **B** (см. рис. 26). Следует отметить, что и в мембране, и в растворе пептиды находятся в устойчивой α -спиральной конформации.

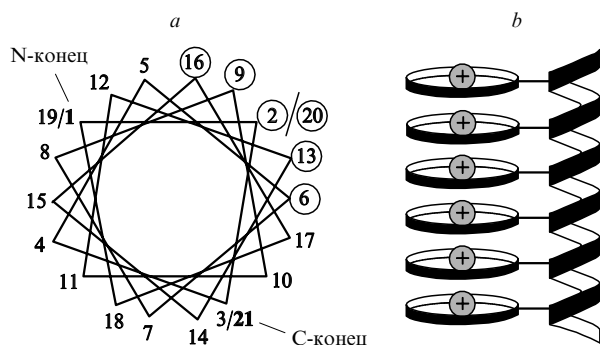


Рис. 25. Аксиальная проекция α -спирали гексакраун-пептидов **37–41** (а, кружочками отмечены позиции присоединения краун-эфиров) и схема канала, образованного этими пептидами в бислоидной мембране (b).

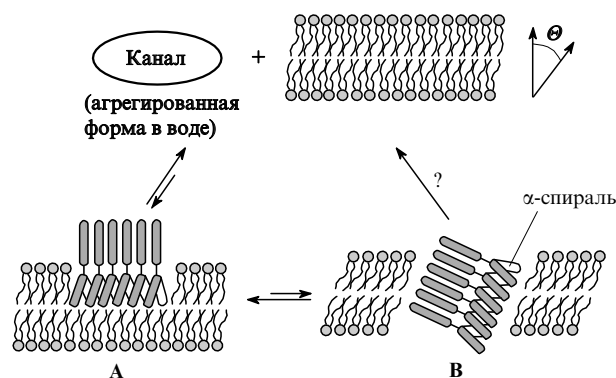


Рис. 26. Модель образования канала на основе пептидов **37–41**. **A** — неактивная форма, $\theta = 90^\circ$; **B** — активная форма, $\theta = 30^\circ$.

VI. Использование «букетных» структур для конструирования синтетических ионных каналов

1. «Букеты» на основе 18-краун-6 и β -циклодекстрина

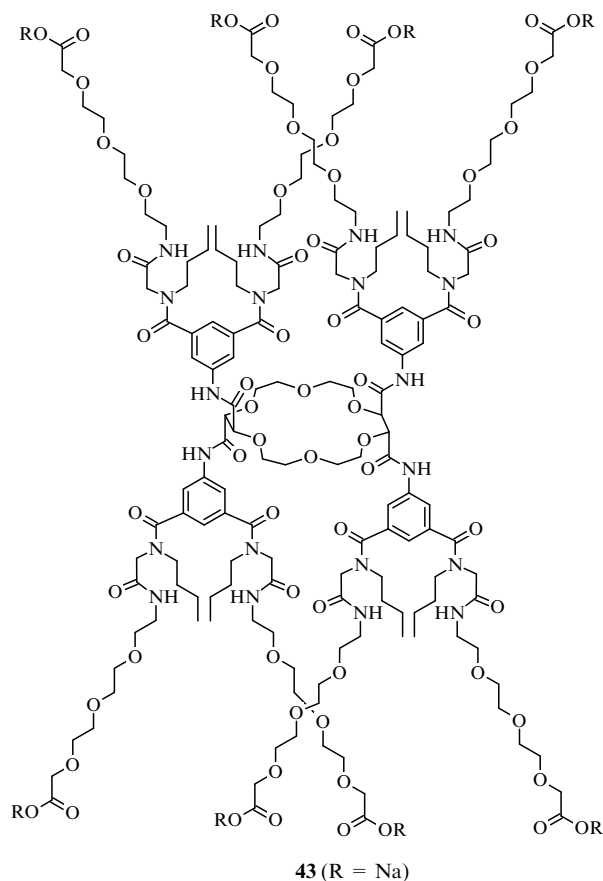
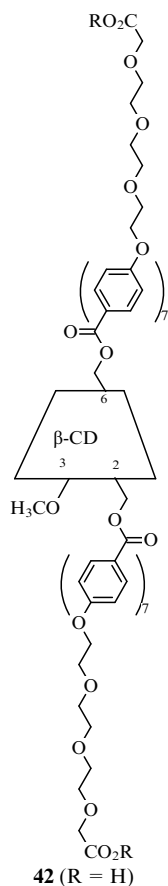
Лен с сотр.^{88–91} использовал в качестве «платформы» для создания искусственных ионных каналов полифункциональные макроциклы — β -циклодекстрин и 18-краун-6. Хорошо известно, что краун-эфиры образуют лабильные комплексы с катионами щелочных металлов, а у циклодекстринов имеются жесткие полости, достаточно широкие для прохождения гидратированных катионов щелочных металлов. Для придания таким каналам амфифильных свойств к макроциклическим 18-краун-6 и β -циклодекстринам прививали полиоксипропиленовые или полиметиленовые цепи с концевыми полярными группами.^{88,89} Таким путем были получены четыре соединения, различающиеся типами центральных структур и типами поданных цепей (ниже приведены структуры двух таких соединений **42** и **43**). Эти соединения получили название «букетов».

Способность соединений **42** и **43** включаться в фосфатидилхолиновые бислои везикул изучали различными методами (круговой дихроизм, УФ/видимая спектроскопия, дифференциальная сканирующая калориметрия и др.).^{88,89}

Оказалось, что «букеты» включаются в бислои двумя способами: U-образно (когда оба гидрофильных конца расположены с одной стороны мембраны) и трансмембранно.

Транспорт катионов металлов (Li^+ и Na^+), индуцированный встроенными в липосомы букетными соединениями,⁹⁰ изучали методом ЯМР на щелочных металлах с использованием «сдвигающего» реагента (смесь тетраметиламмонийтриполифосфата и хлорида диспрозия состава 3 : 1), позволяющего отличать сигналы внутрилипосомных катионов металлов (сдвига нет) от сигналов внелипосомных катионов металлов (сдвиг есть). При создании противоположных градиентов концентраций катионов Li^+ и Na^+ «букеты» индуцировали их транспорт по механизму антипорта. Рассчитанные константы скорости переноса ионов для «букетов» на основе 18-краун-6 с полиоксипропиленовыми и полиметиленовыми цепями составили в среднем $6 \cdot 10^{-3}$ и $10 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$ соответственно. При изучении транспорта катионов через каналы на основе 18-краун-6 авторы столкнулись с тем, что увеличение концентрации соединения в мембране приводило к усилению переноса лишь в случае канала с полиметиленовыми цепями.

