



УДК 547.96 : 548.737

АТОМНАЯ СТРУКТУРА

cyclo(-D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv) —
СТЕРЕОИЗОМЕРНОГО АНАЛОГА ЭННИАТИНА В*Шишова Т. Г., Андрианов В. И., Симонов В. И.,
Плетнев В. З., Евстратов А. Б., Иванов В. Т.,
Овчинников Ю. А.**Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова
Академии наук СССР, Москва;**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Прямым методом по дифракционным данным определена нецентросимметричная кристаллическая структура циклогексадеципептида с брутто-формулой $C_{33}H_{57}N_3O_9$ — *cyclo(-D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv)* — стереоизомерного аналога ионофорного антибиотика энниатина В. Локализованы все неодородные атомы структуры. Кристаллы гексагональные: $a = 13,972(5)$, $c = 32,453(15)$ Å, $z = 6$. Пространственная группа $P6_1$. Координаты неодородных атомов уточнены методом наименьших квадратов в изотропном приближении тепловых колебаний атомов до $R = 13,3\%$. В кристаллическом состоянии обнаружено существование только одного конформера с псевдоаксиальной ориентацией всех карбоксильных групп. В пайденной структуре все сложнэфирные и две N-метиламидные группы имеют *транс*-конфигурацию, третья N-метиламидная группа обладает *цис*-конфигурацией. Длины связей и величины валентных углов в молекуле близки к стандартным величинам для циклических депептидов.

В ходе изучения зависимости между строением и антимикробными свойствами в ряду аналогов депептидного антибиотика энниатина В (I) (см. рис. 1) нами синтезирована [1] группа соединений с общей формулой *cyclo(-(MeVal-HyIv)₃-)**, отличающихся от природного антибиотика последовательностью чередования конфигураций amino- и оксикислотных остатков. Конформационные состояния этих аналогов в растворах были изучены с помощью ряда физико-химических методов [3]. Кроме того, для некоторых из аналогов был выполнен полуэмпирический теоретический конформационный анализ [4].

В настоящем сообщении приводятся результаты рентгеноструктурного исследования одного из соединений указанного ряда — *cyclo(-D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-)* (II) (рис. 1).

Конформация молекулы. Молекулы циклогексадеципептида (II) с брутто-формулой $C_{33}H_{57}N_3O_9$ упаковываются в кристалле согласно законам симметрии пространственной группы $P6_1$, причем средняя плоскость молекулы почти параллельна базисной плоскости гексагональной ячейки кри-

* В работе использованы сокращения аминокислотных остатков, рекомендованные комиссией IUPAC — IUB [2]; HyIv — остатки α-оксизовалериановой кислоты, MeVal — остатки метилвалина.

сталла. На рис. 2 в проекции на плоскость ab дано взаимное расположение молекул в кристалле. Для упрощения чертежа приведен лишь один слой из молекул, располагающихся вблизи уровня $z = 0$. Координаты неводородных базисных атомов структуры и их индивидуальные изотропные температурные факторы B приведены в табл. 1. Наибольшие величины B имеют, как следовало ожидать, атомы боковых цепей C^β и C^γ , находящиеся на периферии молекулы. Длины связей и величины валентных углов в найденной структуре приведены в табл. 2 и 3.

Пространственное строение соединения (II) изображено на рис. 3. Обозначения атомов и конформационных параметров даны в соответствии с номенклатурой, предложенной для пептидных систем [5]. Атомы кислорода сложноэфирных групп, входящие в основную цепь молекулы, обозначены O' [6]. В табл. 4 приведены значения конформационных параметров структуры, двугранных углов θ_N и θ_C (введены Рамачандраном и сотр. [7, 8] для более полной характеристики геометрических параметров амидных и сложноэфирных групп, свидетельствуют о степени отклонения от планарности связей, сходящихся на атомах N и C'), а также углов $\chi^{1,1}$ и $\chi^{1,2}$ (см. рис. 4), указывающих величину двугранных углов, образованных плоскостями атомов NC^2C^β и $C^2C^\beta C^\gamma$ (угол $\chi^{1,1}$) или $C^2C^\beta C^\gamma$ (угол $\chi^{1,2}$).

