



УДК 547.96;548.737

## СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ ТЕТРАДЕПСИПЕПТИДОВ

III. \* КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА  
DDDL-ФОРМЫ ЦИКЛОТЕТРАДЕПСИПЕПТИДА  $\gamma$ -[MeVal-HuIv]<sub>2</sub>\*\*

Тищенко Г. Н., Назимова Н. В., Андрианов В. И.,  
Каримов З.

Институт кристаллографии Академии наук СССР, Москва

В кристаллах DDDL-формы циклотетрадепсипептида  $\gamma$ -[MeVal-HuIv]<sub>2</sub> реализуется одна из двух теоретически возможных конформаций молекулы с расположением всех C=O связей по одну сторону от плоскости цикла. Сложноэфирные группы имеют *транс*-, а амидные *цис*-конфигурацию. И те, и другие группы не совсем плоские за счет отклонения углов  $\Delta\omega$ ,  $\varphi_N$  и  $\varphi_C$  от нулевого значения на 14–16°. В трех изученных структурах циклотетрадепсипептидов наблюдается корреляция между величинами углов  $\varphi_C$  и  $\varphi_N$  и длиной связей C'—C $\alpha$  и C'—N: увеличение углов от 0 до 15° сопровождается удлинением связей на 0,04–0,08 Å. Имеет место большая разница в углах C $\alpha$ C'N (~120°) и C $\alpha$ C'O' (~109°). Молекулы в кристаллах DDDL-формы упакованы без нарушения обычных ван-дер-ваальсовских контактов. Кристаллы ромбические *a* 16,86 (5); *b* 12,35 (5) и *c* 11,67 (5) Å,  $\rho_s$  1,20,  $\rho_r$  1,106 г/см<sup>3</sup>, *Z* 4; пространственная группа P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>. Интенсивности отражений измерены на автоматическом дифрактометре ДАР-Б. Структура определена прямым методом, уточнена методом наименьших квадратов (MNR) в изотропном приближении.

Строение стереоизомеров циклического тетрадепсипептида, состоящего из чередующихся остатков N-метилвалина и  $\alpha$ -оксизовалериановой кислоты [2], изучалось методами конформационного анализа, основанного на данных различных физико-химических методов [3], а также расчета общей энергии молекулы [4]. Расчет показал, что в циклических тетрадепсипептидах амидные и сложноэфирные группы имеют соответственно *цис*- и *транс*-конфигурацию, причем пространственное строение цикла представляет собой одну или несколько форм из числа возможных для незамещенного цикла  $\gamma$ -[Gly-Gluco]<sub>2</sub>.

Согласно расчетным данным [4], для DDDL-изомера депсипептида  $\gamma$ -[MeVal-HuIv]<sub>2</sub> возможны две конформации, мало отличающиеся по величине энергии ( $\Delta U_{\text{общ}}$  1,15 ккал/моль), причем в одной из них все C=O связи расположены по одну сторону от плоскости цикла, а в другой одна из C=O связей оказывается на противоположной ее стороне.

В данной статье сообщается о результатах определения структуры DDDL-изомера методом дифракции рентгеновых лучей.

\* Сообщение II см. [1].

\*\* Приняты сокращения: Lac, HuIv, Gluco — соответственно остатки молочной,  $\alpha$ -оксизовалериановой и гликолевой кислот.

Конформационные параметры (град.) для *DDDL*-формы  
В скобках приведены данные расчета [4]

$j$	$\varphi_j$	$\psi_j$	$\omega_j$	$\nu_N$	$\nu_C$
1	102,0(106)	103,0(131)	-178,0	-5,7	0
2	77,0(85)	-123,5(-132)	0		8,0
3	-130,0(-126)	-163,0(-124)	166,0	-15,5	16,5
4	-17,0(-11)	80,5(64)	7,0		0

*Конформация молекулы.* Строение молекулы *DDDL*-формы представлено на рис. 1. Обозначения атомов общепринятые для пептидных систем [5] с видоизменением, предложенным для депсипептидов [6]. Как и в *LDLD*-форме [6], сложноэфирные группы имеют *транс*-, а амидные *цис*-конфигурацию. Все С=О связи расположены по одну сторону от плоскости цикла.