Для того чтобы различить два механизма транспорта (канал или переносчик), скорость транспорта через мембрану

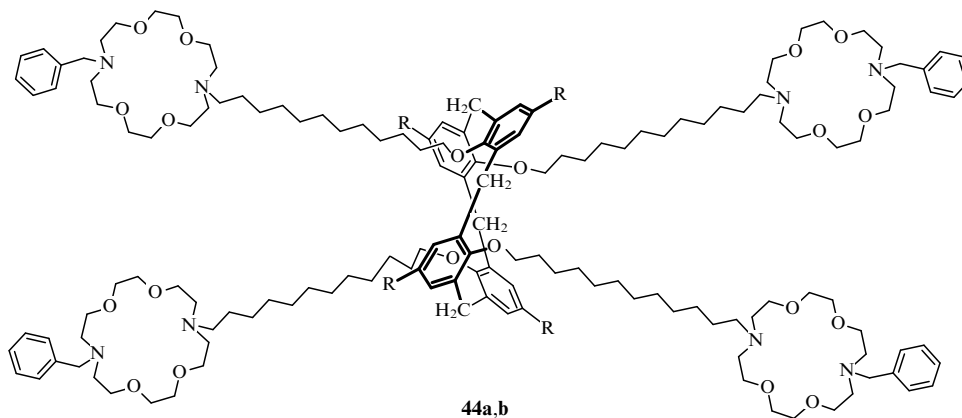


в обычных условиях сравнивали со скоростью транспорта через замороженную мембрану. Переход в состояние геля приводит к значительному снижению скорости потока ионов в случае переносчика, совершающего челночные перемещения в мембране, и практически не сказывается на скорости транспорта, индуцированного статичной канальной структурой. Было показано, что фазовый переход жидкий кристалл-гель не привел к уменьшению скорости транспорта лишь в случае двух из четырех «букетов»: на основе циклодекстрина с полиоксиэтиленовыми цепями и на основе 18-краун-6 с углеводородными цепями. Соединения на основе 18-краун-6 с полиоксиэтиленовыми цепями и на основе β-циклодекстрина с углеводородными цепями продемонстрировали поведение, не позволяющее отнести их к канальным структурам, однако из полученных результатов также не следует, что они являются переносчиками.⁹¹

2. «Букетные» структуры на основе каликсаренов

В литературе имеются единичные примеры использования каликсаренов для построения искусственных ионных каналов. Так, в работе⁹² описан синтез циклического тетрамера резорцина с длинными алкильными цепями и изучено его действие в качестве ионного канала. Было найдено, что данное соединение действует как полуканал с K^+ -селективностью. Такой канал представляет интерес как модель природных ионно-канальных белков, обладающих гидрофобными участками. Примером может служить незаряженный и очень гидрофобный M2-сегмент никотинового ацетилхолинового рецептора ...MTLSISVLLSLTVFLLVIV... (см.⁹³).

Описан синтез двух соединений на основе каликс[4]арена в конформации 1,3-альтернат (**44a,b**). В соединениях **44a,b** каждая фенольная группа каликсарена соединена через атом



R = H (a), Bu^t (b).

кислорода с одной додецильной цепью, заканчивающейся фрагментом 10-бензил-1,10-диаза-18-краун-6.

Боковые цепи в соединениях **44a,b** располагаются по обе стороны от центрального фрагмента — по две с каждой стороны. Диаза-краун-фрагменты, являясь головными группами, стабилизируют распределение боковых цепей в пределах мембраны. Общая длина канала составляет 34–60 Å и является достаточной для перекрытия липидной части типичной бислойной мембраны, толщина которой составляет в среднем ~30 Å.⁹

Введение соединений **44a,b** в бислойную мембрану в количестве 1 ммоль повышает проницаемость мембраны для катионов щелочных металлов (при введении этих соединений в меньшем количестве (1 нмоль) мембраны показывают неустойчивый режим проницаемости) (рис. 27). Повторное введение растворов соединений **44a,b** в мембрану приводит к увеличению интенсивности и частоты наблюдаемых переносов (до $300 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$).

Оценена вероятность прохождения катионов Na^+ и K^+ сквозь каликсареновую платформу. В твердом состоянии среднее расстояние между центрами арильных фрагментов в каликсарене в конформации 1,3-альтернат составляет 5.9 Å. Это расстояние является достаточным для проникновения катионов Na^+ и K^+ , так как согласно теоретическим расчетам расстояние бензол– M^+ –бензол в идеальной сэндвичевой структуре составляет 4.96 Å (для $\text{M} = \text{Na}$) и 5.84 Å (для $\text{M} = \text{K}$). Таким образом, было показано, что катионы Na^+ и K^+ могут проходить через каликс[4]арены в конформации 1,3-альтернат.^{94,95}

Однако в случае тетра-*трет*-бутилкаликс[4]арена **44b** каликсареновая платформа полностью заблокирована с обеих сторон объемными *трет*-бутильными группами. Чтобы прохождение катионов через каликсарен **44b** стало возможным, конформация должна деформироваться в определенной последовательности: два арильных фрагмента должны перейти в открытое состояние, чтобы пропустить катион, при этом два оставшихся фрагмента будут закрыты. Для обес-

печения выхода катионов подобные изменения должны произойти и на другом конце молекулы. Однако при комнатной температуре каликс[4]арен не способен менять конформацию. Полученные результаты изучения канальной проводимости соединений **44a,b** не позволили авторам сделать вывод о том, как осуществляется прохождение ионов через такие каналы — через макроциклическое кольцо каликсарена или вне его.

Соединения **44a,b** являются новым классом катионпроводящих каналов с высоким уровнем проводимости для катионов натрия и калия. В этих соединениях каликсарены в конформации 1,3-альтернат были использованы в качестве базовых соединений для создания ионных каналов.

VII. Использование каликсареновой платформы для построения ионных каналов

1. Искусственный ионный канал на основе макроциклического резорцинкаликс[4]арена с амфифильными эфирными группами хеновой кислоты

В результате дальнейшей разработки подходов к получению непептидных ионных каналов — супрамолекулярных и молекулярных полуканалов — Кобуке и соавт.⁹⁶ синтезировали резорцинкаликс[4]арен **45** с четырьмя алкильными заместителями. Данное соединение образует одиночный ионный канал с одним уровнем проводимости. Ими также был получен супрамолекулярный ионный канал на основе амфифильного производного жесткого метилхолата **46**. Канал, образуемый соединением **46** в бислойной мембране, характеризуется длительным пребыванием в открытом состоянии.

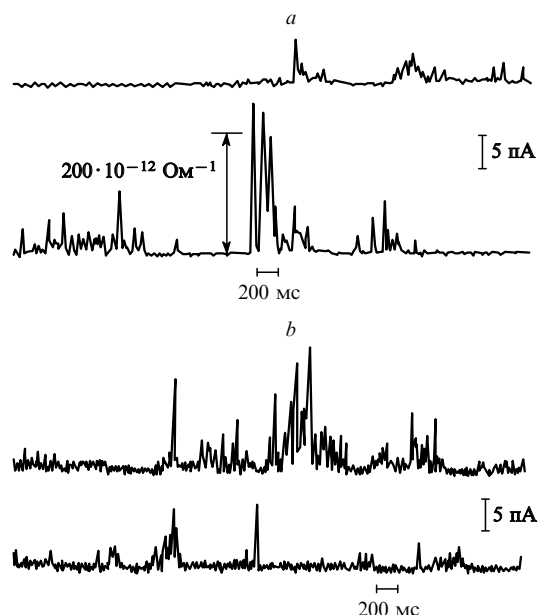
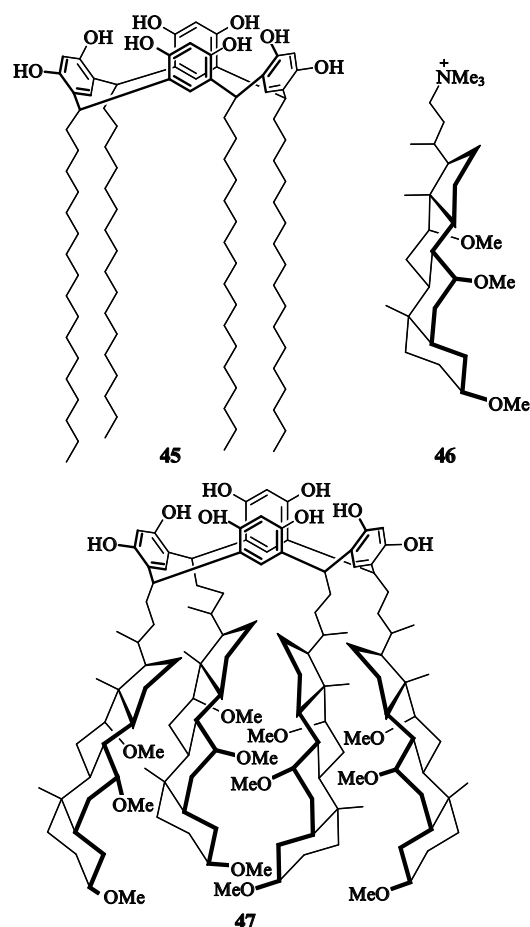


