



УДК 547.96 + 548.737

© 1993 А. Д. Васильев

СТРОЕНИЕ МОЛЕКУЛ КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО
[Phe¹, Ala⁹]АНТАМАНИДА

Институт физики им. Л. В. Киренского СО РАН, Красноярск

Методами рентгеноструктурного анализа кристаллов определено строение молекул комплекса [Phe¹, Ala⁹]антаманида с четырьмя молекулами воды. Пространственная группа симметрии $P2_12_12_1$; $a = 15,909$; $b = 28,071$; $c = 14,367$ Å; $Z = 4$. Установлены внутри- и межмолекулярные водородные связи с участием молекул воды. Рассчитаны геометрические характеристики. Молекула обладает осевой псевдосимметрией, конформация близка к таковой в антаманиде.

Конформационная гибкость молекул циклических пептидов позволяет молекулам изменять свою форму в зависимости от полярности растворителя, последовательности аминокислотных остатков в цепи молекулы, наличия водородных связей, а также от влияния кристаллического поля. На биохимическую активность практически всегда критическое воздействие оказывает изменение аминокислотной последовательности или состава. Поэтому в первую очередь интерес вызывает модификация биологически активных пептидов и исследование конформации их молекул параллельно с биохимическими исследованиями.

Природный циклический декапептид антаманид



выделен из ядовитого гриба *Amanita phalloides*. Это соединение селективно образует комплексы с ионами щелочных металлов [1], а также нейтрализует печеночный яд фаллоидин [1, 2]. Конформация его молекулы в кристаллическом состоянии известна [3]. Определены также конформации закристаллизованных Li⁺-комплексов антаманида [4, 5] и пергидроантаманида [6], [Phe⁴, Val⁶]антаманида (неполярный растворитель — гексан/метилацетат [7, 8]; полярный — ацетон/ацетонитрил/Ca(NO₃)/вода [9] и диоксан/вода [10]) и Na⁺-комплекса [Phe⁴, Val⁶]антаманида [4, 11]. Кроме того, известны структуры Вг-производных антаманида, закристаллизованных из раствора в смеси ацетонитрил/вода [3] и метанол/вода [12], а также трех тиапролинсодержащих производных, закристаллизованных из раствора в смеси ацетон/вода [13]. Молекулярные структуры всех этих соединений практически идентичны структуре антаманида.

Конформация молекул антаманида и его аналогов в растворителях разной полярности также интенсивно исследовалась с помощью теоретического конформационного анализа и спектроскопических методов [13—18].

В настоящем сообщении излагается строение молекул кристаллического симметричного аналога антаманида, у которого вместо аминокислотных остатков Val¹ и Phe⁹ в цикл включены Phe¹ и Ala⁹. Синтез [Phe¹, Ala⁹]антаманида [19] выполнен как описано ранее [20]; кристаллизация проведена из смеси ацетон/вода (50 : 1). Полученный аналог хуже, чем антаманид, растворяется в воде и обычных