В отличие от растворов, где соединение (II) существует в виде двух конформеров, различающихся конфигурацией N-метиламидных связей и разделенных достаточно высоким активационным барьером [3], в кристалле реализуется только одна пространственная форма. Характерной особенностью найденной конформации является практически плоское строение циклического остова молекулы и присутствие *цис*-N-метиламидной группы (расположенной между 4-м и 5-м остатками); две остальные метиламидные группы и все сложноэфирные группы имеют *транс*-конфигурацию. Реализация конформации с *цис*-метиламидной группой, вероятно, обусловлена искажением симметрии природного циклогексадепептида — изменена чередующаяся *LDLDD*-последовательность конфигураций остатков; появление конформаций с *цис*-метиламидной связью у аналогов энниатина В наблюдалось также и при замене одного остатка *L*-MeVal на остатки *L*-MeLys, *L*-Lys, *L*-MeGlu или *L*-Glu [9], т. е. при нарушении структурной симметрии цикла.

В настоящее время трудно ответить на вопрос, почему структуры с *цис*-метиламидными группами реализуются в упомянутых циклогексадепептидах. Однако следует отметить, что *цис*-конфигурация третичных амидных групп достаточно часто встречается как в природных, так и в синтетических циклопептидах (см., например, [10, 11]) и даже в линейных пептидах [12, 13].

Хотя найденные конформационные параметры Φ и Ψ кристаллической структуры ложатся вблизи областей, разрешенных по энергиям невалентных взаимодействий на конформационных картах *Ac-D*-MeVal-OMe, *Ac-L*-MeVal-OMe и *Ac-L*-Hylv-NMe₂ (рис. 5), значительное отклонение *цис*-метиламидной группы от планарности ($|\Delta\omega| 24,4^\circ$) и большая вели-

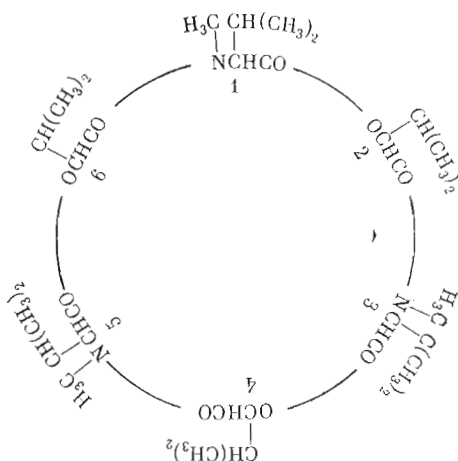


Рис. 4. Строение энниатина В — *LDLDD* (I) и циклогексадепептида — *DLLLLL* (II). Конфигурация асимметрических атомов указана по направлению ацилирования, начиная с первого остатка N-метилваллина