Рис. 27. Проводимость соединений **44a** (a) и **44b** (b) (1 ммоль каждого в ТГФ, 0.5 М раствор NaCl) в плоской бислойной мембране при 100 мВ.

Для каждого соединения приведены два различных временных участка. Различный характер этих участков свидетельствует о неустойчивом режиме проницаемости.



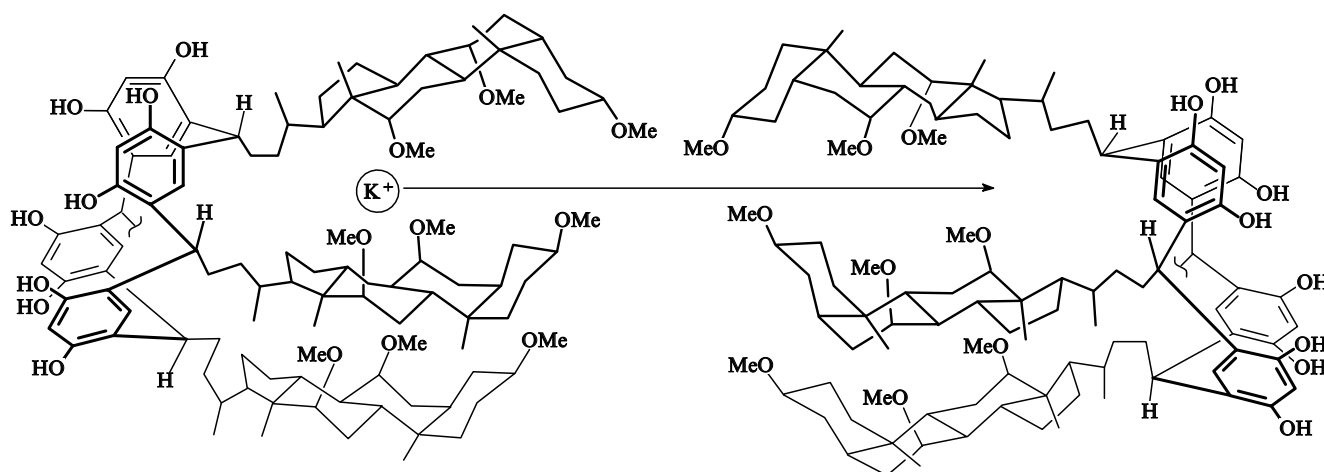


Рис. 28. Ионный канал, образующийся из двух молекул резорцинкаликс[4]арена **47** при их соединении «хвост к хвосту» (один из остатков метилхолата для простоты не показан).

С целью получения молекулярного ионного канала, обладающего одним уровнем проводимости и пребывающего в открытом состоянии в течение длительного времени, был синтезирован резорцинкаликс[4]арен **47**, в котором объединены каликсареновый и метилхолатный фрагменты. Методом спектроскопии ЯМР ^{13}C было показано, что соединение **47** находится в C_4 -симметричной конформации. Наличие в резорцинкаликс[4]арене **47** гидрофильных головных групп и амфифильных стероидных частей позволяет молекулам в бислойной мембране соединяться в пару «хвост к хвосту» с образованием трансмембранного канала (рис. 28). Гидрофильные части стероидных групп формируют гидрофильную пору вокруг центральной оси, в то время как гидрофобные части направлены к окружающим канал липидным алкильным группам. Ионный канал, образованный молекулами соединения **47**, способен длительное время пребывать в открытом состоянии (рис. 29).

При переходе от соединения **45** к соединению **47** величина электропроводности повышается на 60%, но одновременно на 60% снижается катион/анионная селективность: отношение $P_{\text{K}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ уменьшается от 20 до 8. Эти изменения свидетельствуют об образовании более гидрофильной среды в центре поры при использовании стероидных фрагментов в качестве боковых группировок. Селективность по отношению к катионам Na^+ и K^+ каналов на основе резорцинкаликс[4]аренов **45** и **47** оказалась близкой: $P_{\text{K}^+}/P_{\text{Na}^+} = 3$ (для канала **45**) и 2.8 (для канала **47**).

Ионные каналы на основе резорцинкаликс[4]аренов оказались хорошими моделями для изучения соотношения структура – функции в ионных каналах благодаря наличию в

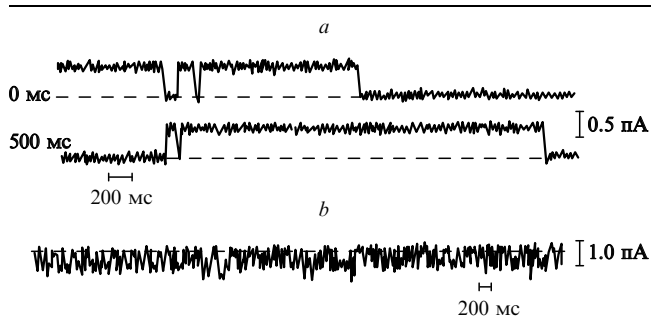
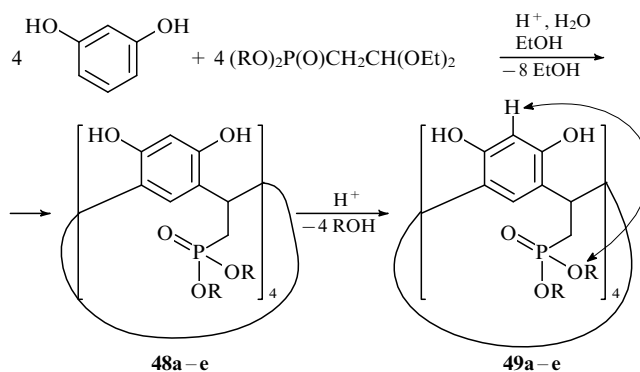


Рис. 29. Временные профили одиночных каналов **47** (a) и **45** (b). a — 0.5 моль KCl, pH 7.2, 70 мВ; b — 0.5 моль KCl, pH 7.2, –74.4 мВ.