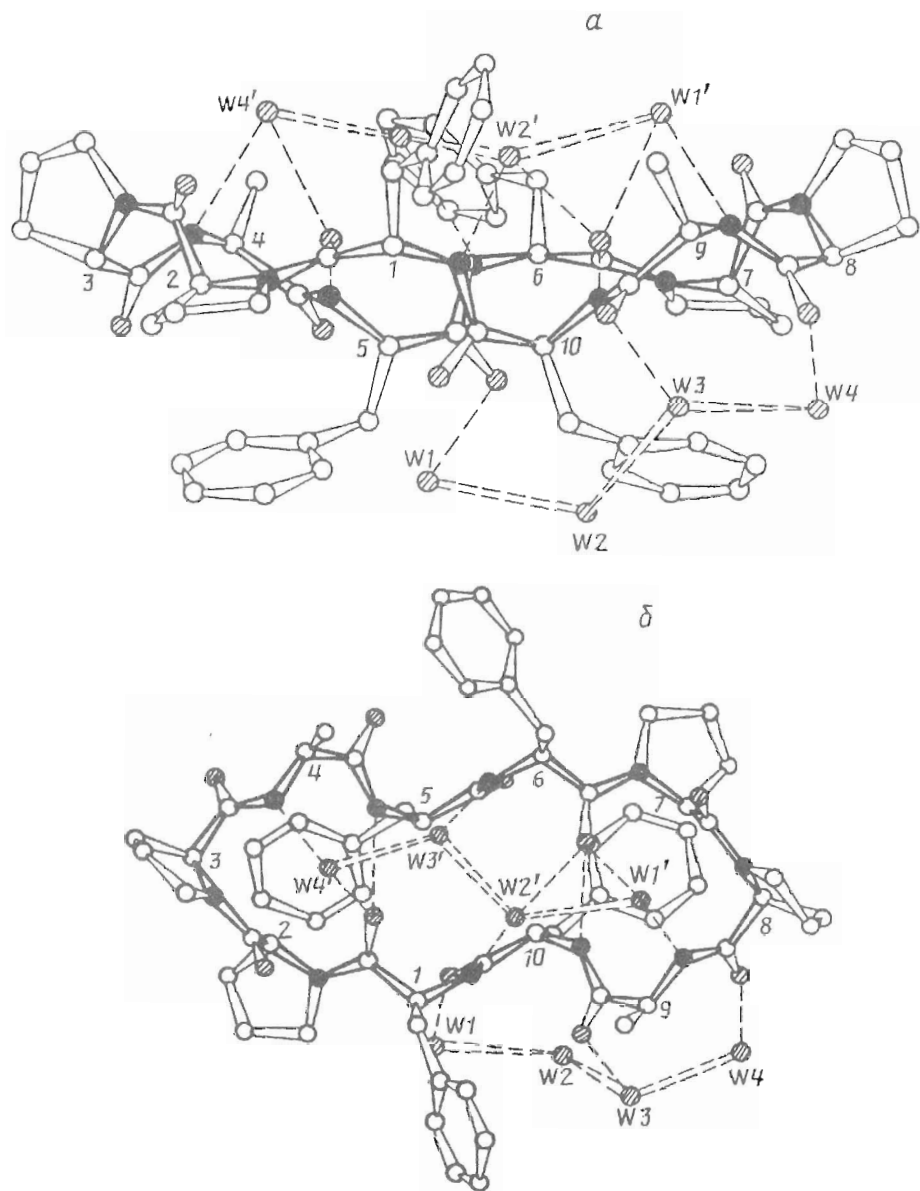


Рис. 1. Молекула [Phe¹, Ala⁹]антамидина в двух проекциях (а, б), перпендикулярных одна другой. Заштрихованы атомы кислорода, зачернены атомы азота. Номера остатков проставлены возле атомов C^α. Возможные водородные связи показаны штриховой линией

органических растворителях и обладает вдвое большей константой устойчивости Na⁺- и K⁺-комплексов. Вместе с тем по избирательности комплексообразования его отличие от антамидина незначительно. Антитоксический эффект [Phe¹, Ala⁹]антамидина против введенного белым мышам 5 мг/кг живого веса фаллоидина приблизительно в 20 раз ниже, чем у самого антамидина. Возможно, это связано с пониженной растворимостью аналога в органических средах [19].

На рис. 1 изображена молекула [Phe¹, Ala⁹]антамидина в двух проекциях. Четыре молекулы воды, обозначенные на рисунках символом W_i¹, образуя водородные связи с некоторыми атомами азота и кислорода молекулы пептида, включаются в комплекс с пептидом аналогично описанному для антамидина [3].