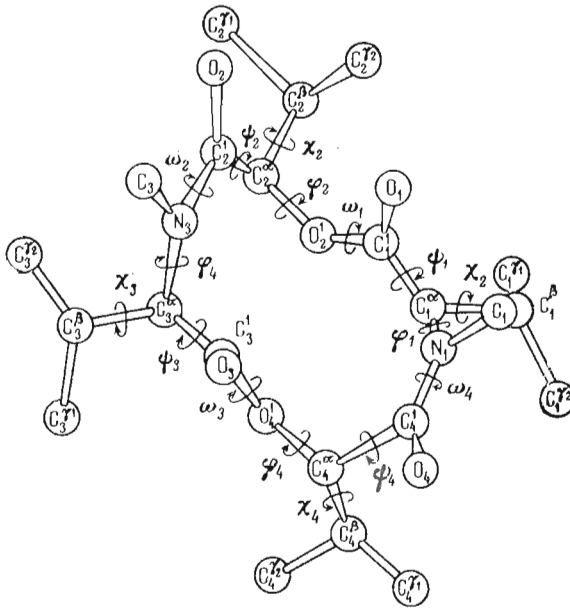


Рис. 1. Конформация молекулы *DDDL*-формы циклотетрадепсипептида  $\gamma$ -[MeVal-HyIv] $_2$

Значения стандартных угловых параметров, определяющих строение как депсипептидного скелета, так и боковых цепей приведены в табл. 1 в сопоставлении с расчетными величинами углов  $\varphi$  и  $\psi$  для одной из двух теоретически возможных конформаций, характеризующихся расположением всех С=О связей по одну сторону плоскости цикла [4].

Длины связей и величины валентных углов (табл. 2 и 3, точность определения 0,02 Å и 1–2°) достаточно хорошо согласуются с соответствующими величинами, найденными в пептидах [7] и в изученной ранее структуре циклического депсипептида  $\gamma$ -[D-HyIv-L-Melle-D-HyIv-L-MeLeu]. Как и в упомянутой структуре в *DDDL*-форме имеет место большая разница в углах С<sup>α</sup>С'N (121,6 и 121,9°) и С<sup>α</sup>С'O' (109,6 и 108,1°).

Величины углов  $\omega$ , в двух случаях из четырех существенно отклоняются от значений 0 и 180°, соответствующих плоскому *цис*- и *транс*-строению

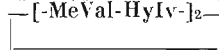
Таблица 2

Длины связей (Å) в структуре *DDDL*-формы  
Обозначения атомов в соответствии с рис. 1

Связь	$j=1$	$j=2$	$j=3$	$j=4$
NC $^{\alpha}$	1,50		1,53	
O'C $^{\alpha}$		1,50		1,48
C $_{j-1}$ N $_j$	1,36		1,45	
C $_{j-1}$ O $_j$		1,36		1,34
C $^{\alpha}$ C'	1,52	1,53	1,56	1,51
C'O	1,16	1,23	1,26	1,31
NC	1,43		1,53	
C $^{\alpha}$ C $^{\beta}$	1,58	1,54	1,54	1,58
C $^{\beta}$ C $^{\gamma}_1$	1,51	1,61	1,54	1,54
C $^{\beta}$ C $^{\gamma}_2$	1,57	1,52	1,47	1,53

Таблица 3

Валентные углы (град.) в структуре *DDDL*-формы тетрадецепептида



Обозначения атомов см. рис. 1

Углы	$j=1$	$j=2$	$j=3$	$j=4$
C $^{\alpha}$ C'O	123,5	116,1	127,5	117,9
OC'N		110,6		122,0
OC'O'	126,8		123,8	
C'NC $^{\alpha}$	125,0		124,0	
C'O'C $^{\alpha}$		114,0		121,6
NC $^{\alpha}$ C'	110,2		108,2	
O'C $^{\alpha}$ C'		109,7		112,6
C $^{\alpha}$ C'N		121,6		121,9
C $^{\alpha}$ C'O'	109,6		108,1	
C'NC	119,5		116,6	
CNC $^{\alpha}$	115,4		118,9	
NC $^{\alpha}$ C $^{\beta}$	114,3		109,0	
C'C $^{\alpha}$ C $^{\beta}$	118,8	115,6	110,4	110,3
O'C $^{\alpha}$ C $^{\beta}$		104,4		109,0
C $^{\alpha}$ C $^{\beta}$ C $^{\gamma}_1$	106,0	110,3	109,6	111,4
C $^{\alpha}$ C $^{\beta}$ C $^{\gamma}_2$	120,5	109,3	108,2	112,4