них одного уровня проводимости и возможности варьирования хвостовой части. Следует отметить, что соединение **47** имеет определенные преимущества перед соединением **45**, так как стероидный «хвост» стабилизирует открытое состояние канала и способствует легкости модификации гидрофильной поры канала без изменения общей структуры, что подтверждается значениями проводимости и селективности этого канала по отношению к катионам.

Новый подход к созданию ионных каналов на основе нанотрубчатых структур развит в работах казанских химиков.^{97–100} Он основан на самоорганизации функционализированных каликс[4]аренов в стопки за счет специфических взаимодействий (в основном за счет водородного связывания) между группами, подходящим образом ориентированными в пространстве. Была синтезирована серия амфифильных фосфорорганических резорцинкаликс[4]аренов, способных к самоорганизации за счет наличия на нижнем и верхнем ободах макроцикла групп, образующих между собой прочные водородные связи. Разработан оригинальный метод синтеза резорцинкаликс[4]аренов **48a–e**,⁹⁹ содержащих диалкоксифосфорильные группы на нижнем ободе, из которых частичным гидролизом были получены моноэфир фосфоновых кислот **49a–e**.



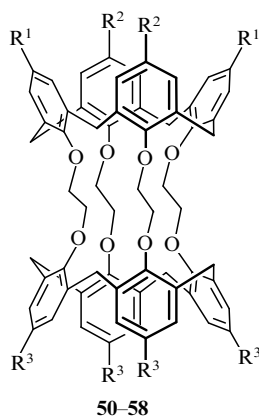
R = Et (a), Prⁿ (b), Prⁱ (c), Buⁿ (d), Buⁱ (e).

Проведенное методом двумерной спектроскопии ЯМР ^1H (NOESY и ROESY) исследование процесса самоагрегации соединений **49a–e** в дейтерохлороформе подтвердило образование в растворе трубчатых агрегатов за счет ассоциации молекул по типу «голова к хвосту». На это указывает и наличие кросс-пиков между атомами водорода алкильных групп фосфорных фрагментов, расположенных на

нижнем ободе макроцикла, и ароматическим атомом водорода, находящимся между двумя гидроксильными группами на верхнем ободе макроцикла (обозначены стрелкой).

2. Каликс[4]ареновые трубки — новый класс селективных калиевых ионофоров

Установление структуры калиевого канала *Streptomyces lividans* воодушевило исследователей на изучение структурных особенностей ионных каналов с помощью синтетических миметиков. Хотя известные синтетические рецепторы на катионы K^+ во многом являются удачными, они не демонстрируют достаточной селективности. Хорошей селективности удалось добиться Биру с соавт.¹⁰¹ Им был синтезирован новый класс криптан-подобных ионофоров **50–58**, на основе бискаликс[4]ареновой структуры. Соединения **50–58** построены из двух каликсареновых фрагментов, соединенных через нижний обод четырьмя этиленовыми группами. Ионные каналы на основе этих соединений демонстрируют высокую селективность по отношению к катионам K^+ по сравнению с другими катионами металлов I группы и Ba^{2+} .



- 50:** $R^1 = R^2 = R^3 = Bu^t$; **51:** $R^1 = R^2 = R^3 = Oct^t$;
52: $R^1 = R^2 = R^3 = H$; **53:** $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = Bu^t$;
54: $R^1 = R^2 = Oct^t$, $R^3 = Bu^t$; **55:** $R^1 = R^2 = Pr^i$, $R^3 = Bu^t$;
56: $R^1 = R^2 = Ph$, $R^3 = Bu^t$; **57:** $R^1 = R^2 = Oct^t$, $R^3 = H$;
58: $R^1 = Bu^t$, $R^2 = R^3 = H$.

Два каликсареновых фрагмента, связанные четырьмя этиленовыми мостиками, обеспечивают для комплексообразования с металлом наличие жесткого ансамбля из восьми донорных атомов кислорода. Каликсареновые фрагменты наделяют конструкцию фильтром, ограничивающим размер входящих катионов, подобно тирозиновому фильтру, существующему в клеточных калиевых каналах.

Варьирование заместителей на верхнем ободе обеспечивает тонкую регуляцию скорости захвата K^+ каликсареновым фрагментом, что было оценено по данным ЯМР об изменениях конформаций в ходе связывания. Селективность комплексообразования соединений **50–58** с K^+ была продемонстрирована методами ЯМР и электроспрей-масс-спектрометрии. По данным РСА (рис. 30) ион калия в соединении **50** локализуется в центре частично уплощенного куба, образованного кислородными атомами, расстояния $K—O$ варьируют от 2.759(6) до 2.809(6) Å. В полостях конусов находятся две молекулы метанола.

Для определения влияния природы противоиона на связывание катиона K^+ было изучено комплексообразование соединения **50** с рядом солей калия. Были установлены значительные различия в величинах связывания катиона K^+ : комплексообразование было наиболее эффективным в случае использования в качестве противоиона иодид-аниона,

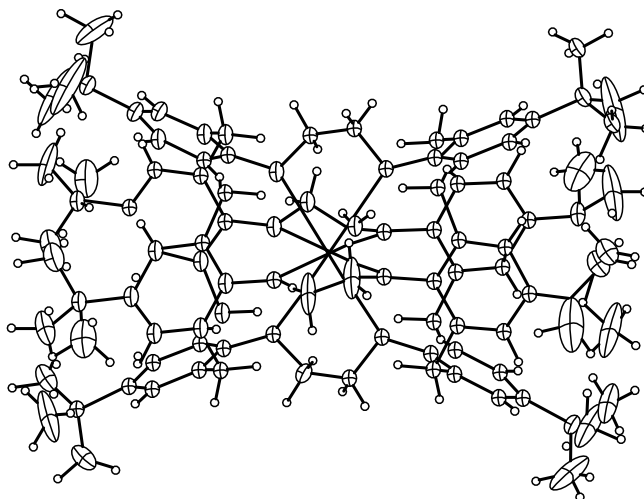


Рис. 30. Структура кристаллического комплекса каликс[4]арена **50** с K^+ .

гексафторфосфата, бензоата и трифлата. Минимальное значение или даже полное отсутствие связывания наблюдалось для нитрата, перхлората и пикрата. Эксперимент по изучению конкурентного связывания катиона калия соединением **50** и [2.2]криптаном показал, что комплекс с каликс[4]ареновой трубкой **50** является чрезвычайно прочным, в то время как при комплексообразовании с криптаном 28% ионов калия после 15 ч остаются незакомплексованными.

Определена селективность комплексообразования каликс[4]ареновых трубок **50–58** с катионом калия по отношению к другим катионам щелочных металлов и Ba^{2+} в смеси хлороформ–метанол (4:1) при 20-кратном избытке иодидов Na^+ , Rb^+ , K^+ , Cs^+ , Ba^{2+} . Только катионы K^+ связываются всеми соединениями **52–58**. Нанотрубка **50** связывает менее 5% Rb^+ , а трубка **51** после 48 ч продемонстрировала 10%-ное связывание катионов Na^+ ; за тот же период времени эти соединения связывают 100% калия. Таким образом, каликс[4]ареновые трубки высокоселективны по отношению к катиону калия и превосходят по селективности ионофоры на основе каликс[4]краунов, которые, несмотря на селективность связывания Na^+/K^+ , демонстрируют значительный захват катионов Rb^+ .