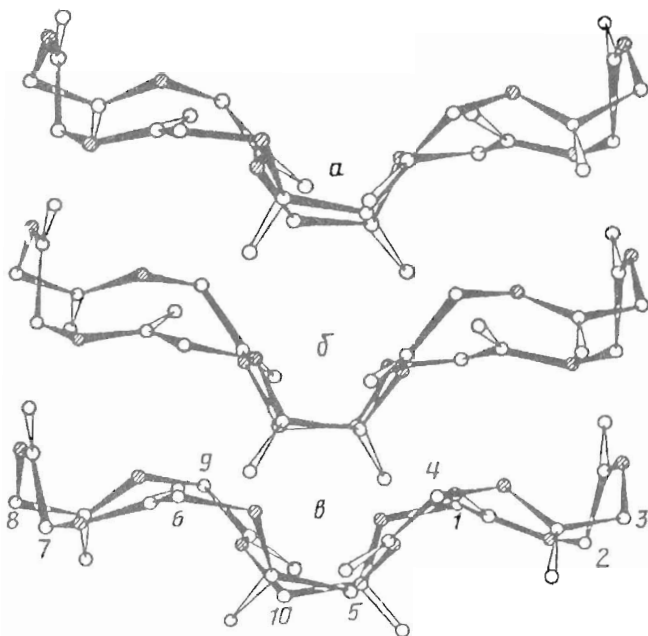


Рис. 2. Полипептидные хребты молекул антаманида [3] (а). [Phe⁴, Val⁶]антаманида [7] (б) и [Phe¹, Ala⁹]антаманида (с). Заштрихованы атомы азота. Номера остатков проставлены у атомов C^α

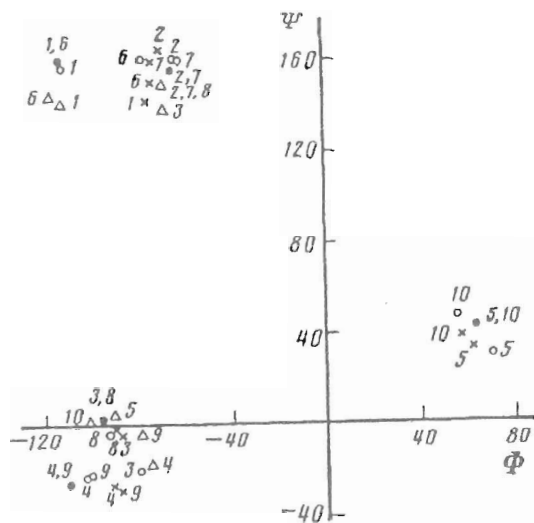


Рис. 3. Конформационная карта Li⁺-комплекса антаманида [4] (светлые треугольники), антаманида [3] (светлые кружки), [Phe⁴, Val⁶]антаманида [7—10] (черные кружки) и [Phe¹, Ala⁹]антаманида (крестики)

Кроме того, три молекулы воды вовлечены в водородные связи с карбонильными кислородами молекулы пептида, расположенной выше. Молекулы воды расположены в *транс*-ориентации, торсионный угол W1' — W2' — W3' — W4' равен —143°; углы в этой цепочке: W1' — W2' — W3' 118°, W2' — W3' — W4' 115°.

В молекулах исследуемого пептида присутствуют две внутримолекулярные водородные связи типа 5 → 1, создающие циклы из 13 атомов, связывая N₅ ...

Конформационные углы (град) в молекуле [Phe¹, Ala⁹]антаманида

Угол	Phe 1	Pro 2	Pro 3	Ala 4	Phe 5	Phe 6	Pro 7	Pro 8	Ala 9	Phe 10
$\Phi_i(N - C^\alpha)$	-76	-70	-88	-92	62	-74	-72	-93	-89	57
$\Psi_i(C^\alpha - C')$	142	165	-4	-26	33	151	160	-3	-28	38
$\omega_i(C' - N_{i+1})$	173	-1	-178	175	178	176	1	-177	180	175
χ_i^1	-88	26	23		-58	-73	29	38		-59
$\chi_i^{2,1}$	-34	-32	-25		-94	-58	-37	-44		-88
$\chi_i^{2,2}$	151				91	123				95
χ_i^3		24	16				31	33		
χ_i^4		-8	0				-12	-8		
χ_i^5		-11	-14				-10	-18		

O₁ и N₁₀ ... O₃ с параметрами: углы — N₅ ... O₁ — C₁' 143°, N₁₀ ... O₅ — C₅' 140°, C₁' — O₁ ... H 146°, C₅' — O₅ ... H 147°; расстояния — N₅ ... O₁ 2,80 Å, N₁₀ ... O₅ 2,89 Å. Эти связи аналогичны присутствующим в антаманиде и [Phe⁴, Val⁶]антаманиде. Однако молекулы трех сравниваемых пептидов несколько различаются по своей скрученности. Так, псевдоторсионный угол O₇ — C₇' ... C₂' — O₂ в молекуле антаманида (рис. 2а) равен —97° и в молекуле [Phe⁴, Val⁶]антаманида (рис. 2б) —91°, в то время как в нашей молекуле это —77° (рис. 2в). Осевая псевдосимметрия [Phe¹, Ala⁹]антаманида сказывается в близости Ф, Ψ-координат соответствующих пар аминокислотных остатков (таблица). Наибольшее отличие от двух других пептидов наблюдается в остатках Phe¹ и Phe⁶ (рис. 3).