амидных и сложноэфирных групп ( $\Delta\omega$  7° и 14°), а в двух других случаях очень близки к этим значениям ( $\Delta\omega$  0° и 2°). Однако, как указал Рамачандран с соавт. [8], для полной характеристики пептидной единицы должны быть введены дополнительные углы  $\varphi_N$  и  $\varphi_C$ , характеризующие степень отклонения связей, сходящихся на атомах N и C', от плоского расположения. Согласно расчету, проведенному этими авторами, связи у атома N могут иметь пирамидальную структуру. Анализ рентгеноструктурных данных для 14 малых пептидов, и в том числе одного циклического, показал, что  $|\varphi_N|$  может достигать величины 24,1°, причем  $\varphi_N = -1,5\Delta\omega$ , в то время как величина  $|\varphi_C|$  обычно не превышает 2° (в одном случае 4°) [9]. Для *DDDL*-формы циклотетрадецепептида  $\left[ \text{-MeVal-HyIv-} \right]_2$  значения углов  $|\varphi_N|$  и  $|\varphi_C|$  существенно отличаются от нуля (табл. 2). Таким образом, в этом соединении ни одна из амидных или сложноэфирных групп не является плоской. Расчет значений углов  $\varphi_N$  и  $\varphi_C$  для  $\left[ \text{-L-Melle-D-HyIv-L-MeLeu-D-HyIv-} \right]_1$  по координатам атомов, приведенным в работе Карле и Коннерта [6], дал аналогичные результаты (табл. 4), хотя в отличие от *DDDL*-формы углы  $\varphi_N$  близки к нулю.

В изученной нами *DLLD*-форме тетрадецепептида  $\text{[-MeVal-HyIv-]}_2$  (см. [1]) величина углов  $|\varphi_N|$  для амидных групп и  $|\varphi_{C'}|$  для сложноэфирных групп близки к  $0^\circ$ , а значения углов  $|\varphi_{C'}|$  для амидных групп составляют  $\sim 15^\circ$ .

Таким образом, для 4-членных депептидных циклов нарушение плоскостности пептидных и сложноэфирных групп происходит прежде всего за

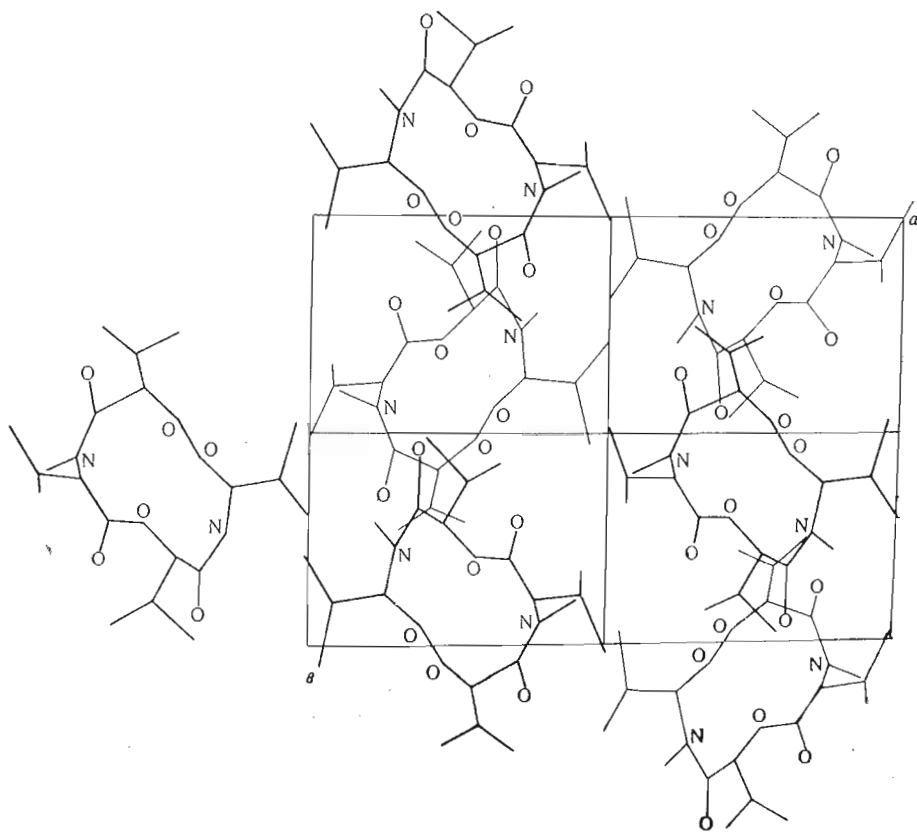


Рис. 2. Упаковка молекул в структуре *DDDL*-формы циклотетрадецепептида  $\text{[-MeVal-HyIv-]}_2$

счет выхода карбонильных атомов кислорода из плоскости остальных атомов. При этом следовало ожидать увеличения длины связи  $\text{C}=\text{O}$  за счет уменьшения степени ее двоевязанности. На самом деле этот эффект либо очень слабо выражен, либо полностью отсутствует. По-видимому, валентное состояние атома  $\text{C}'$  не меняется, а возможность изменения валентных углов у этого атома определяется их упругостью.