Конкурентное комплексообразование было изучено также с использованием метода электроспрей-масс-спектрометрии. Во всех спектрах эквимольных смесей катионов пики наблюдались только для калиевых комплексов $[M + K^+]$ и $[M + K^+ + 2H_2O]$. Даже в том случае, когда концентрация K^+ снижалась до $2.5 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$, а концентрация конкурирующих катионов сохранялась в пределах $10 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$, масс-спектр показал наличие лишь калий-содержащих комплексов, что доказывает значительную селективность по отношению к K^+ всех синтезированных каликс[4]ареновых трубок.

Для того чтобы прояснить, каким образом катион K^+ входит в каликс[4]ареновую трубку, было проведено молекулярное моделирование этого процесса. Возможны два пути прохождения K^+ через трубку: 1) аксиальный путь, когда катион проходит через каликсареновый фильтр к полиэфирным участкам связывания; 2) экваториальный путь, когда катион координируется непосредственно с группировками криптан-подобных участков связывания. Сначала было изучено влияние на этот процесс заместителей на верхнем ободе макроцикла (H , Bu^t , Oct^t , OH). Было установлено, что трет-бутильные группы играют важную роль в комплексообразовании через изменение конформации каликс[4]арено-

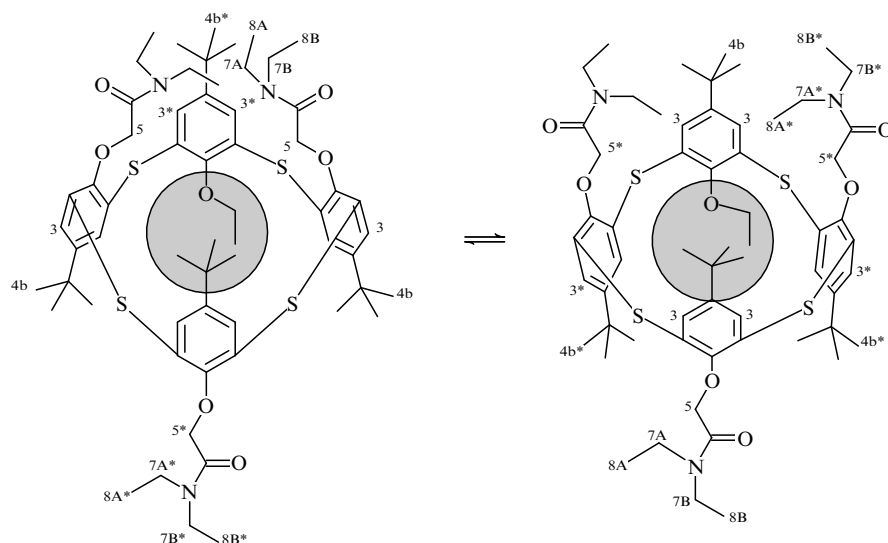


Рис. 31. Переход катиона калия через макроциклическое кольцо соединения **59** в конформации 1,3-альтернат.

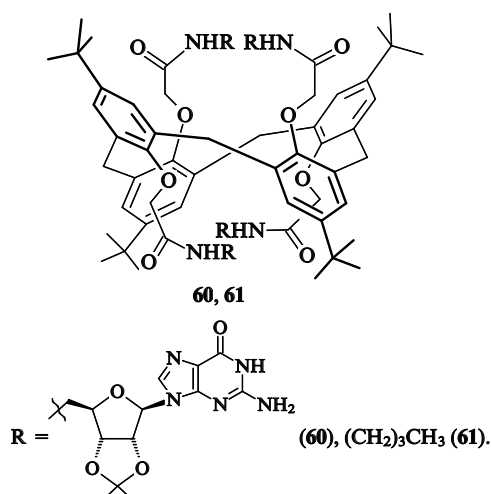
вых трубок, которое не происходит при наличии стерически загруженных *трет*-октильных групп, блокирующих *gggg*-конформацию конуса. Отсутствие алкильных групп на верхнем ободе макроцикла (**52**, $R^1 = R^2 = H$) также лишает полость всякого стимула к изменению конформации.

Для получения сведений о маршруте катиона был проведен расчет методом молекулярной механики энергии катионного комплекса в зависимости от расположения иона калия относительно оси (вдоль и поперек) калликс[4]ареновой трубки с шагом в 0.5 Å. Оказалось, что наиболее энергетически выгодным является прохождение катиона через *трет*-бутильные группы калликс[4]арена и дальнейшее его продвижение вдоль оси к центру нанотрубки. Таким образом, молекулярное моделирование на основе кристаллографических данных подтвердило, что катион калия подходит к атомам кислорода вдоль аксиальной плоскости димера калликсарена, проходя через одну из его липофильных молекулярных полостей.

Экспериментальное подтверждение возможности прохождения K^+ через макроциклическое кольцо тиакаликс[4]арена получено в работе¹⁰², где методом 1D- и 2D-спектроскопии ЯМР 1H в $CDCl_3$ был исследован калиевый комплекс (противоион — хлорид) состава 1:1 тетраамидного производного **59** в конформации 1,3-альтернат. Было показано наличие химического обмена между попарно магнитно неэквивалентными (за счет комплексообразования с K^+) амидными фрагментами, находящимися по разные стороны макроциклической плоскости. Очевидно, что такой обмен возможен лишь в двух случаях: при внутримолекулярном перемещении K^+ между амидными фрагментами, расположенными с разных сторон макроциклической плоскости 1,3-альтерната **59** (рис. 31), и при диссоциации комплекса, образованного на одной стороне макроцикла, с последующим комплексообразованием на другой стороне макроцикла. Второй путь представляется маловероятным в неполярных растворителях ($CDCl_3$) из-за крайне низкой концентрации в таких растворах свободных ионов. Более того, нагревание данного комплекса в неполярной среде приводит к его разрушению и выпадению осадка KCl .

3. Самособирающиеся нанотрубки из объединенных фрагментов калликс[4]арена и гуанозина

В работе¹⁰³ показано, что в присутствии катиона натрия калликс[4]арен **60** в конформации 1,3-альтернат, содержащий фрагменты гуанозина, образует самоорганизующиеся нанотрубки.



Ранее было показано, что теломерная ДНК образует G-комплексы с каналами, заполненными катионами. G-Проволоки, достигающие в длину 1000 нм, могут быть визуализированы с помощью атомно-силовой микроскопии. Данный подход основан на темплатной самоорганизации на катионах металлов гуанозина, образующего в присутствии катионов квартер с водородными связями (рис. 32,а). Циклический G-квартер, стабилизированный катионами Na^+ или K^+ , способен к дальнейшей самоорганизации посредством стеккинга.

Катионы Na^+ инициируют одномерную ассоциацию G_4 -каликс[4]арена **60** (рис. 32,б). Калликс[4]арен **60** в конформации 1,3-альтернат ориентирует две ортогональные пары самокомплементарных G-нуклеозидов таким образом, что они становятся способными к эффективному межмолекулярному связыванию с помощью водородных связей с соседними макроциклами. Процесс сборки полностью обратим.