Пирролидиновые кольца остатков Pro² и Pro⁷ имеют *twist*-конформацию с симметрией оси второго порядка, проходящей через атом N и связь C^β — C'. В остатке Pro³ конформация кольца — C^β-конверт с плоским расположением остальных атомов и выходом атома C^β из этой плоскости на 0,356 Å. В остатке Pro⁸ кольцо имеет конформацию, промежуточную между C^β-конвертом и *twist*-формой (аналогично Pro² и Pro⁷) с небольшим предпочтением последней. Для сравнения: в молекуле антаманида в остатках Pro² и Pro⁸ конформация пирролидиновых колец — C'- и C^β-конверт соответственно; в Pro³ — *twist* с осью, проходящей через C^α; в Pro⁷ кольцо практически плоское, вероятно вследствие недостаточного уточнения структуры (R=0,15) [3]. В молекуле [Phe⁴, Val⁶]антаманида пирролидиновое кольцо остатка Pro² — C'-конверт, Pro³ — C^β-конверт.

Конформационная динамика остатков Pro антаманида в растворе исследовалась [13, 21] методом ЯМР. Установлено, что Pro³ и Pro⁸ имеют жесткую конформацию с торсионными углами $\chi^1 = 34$, $\chi^2 = -41$, $\chi^3 = 32$, $\chi^4 = -10$ и $\chi^5 = -13^\circ$, которые близки к соответствующим углам в остатке Pro⁸ [Phe¹, Ala⁹]антаманида, в то время как два других остатка принимают две конформации. Первая (с вероятностью 0,4) близка к конформации Pro² и Pro⁷ в [Phe¹, Ala⁹]антаманиде, а вторая (с вероятностью 0,6) не имеет аналогов ($\chi^1 = -26$, $\chi^2 = 43$, $\chi^3 = -43$, $\chi^4 = 28$, $\chi^5 = -1^\circ$).

Таким образом, закристаллизованные из полярных и неполярных растворителей антаманиды и два его симметричных аналога в основных чертах имеют одинаковую конформацию полипептидного хребта. Конформация пептидов в комплексах с ионами щелочных металлов существенно отличается от нее за счет радикального изменения Ф, Ψ-координат остатков Phe⁵ и Phe¹⁰ (рис. 3).

Экспериментальная часть

Кристаллы [Phe¹, Ala⁹]антаманида имеют пространственную группу симметрии $P2_12_12_1$, $a = 15,909(1)$; $b = 28,071(2)$; $c = 14,3672(5)$ Å. В этой ячейке содержатся четыре молекулы исследуемого соединения $C_{62}H_{74}N_{10}O_{10}$. На рентгеновском автодифрактометре КМ-4 фирмы KUMA-diffraction в пределах $\sin \theta / \lambda \leq 0,535$ Å⁻¹ измерены интенсивности 4389 независимых отражений. 3724 отражения с $I \geq 2,5\sigma$, использовались во всех дальнейших вычислениях.

Структура решена с использованием ручного символьного метода [22] и комплекса программ SHELX86. На синтезе электронной плотности локализовались 78 атомов. Четыре атома не принадлежали молекуле исследуемого соединения и были идентифицированы как атомы кислорода молекул воды.

Поскольку из-за вероятной разупорядоченности фенильные группы остатков Phe¹ и Phe⁶ плохо фиксировались на синтезах, их ориентация была определена в усредненном виде, а сами они были заданы в виде идеализированных циклов с расстоянием C—C, равным 1,395 Å, и уточнялись как жесткие группы в изотропном приближении тепловых колебаний (SHELX76). Два других фенильных цикла также были идеализированы, но уточнялись анизотропно и вдобавок были снабжены атомами водорода (в вычисленных положениях). Все вычисляемые атомы водорода, связанные с атомами C, также были соответствующим образом расставлены. На разностных синтезах локализованы 5 из 6 атомов водорода, связанных с атомами азота. Финальные значения факторов расходимости составили: $R = 0,078$; $R_w = 0,086$.