Нами была обнаружена прямая связь между величиной угла  $\varphi_{C'}$  и длиной связи  $\text{C}'-\text{C}^\alpha$ : отклонению угла от  $0^\circ$  на  $13-15^\circ$  соответствует удлинение связи на  $0,04-0,08 \text{ \AA}$ . Имеется также корреляция между углом  $\varphi_N$  и длиной пептидной связи: углу  $|\varphi_N| 15,5^\circ$  в *DDDL*-форме соответствует длина связи  $\text{C}'-\text{N}$ , равная  $1,45 \text{ \AA}$  вместо стандартной величины  $1,33-1,34 \text{ \AA}$ .

В связи с обнаруженными закономерностями представляется необходимым дальнейшее накопление структурных данных для циклодецепептидов.

На рис. 2 показана упаковка молекул в структуре *DDDL*-формы и все молекулярные расстояния. Все расстояния превышают суммы соответствующих ван-дер-ваальсовых радиусов.

## Экспериментальная часть

Кристаллы *DDDL*-формы представляли собой вытянутые бесцветные призмы, устойчивые на воздухе. Параметры ромбической решетки определяли по вейсенбергограммам и уточняли на дифрактометре ДРОН-1:  $a$  16,86 (5);  $b$  12,35 (5);  $c$  11,67 (5);  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  90°. Установили также угловой интервал мозаичности образца вдоль оси  $c$  ( $\mu$  0,0093). Систематические погасания однозначно определили пространственную группу симметрии  $P 2_1 2_1 2_1$ . Плотность кристаллов, найденная флотационным методом в водно-солевых смесях, составляла 1,20 г/см<sup>3</sup>. Число молекул в ячейке равно 4, т. е. молекулы занимают одну правильную систему точек  $\rho_T$  1,106 г/см<sup>3</sup>.

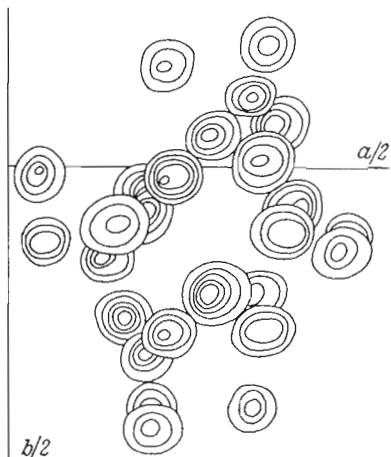


Рис. 3. Сечения через центры пиков синтеза электронной плотности *DDDL*-формы циклотетрапептида  $[-\text{MeVal-HyIv}]_2$  в проекции на плоскость  $xy$

Трехмерный набор интенсивностей получили в автоматическом дифрактометре ДАР-Б на  $\text{CuK}\alpha$ -излучении с применением Ni-фильтра. Интегральную интенсивность измеряли комбинированным  $\omega - \omega/2\theta$  методом [10]. Спектральный интервал излучения был выбран равным

$$\Delta\lambda = \Delta\lambda_{K_{\alpha_1 - K_{\alpha_2}}} + 5(\Delta\lambda_{K_{\alpha_1}} + \Delta\lambda_{K_{\alpha_2}}),$$

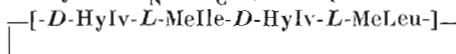
где  $\lambda_{K_{\alpha_1 - K_{\alpha_2}}}$  — разрешение  $K_{\alpha}$  дублета,  $\Delta K_{\alpha_1}$  и  $\Delta K_{\alpha_2}$  — полуширины компонентов дублета. Фон измеряли слева и справа, суммарное время измерения фо-

на было равно времени измерения интегральной интенсивности. Интервал сканирования определяли по стандартной формуле [10].