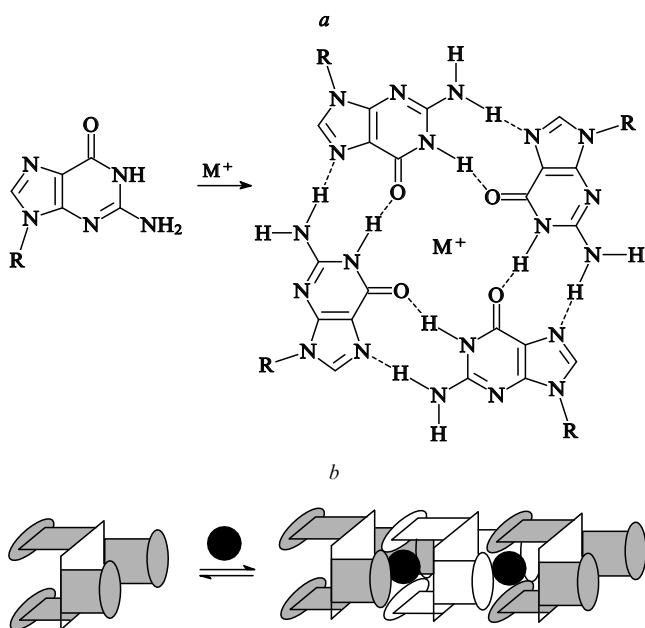


Рис. 32. Темплатная самоорганизация гуанозина на катионах металлов (a) и катион-темплатная самосборка каликс[4]арена **60** в нанотрубку (b).

Квадраты — каликс[4]арен в конформации 1,3-альтернат, эллипсы — гуанозиновые фрагменты, сферы — катион Na⁺.

Для регулирования катион-темплатной агрегации каликс[4]арена **60** можно использовать изменение pH и температуры.

На микрофотографиях соединения **60**, сделанных с помощью электронной трансмиссионной микроскопии, видны протяженные структуры длиной примерно 1 мкм, располагающиеся в виде либо отдельных трубочек, либо связок трубочек (толщиной от 3 до 50 нм). Структуры эти достаточно прямые, без резких изгибов. Толщина отдельных трубочек близка к пределу разрешения микроскопа, т.е. примерно 3 нм.

4. Анионный канал на основе амидокаликс[4]арена

Авторы работы¹⁰⁴ исследовали транспортную активность тетрабутиламидного производного каликс[4]арена в конформации 1,3-альтернат (соединение **61**) по отношению к анионам Cl[−] и HSO₄[−] в липосомах, плоских бислойных липидных мембранах и клетках линии НЕК-293.

Результаты измерения ионной проводимости вместе с данными ЯМР ¹H и РСА свидетельствуют о том, что соединение **61**, во-первых, образует ионные каналы в бислойных мембранах; во-вторых, осуществляет ионный транспорт через клеточную мембрану при положительной разности потенциалов; в-третьих, при градиенте концентрации хлорид-аниона обращает pH внутри липосом; в-четвертых, демонстрирует значительную селективность транспорта Cl[−]/SO₄^{2−}. Каликс[4]арен **61**, связывающий HCl и образующий ионный канал в бислойной липидной мембране, — редкий пример синтетического непептидного ионного канала, демонстрирующего анионную селективность. Способность связывать HCl и транспортная активность этого соединения могут быть объяснены трехмерной структурой каликсарена, его гидрофобностью и наличием в составе молекулы амидных боковых цепей. Изменение любого из этих параметров ведет к переключению селективности с анионной на катионную или к потере транспортной способности. Транспорт анионов соединением **61** происходит

посредством симпорта H⁺/Cl[−] или антипорта Cl[−]/OH[−]. Имеются кристаллохимические данные, свидетельствующие о способности каликс[4]арена **61** образовывать самоорганизующиеся каналы, способные пропускать анионы Cl[−] и молекулы воды. Кроме того, соединение **61** осуществляет потенциал-зависимый селективный транспорт анионов Cl[−] через мембраны клеток НЕК-293. Последнее свойство открывает широкие возможности для изучения соединения **61** в качестве антибиотика, способного к селективному взаимодействию с бактериальной клеткой.

VIII. Заключение

Известно, что клеточные мембраны имеют общую структурную организацию. Они представляют собой бислои фосфолипидов с ассоциированными мембранными белками, ответственными за многие специфические функции. Одни белки работают как рецепторы, отвечая на внешний сигнал активацией ряда внутриклеточных сигнальных каскадов, другие участвуют в переносе ионов и молекул через клеточную мембрану. Создание моделей, имитирующих перенос ионов в биологических системах, необходимо для понимания чрезвычайно сложных мембранных процессов, регулирующих взаимоотношения живых организмов с окружающей средой. Исследование трансмембранных ионных каналов — одно из наиболее активно развивающихся направлений современной биохимии, нанотехнологии, супрамолекулярной химии. Конструирование ионно-молекулярных устройств, имитирующих принципы трансмембранной передачи сигнала, открывает совершенно новые возможности для развития современного естествознания и технологии. Применение простых искусственных каналоподобных систем, являющихся альтернативой естественным пептидам и белкам, приведет к созданию новых наноразмерных структур (нанотрубок, ионных проводов и т.д.) со свойствами абиотических трансмембранных каналов, обеспечивающих ионную проницаемость в естественных системах (клетках). Использование таких систем в биосенсорах является новым технологическим подходом к созданию сенсоров для детектирования различных субстратов как *in vitro*, так и *in vivo*.

В течение последнего десятилетия достигнуты существенные успехи в изучении свойств искусственных ионных каналов и достаточно хорошо разработаны основные требования к их дизайну. Любой трансмембранный ионный канал контактирует как с гидрофобной сердцевиной липидного бислоя, так и с водными растворами. В этой связи каналобразующие структуры должны быть амфифильными. Те участки соединения или ассоциата, которые контактируют с окружающей мембрану водной средой, должны быть обогащены полярными и легко ионизируемыми функциональными группами, а остатки, контактирующие с липидными цепями, должны содержать протяженные неполярные участки, длина которых достаточна для пересечения бислоя. Таким образом, при конструировании каналобразующих структур необходимо учитывать, что встраивающиеся в липидную мембрану молекулы должны состоять из гидрофильной «головы», контактирующей с полярной внешней средой, и неполярного «хвоста», встраивающегося в мембрану за счет гидрофобных взаимодействий. Все это логически следует из энергетических принципов. Кроме того, для связывания и транспорта ионов необходимо наличие внутри бислоя заряженных или полярных групп, т.е. ионные каналы внутри должны быть полярны, а снаружи — гидрофобны.

Можно выделить два основных подхода к конструированию каналобразующих структур. Первое направление — это создание молекул или различных ионных пар, которые при встраивании в фосфолипидную мембрану способны образовывать каналоподобные ассоциаты. Степень агрега-

ции химических частиц в полуканал или канал зависит от многих факторов, поэтому в мембране возможно образование агрегатов самого различного состава.

Большинство искусственных ионных каналов переходит из закрытого состояния в открытое в результате случайных агрегационных процессов в липидном бислое. Иммобилизованные на электродной поверхности самособирающиеся олигомерные ассоциаты, имитирующие свойства биомолекул, — первый шаг в создании новых ионно-молекулярных устройств, применяемых в качестве сенсоров на различные типы химических частиц. Эта техника необходима прежде всего для диагностики и анализа состояния окружающей среды.