Автор благодарен акад. В. Т. Иванову за предоставление кристаллов и полезное обсуждение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wieland T.//Chemistry and Biology of Peptides/Ed. Meinhofer J. Ann Arbor Sci., Ann Arbor, MI. 1972. P. 377—396.
2. Raymond G., Potreau D., Cognard C., Jahn W., Wieland Th.//Eur. J. Pharmacol. 1987. № 138. P. 21—27.
3. Karle I. L., Wieland T., Schermer D., Ottenheim H. C. J.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. № 4. P. 1532—1536.
4. Karle I. L., Karle J., Wieland T., Burgermeister W., Faulstich H., Witkop B.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1973. V. 70. № 6. P. 1836—1840.
5. Karle I. L.//J. Amer. Chem. Soc. 1974. V. 96. № 12. P. 4000—4006.
6. Karle I. L.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 11. P. 7155—7159.
7. Karle I. L., Karle J., Wieland T., Burgermeister W., Witkop B.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1976. V. 73. № 6. P. 1732—1785.
8. Karle I. L.//J. Amer. Chem. Soc. 1977. V. 99. № 15. P. 5152—5157.
9. Karle I. L., Duesler E.//Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. № 7. P. 2602—2606.
10. Karle I. L.//Int. J. Peptide and Protein Res. 1986. № 28. P. 6—14.
11. Karle I. L.//Biochemistry. 1974. V. 13. № 10. P. 2155—2162.
12. Lotter H., Rohr G., Wieland Th.//Naturwissenschaften. 1984. № 71. S. 46.
13. Kessler H., Bats J. W., Lutz J., Muller A.//Liebigs Ann. Chem. 1989. P. 913—928.
14. Иванов В. Т., Мирошников А. И., Козьмин С. А., Мещерякова Е. Н., Сенявина Л. Б., Уварова Н. Н., Халилулина К. Х., Забродин В. А., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А.//Химия природ. соедин. 1973. № 3. С. 378—394.
15. Громов Э. П., Плетнев В. З., Попов Е. М.//Биоорганич. химия. 1975. Т. 1. № 3. С. 328—339.
16. Громов Э. П., Плетнев В. З., Попов Е. М.//Биоорганич. химия. 1976. Т. 2. № 1. С. 19—27.
17. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T.//Tetrahedron. 1975. V. 31. P. 2177—2209.
18. Kessler H., Muller A., Pook K.-H.//Liebigs Ann. Chem. 1989. P. 903—912.

19. Мирошников А. И., Халилулина К. Х., Уварова Н. Н., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. //Химия природ. соедин. 1973. № 2. С. 214—220.
20. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Мирошников А. И., Халилулина К. Х., Уварова Н. Н. //Химия природн. соедин. 1971. № 4. С. 469—481.
21. Madi Z. L., Griesinger C., Ernst R. R. //J. Amer. Chem. Soc. 1990. № 112. P. 2908—2914.
22. Karle J., Karle I. L. //Acta Cryst. 1966. V. 21. № 6. P. 849—859.

Поступила в редакцию
20.VIII.1992

A. D. Vasil'ev

STRUCTURE OF THE CRYSTALLINE [Phe¹, Ala⁹]ANTAMANIDE MOLECULES

L. V. Kirensky Institute of Physics, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk

The molecular structure of a [Phe¹, Ala⁹]antamanide complex with four water molecules has been determined by X-ray analysis. The antamanide's analogue, C₆₄H₇₄N₁₀O₁₀·4H₂O, crystallizes in the space group *P*2₁2₁2₁ with *a* = 15.909, *b* = 28.071 and *c* = 14.367 Å, *Z* = 4. The molecule contains a pseudo two-fold rotation axis and two *intra*-molecular NH...O=C bonds of the 5 → 1 type, its conformation being similar to that of antamanide. There are *inter*-molecular H-bonds over the water molecules in the structure.