Всего на слоевых  $hk0 - hk11$  было измерено 2478 рефлексов, которые после усреднения эквивалентных пар дали массив из 1658 независимых ненулевых отражений. Интенсивность считали не равной нулю, если она более чем в 3 раза превышала стандартное отклонение. Поправку на поглощение не вводили, так как  $\mu R$  0,095.

Таблица 4

Значения углов  $\vartheta_N$  и  $\vartheta_C$  для тетрадецептида



$j$	Остаток	$\vartheta_N$	$\vartheta_C$
1	MeIle	0,7	9,9
2	HyIv		5,7
3	MeLeu	4,7	2,3
4	HyIv		13,8

Нецентросимметричную структуру расшифровали автоматическим путем по системе программ «Рентген-73», разработанной для машины БЭСМ-6. Расчет основан на многовариантном методе получения фаз структурных амплитуд [11] и тангенс-формуле Карле и Хауптмана [12] с дальнейшим автоматическим исследованием синтезов Фурье [13].

При расшифровке структуры *DDDL*-формы ( $C_{22}H_{38}O_6N_2$ , 30 независимых неводородных атомов) были посчитаны 1024 варианта фаз. Среди наборов фаз с наилучшими оценками [11] правильный вариант был восьмым по величинам оценок и имел *R*-фактор, равный 0,38. В *E*-синтезе этого варианта среди 30 наибольших пиков, как выяснилось в дальнейшем, было только 17 правильных. Модифицированным методом последовательных

Таблица 5

Координаты и индивидуальные температурные поправки атомов  
в структуре *DDDL*-формы  
В скобках — стандартные отклонения

АТОМ	$x/a$	$y/b$	$z/c$	$B, \text{Å}^2$
$N_1$	0,3825(05)	0,0497(08)	0,3498(08)	2,78(15)
$C_1^\alpha$	0,3741(06)	0,0929(08)	0,2336(09)	2,56(17)
$C_1'$	0,3334(07)	0,2009(10)	0,2359(10)	3,51(20)
$O_1$	0,3434(08)	0,2743(10)	0,3053(11)	6,89(26)
$C_1$	0,4398(09)	0,0999(13)	0,4247(13)	4,95(30)
$C_1^\beta$	0,4574(08)	0,1046(11)	0,1760(12)	3,88(26)
$C_1^{\gamma_1}$	0,4524(09)	0,1490(12)	0,0552(13)	5,03(28)
$C_1^{\gamma_2}$	0,0048(09)	0,0134(12)	0,6674(13)	5,34(30)
$O_2'$	0,2775(04)	0,2066(06)	0,1543(06)	2,46(12)
$C_2^\alpha$	0,2208(07)	0,2999(10)	0,1461(10)	3,18(20)
$C_2'$	0,1850(07)	0,3230(10)	0,2628(11)	3,42(21)
$O_2$	0,1867(07)	0,4206(09)	0,3012(10)	5,52(21)
$C_2^\beta$	0,2582(09)	0,3939(13)	0,0796(14)	5,01(31)
$C_2^{\gamma_1}$	0,1922(11)	0,4765(16)	0,0462(17)	7,71(40)
$C_2^{\gamma_2}$	0,3263(19)	0,4434(25)	0,1233(33)	12,96(89)
$N_3$	0,1464(06)	0,2490(08)	0,3201(08)	2,65(16)
$C_3^\alpha$	0,1302(06)	0,1401(09)	0,2819(10)	2,13(16)
$C_3'$	0,1806(06)	0,0570(09)	0,3474(10)	2,18(16)
$O_3$	0,1833(05)	0,0507(07)	0,4486(08)	3,94(15)
$C_3$	0,1144(08)	0,2751(11)	0,4365(12)	4,48(26)
$C_3^\beta$	0,0421(06)	0,1073(09)	0,2862(10)	2,60(18)
$C_3^{\gamma_1}$	0,4698(07)	0,0120(10)	0,7500(10)	3,29(19)
$C_3^{\gamma_2}$	0,4940(10)	0,3176(13)	0,7900(13)	5,82(32)
$O_4'$	0,2767(04)	0,0023(06)	0,7751(06)	2,31(11)
$C_4^\alpha$	0,2256(07)	0,0867(10)	0,8276(10)	2,79(18)
$C_4'$	0,1542(07)	0,0399(10)	0,8908(11)	2,77(20)
$O_4$	0,1351(06)	0,0836(08)	0,9805(09)	4,80(18)
$C_4^\beta$	0,2053(07)	0,1675(10)	0,7297(11)	3,48(20)
$C_4^{\gamma_1}$	0,1505(09)	0,2578(13)	0,7726(14)	6,01(34)
$C_4^{\gamma_2}$	0,2820(10)	0,2201(12)	0,6830(14)	5,79(33)

Фурье-приближений в автоматическом режиме получали координаты всех атомов структуры. На этой стадии исследования значение фактора расходимости *R* было равно 0,33, причем 29 атомам были приписаны рассеивающие способности атомов С, а двум, входящим в цикл, *f*-кривые атомов О.