Второй подход — это конструирование единой формирующей пору молекулярной структуры, чаще всего содержащей макроциклический фрагмент, которая способна самопроизвольно встраиваться в мембрану. Однако в случае таких структур возможна конкуренция между двумя механизмами транспорта ионов (канал или переносчик). Молекулярные структуры, способные по длине перекрывать фосфолипидные мембраны, являются наноразмерными. В связи с этим открываются широкие перспективы использования подобных структур при миниатюризации различных электронных устройств.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 02-03-07028-ано, 02-03-32934, 03-03-96185), Министерства образования России (грант PD 02-1.3-95) и программы «Фундаментальные исследования и высшее образование» («Basic Research and Higher Education (BRHE), REC-007»).

Литература

- W.Stein. *Carriers, Channels, Pumps: an Introduction to Membrane Transport*. Academic Press, New York; San-Diego, 1990
- B.Hille. *Ionic Channels of Excitable Membranes*. (2nd Ed.). Sinauer Press, Sunderland, MA, 1992
- D.G.Nicholls. *Proteins, Transmitters, and Synapses*. Blackwell, Oxford, 1994
- L.Stryer. *Biochemistry*. (4th Ed.). Freeman, New York, 1995
- G.W.Gokel. *Chem. Commun.*, **1** (2000)
- T.M.Fyles, W.F.van Straaten-Nijenhuis. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry*. Pergamon Press, Oxford, 1996
- T.M.Fyles. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1**, 497 (1997)
- Sh.Futaki. *Biopolymers*, **47**, 75 (1998)
- J.De Mendoza, F.Cuevas, P.Prados, E.S.Meadows, G.W.Gokel. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **37**, 1534 (1998)
- O.Murillo, I.Suzuki, E.Abel, C.L.Murray, E.S.Meadows, G.W.Gokel. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5540 (1997)
- T.D.Clark, L.K.Buehler, M.R.Ghadiri. *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 651 (1998)
- T.M.Fyles, D.Loock, X.Zhou. *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2997 (1998)
- E.Abel, G.E.M.Maguire, O.Murillo, I.Suzuki, S.L.De Wall, G.W.Gokel. *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 9043 (1999)
- N.Sakai, N.Majumdar, S.Matile. *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 4294 (1999)
- B.Baumeister, N.Sakai, S.Matile. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **39**, 1955 (2000)
- F.Robert, J.-Y.Winum, N.Sakai, D.Gerard, S.Matile. *Org. Lett.*, **2**, 37 (2000)
- S.Matile. *Chem. Soc. Rev.*, **30**, 158 (2001)
- M.Sugawara, A.Hirano, P.Buhlmann, Y.Umezawa. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **75**, 187 (2002)
- P.Hughes, E.Dennis, M.Whitecross, D.Llewellyn, P.Gage. *J. Biol. Chem.*, **275**, 823 (2000)
- L.Petit, E.Maiers, M.Gilbert, M.R.Popoff, R.Benz. *J. Biol. Chem.*, **276**, 15736 (2001)
- E.T.Kaiser, F.J.Kezdy. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*, **16**, 561 (1987)
- M.E.Kleinberg, A.Finkelstein. *J. Membr. Biol.*, **80**, 257 (1984)
- J.Bolard. *Biochim. Biophys. Acta*, **864**, 257 (1986)
- S.Clejan, R.Bittman. *Biol. Chem.*, **260**, 2884 (1985)
- E.J.Dufourc, I.C.Smith. *Biochemistry*, **24**, 2420 (1985)
- N.M.Witzke, R.Bittman. *Biochemistry*, **23**, 1668 (1984)
- L.J.O'Neill, J.G.Miller, N.O.Peterson. *Biochemistry*, **25**, 177 (1986)
- G.Medoff, G.A.Kobayashi. *The Polyenes. Antifungal Chemotherapy*. (Ed. D.C.E.Speller). Wiley, New York, 1980
- K.S.Kim, D.P.Vercauteren, M.Welti, S.Chin, E.Clementi. *Biophys. J.*, **47**, 327 (1985)
- S.-S.Sung, P.C.Jordan. *Biophys. J.*, **51**, 661 (1987)
- R.Sarges, B.Witkop. *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 2011 (1965)
- S.Weinstein, J.T.Durkin, W.R.Veatch, E.R.Blout. *Biochemistry*, **24**, 4374 (1985)
- A.Finkelstein, O.S.Andersen. *J. Membr. Biol.*, **59**, 155 (1981)
- Sh.Futaki, M.Fukuda, M.Omote, K.Yamauchi, T.Yagami, M.Niwa, Y.Sugiura. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 12127 (2001)
- P.Mueller, D.O.Rudin. *Nature (London)*, **217**, 713 (1968)
- L.G.M.Goldon, D.A.Haydon. *Biochim. Biophys. Acta*, **255**, 1014 (1972)
- M.Eisenberg, J.E.Hall, C.A.Mead. *J. Membr. Biol.*, **14**, 143 (1973)
- B.Sakmann, G.Boheim. *Nature (London)*, **282**, 336 (1979)
- M.S.P.Sansom. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **55**, 139 (1991)
- G.A.Woolley, B.A.Wallace. *J. Membr. Biol.*, **129**, 109 (1992)
- D.S.Cafiso. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **23**, 141 (1994)
- G.A.Woolley, P.C.Biggin, A.Schultz, L.Lien, D.C.J.Jaikaran, J.Breed, K.Crowhurst, M.S.P.Sansom. *Biophys. J.*, **73**, 770 (1997)
- G.Boheim, W.Hanke, G.Jung. *Biophys. Struct. Mech.*, **9**, 181 (1983)
- E.Bamberg, K.Janko. *Biochim. Biophys. Acta*, **465**, 486 (1977)
- H.-D.Arndt, A.Vescovi, A.Schrey, J.R.Pfeifer, U.Koert. *Tetrahedron*, **58**, 2789 (2002)
- B.A.Cornell, V.L.B.Braach-Maksvytis, L.G.King, P.D.J.Osman, B.Raguse, L.Wieczorek, R.J.Pace. *Nature (London)*, **387**, 580 (1997)
- S.Futaki, Y.J.Zhang, Y.Sugiura. *Tetrahedron Lett.*, **42**, 1563 (2001)
- A.Schrey, A.Vescovi, A.Knoll, C.Rickert, U.Koert. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **39**, 900 (2000)
- C.J.Stankovich, S.H.Hienemann, S.L.Schreiber. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 3702 (1990)
- W.Jing, Zh.Wu, E.Wang. *Electrochim. Acta*, **44**, 99 (1998)
- F.Azam, Ch.M.Blodon. *Tetrahedron Lett.*, **39**, 6377 (1998)
- C.H.Hassal. In *Chemistry and Biology of Peptides: Proceedings of the Third American Peptide Symposium*. (Ed. J.Meinhoffer). Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI, 1972
- H.Ishida, Zh.Qi, M.Sokabe, K.Donowaki, Y.Inoue. *J. Org. Chem.*, **66**, 2978 (2001)
- D.H.Appella, L.A.Christianson, I.L.Karle, D.R.Powell, S.H.Gellman. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 13071 (1996)
- G.P.Dado, S.H.Gellman. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1054 (1994)
- D.H.Appella, L.A.Christianson, D.A.Klein, D.R.Powell, X.Huang, J.J.Barchi Jr., S.H.Gellman. *Nature (London)*, **387**, 381 (1997)
- R.M.Ghadiri, J.R.Granja, R.A.Milligan, D.E.McRee, N.Khazanovich. *Nature (London)*, **366**, 324 (1993)
- N.Khazanovich, J.R.Granja, D.E.McRee, R.A.Milligan, M.R.Ghadiri. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 6011 (1994)
- J.R.Granja, M.R.Ghadiri. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 10785 (1994)
- M.Engels, D.Bashford, M.R.Ghadiri. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 9151 (1995)
- T.D.Clark, M.R.Ghadiri. *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 12364 (1995)
- J.D.Hartgerink, J.R.Granja, R.A.Milligan, M.R.Ghadiri. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 43 (1996)
- F.M.Menger, D.S.Davis, R.A.Persichetti, J.-J.Lee. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 2451 (1990)
- T.B.Stolwijk, E.J.Sudhölter, D.N.Reinoudt, J.van Eerden, S.Harkema. *J. Org. Chem.*, **54**, 1000 (1989)
- T.Renkes, H.J.Schäfer, P.M.Siemens, E.Neumann. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **39**, 2512 (2000)
- S.Das, P.Kurcok, Z.Jedlinski, R.N.Reusch. *Macromolecules*, **32**, 8781 (1999)
- P.H.Рош. *Биохимия*, **65**, 335 (2000)

68. R.N.Reusch, R.P.Huang, L.L.Bramble. *Biophys. J.*, **69**, 754 (1995)
69. U.D.Lengweiler, M.G.Fritz, D.Seebach. *Helv. Chim. Acta*, **79**, 670 (1996)
70. Y.Kobuke, T.Nagatani. *J. Org. Chem.*, **66**, 5094 (2001)
71. Ch.Goto, M.Yamamura, A.Satake, Y.Kobuke. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 12152 (2001)
72. Y.Kobuke, K.Ueda, M.Sokabe. *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 7618 (1992)
73. Y.Kobuke, K.Ueda, M.Sokabe. *Chem. Lett.*, 435 (1995)
74. Y.Kobuke, K.Morita. *Inorg. Chim. Acta*, **283**, 167 (1998)
75. C.J.Stankovic, S.H.Heinemann, S.L.Schreiber. *Biochim. Biophys. Acta*, **1061**, 163 (1991)
76. M.Higuchi, N.Minoura, T.Kinoshita. *Macromolecules*, **28**, 4981 (1995)
77. L.Lien, D.C.J.Jaikaran, Z.Zhang, G.A.Woolley. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 12222 (1996)
78. Y.Kobuke, A.Ohgoshi. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, **169**, 187 (2000)
79. S.L.DeWall, K.Wang, D.R.Berger, S.Watanabe, J.C.Hernandez, G.W.Gokel. *J. Org. Chem.*, **62**, 6784 (1997)
80. N.Su, J.S.Bradshaw, P.B.Savage, K.E.Krakowiak, R.M.Izatt, S.L.De Wall, G.W.Gokel. *Tetrahedron*, **55**, 9737 (1999)
81. E.S.Meadows, L.J.Barbour, F.R.Fronczek, C.M.Evans, S.F.Watkins, G.W.Gokel. *Inorg. Chim. Acta*, **300–302**, 333 (2000)
82. O.Murillo, I.Suzuki, E.Abel, G.W.Gokel. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 7628 (1996)
83. O.Murillo, I.Suzuki, E.Abel, C.L.Murray, E.S.Meadows, T.Jin, G.W.Gokel. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 5540 (1997)
84. B.A.Moyer. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry*. (Ed. G.W.Gokel). Pergamon Press, Oxford, 1996
85. C.D.Hall, G.J.Kirkovits, A.C.Hall. *Chem. Commun.*, 1897 (1999)
86. N.Voyer, L.Potvin, E.Rousseau. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1469 (1997)
87. E.Biron, N.Voyer, J.-Ch.Meillon, M.-E.Cormier, M.Auger. *Biopolymers*, **55**, 364 (2000)
88. L.Jullien, J.-M.Lehn. *Tetrahedron Lett.*, **29**, 3803 (1988)
89. J.Canceill, L.Jullien, L.Lacombe, J.-M.Lehn. *Helv. Chim. Acta*, **75**, 791 (1992)
90. L.Jullien, T.Lazrac, J.Canceill, L.Lacombe, J.-M.Lehn. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1011 (1993)
91. M.J.Pregel, L.Jullien, J.Canceill, L.Lacombe, J.-M.Lehn. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 417 (1995)
92. Y.Tanaka, Y.Kobuke, M.Sokabe. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **34**, 693 (1995)
93. A.Karlin, M.H.Akabas. *Neuron*, **15**, 1231 (1995)
94. A.Ikeda, S.Shinkai. *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 3102 (1994)
95. A.Ikeda, S.Shinkai. *Chem. Rev.*, **97**, 1713 (1997)
96. N.Yoshino, A.Satake, Y.Kobuke. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **40**, 457 (2001)
97. Д.Ш.Ибрагимов, А.А.Хрусталева, И.И.Стойков, И.С.Антипин, А.И.Коновалов. В кн. *Тезисы докладов V Молодежной научной школы-конференции по органической химии*. УрО РАН, Екатеринбург, 2002. С. 192
98. I.S.Antipin, I.I.Stoikov, A.I.Kononov. In *New Approaches in Coordination and Organometallic Chemistry. Look from 21th Century*. Nizhny Novgorod, 2002. P. 3
99. А.Р.Бурилов, Е.В.Попова, М.А.Пудовик, В.Д.Хабихер, А.И.Коновалов. *Журн. общ. химии*, **72**, 1049 (2002)
100. I.I.Stoikov, O.A.Omran, S.E.Solovieva, Sh.K.Latypov, K.M.Enikeev, A.T.Gubaidullin, I.S.Antipin, A.I.Kononov. *Tetrahedron*, **59**, 1469 (2003)
101. S.E.Matthews, P.Schmitt, V.Felix, M.G.B.Drew, P.D.Beer. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 1341 (2002)
102. S.E.Solovieva, A.O.Omran, A.T.Gubaidullin, R.R.Gimadiev, M.Gruner, W.D.Habicher, I.S.Antipin, A.I.Kononov. In *Abstracts of Reports of the 2nd International Symposium «Molecular Design and Synthesis of Supramolecular Architectures»*. Kazan, 2002. P. 135
103. V.Sidorov, F.W.Kotch, M.El-Louedi, J.T.Davis. *Chem. Commun.*, 2369 (2000)
104. V.Sidorov, F.W.Kotch, G.Abdrahmanova, R.Mizani, J.C.Fetting, J.T.Davis. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 2267 (2002)

ARTIFICIAL ION CHANNELS

I.I.Stoikov, I.S.Antipin, A.I.Kononov

Department of Chemistry, Kazan State University

18, Ul. Kremlevskaya, 420008 Kazan, Russian Federation, Fax +7(843)2315–416

A.E.Arbutov Institute of Organic and Physical Chemistry

Kazan Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences

8, Ul. Arbuzova, 420088 Kazan, Russian Federation, Fax +7(843)2315–416

The approaches to the design of artificial ion channels are systemised and the data on their structure, stability and conductivity properties are summarised.

Bibliography — 104 references.

Received 14th March 2003