Окончательная расстановка атомов по весам снизила величину *R*-фактора до 0,31. Далее провели уточнение МНК в изотропном приближении; конечное значение *R* 0,11,  $B_{\text{общ}}$  0,09 Å. На рис. 3 представлены сечения через максимумы трехмерного синтеза электронной плотности в проекции на плоскость ХУ. Координаты атомов и их индивидуальные температурные поправки приведены в табл. 5.

Авторы признательны В. Т. Иванову и А. В. Евстратову за предоставление кристаллов и полезные обсуждения полученных результатов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Тищенко Г. Н., Каримов З., Борисов В. В. (1975) Биоорганич. химия, **1**, 378–385.
2. Шемьякин М. М., Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Рябова И. Д. (1972) Ж. общ. химии, **42**, 2320–2334.
3. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Peck G. Ya., Shemyakin M. M. (1965) Acta Chim. hung., **44**, 211–218.
4. Плетнев В. З., Попов Е. М. (1970) Изв. АН СССР. Сер. хим., № 5, 991–995.
5. IUPA — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1970) Biochemistry, **9**, 3471–3479.
6. Konnert J., Karle I. L. (1969) J. Amer. Chem. Soc., **91**, 4888–4892.
7. Marsh R. E., Donohue J. (1967) Advan. Protein Chem., **22**, 235–256.
8. Ramachandran G. N., Lakshminarayan A. V., Kolaskar A. S. (1973) Biochim. et biophys. acta, **303**, 8–13.
9. Ramachandran G. N., Kolaskar A. S. (1973) Biochim. et biophys. acta, **303**, 385–388.
10. Хейкер Д. М., Горбатый Л. В., Лубе Э. Л. (1969) Кристаллография, **14**, 251–260.
11. Андрианов В. И., Танопольский Б. Л. (1972) Кристаллография, **17**, 745–749.
12. Karle J., Karle I. L. (1966). Acta Crystallogr., **21**, 849–857.
13. Андрианов В. И., Сафина З. Ш., Тарнопольский Б. Л. (1971) Ж. структурн. химии, **12**, 1052–1057.

Поступила в редакцию  
31.VII.1974

### STRUCTURAL STUDY OF CYCLIC TETRADEPSIPEPTIDES. III. THE CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF DDDL FORM OF CYCLOTETRADEPSIPEPTIDE $[-\text{MeVal-HyIv-}]_2$

TISHCHENKO G. N., NAZIMOVA N. V., ANDRIANOV V. I.

*Institute of Crystallography, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

One of the two theoretically possible conformations for the DDDL-form of cyclotetrapeptide  $[-\text{MeVal-HyIv-}]_2$ , comprising all the carbonyl groups on one side of the ring plane has been found to exist in crystals. The ester and amide bonds have *trans* and *cis* configuration respectively, the groupings of both types being not quite planar due the deviation of the angles  $\Delta\omega$ ,  $\vartheta_N$  and  $\vartheta_C$ , from zero by 14–16°. In the three structures of cyclotetrapeptides that have been determined there exists a correlation between the values of these angles and the bond lengths  $C'-C^{\alpha}$  and  $C'-N$ : increasing of the angles from 0 to 15° is accompanied by bond lengthening by 0.04–0.08 Å. The angles  $C^{\alpha}C'N$  and  $C^{\alpha}C'O'$  differ considerably ( $\sim 120^\circ$  and  $\sim 109^\circ$ , respectively). The molecules in crystals of the DDDL-form were found to pack without making the normal Van der Waals contacts shorter. The crystals are orthorhombic,  $a=16.85$  (5),  $b=12.35$  (5),  $c=11.67$  (5) Å,  $\rho_{\text{exp}}=1.20$ ,  $\rho_{\text{calc.}}=1.106$  g/cm<sup>3</sup>,  $Z=4$ , space group  $P2_12_12_1$ . The X-ray intensity data have been collected with an automatic diffractometer. The crystal structure has been solved using a direct method, refinement being performed by least squares in an isotropic approximation to the R index of 0.11.