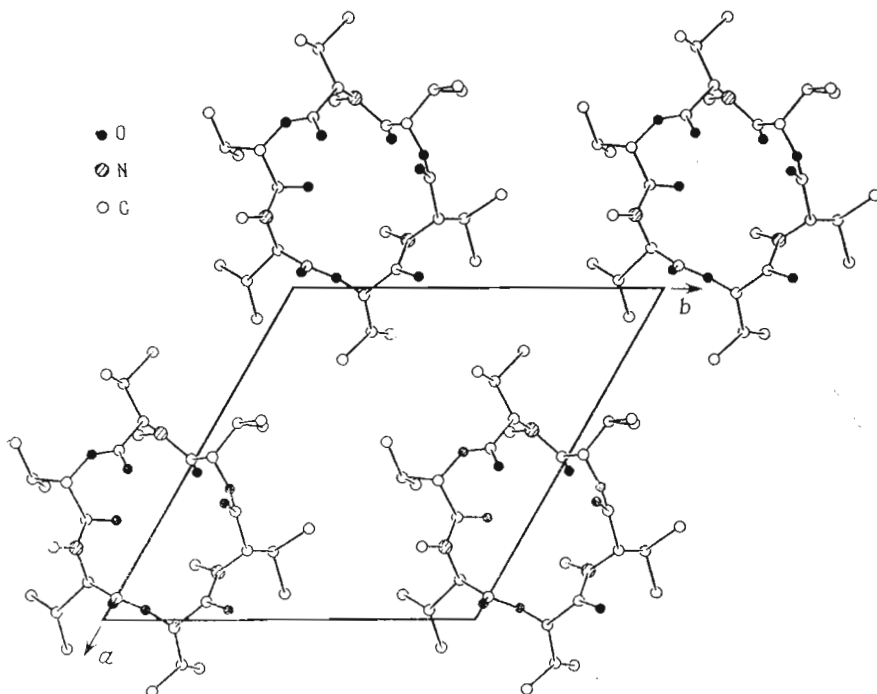


Рис. 2. Упаковка молекул *cyclo* (-D-MeVal-L-HyIV-L-MeVal-L-HyIV-L-MeVal-L-HyIV-) в кристаллической структуре. Проекция на плоскость *ab*. Приведен один слой молекул, располагающихся вблизи уровня $z = 0$

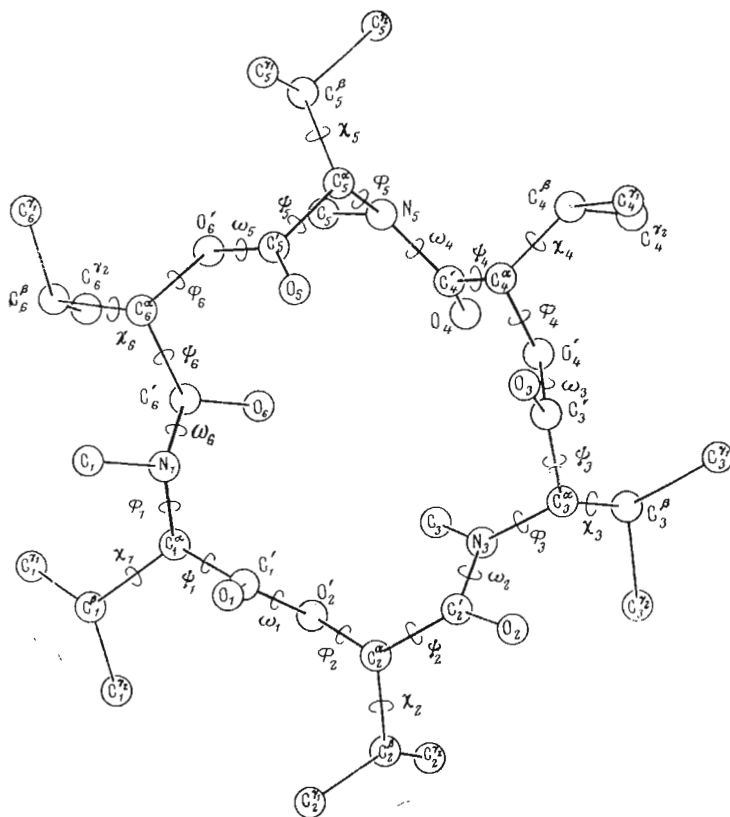


Рис. 3. Конформация циклогексапептида (II) в кристалле

Координаты * и параметры изотропных тепловых колебаний базисных атомов *cyclo*-(D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-) ** (II)

Атомы	x/a	y/b	z/c	$B, \text{Å}^2$	Атомы	x/a	y/b	z/c	$B, \text{Å}^2$
N ₁	0,792	0,813	0,037	3,88	O' ₄	0,615	0,144	0,019	4,36
C ₁	0,792	0,749	0,074	4,93	C ₄ ^α	0,511	0,040	0,023	3,60
C ₁ ^α	0,894	0,902	0,023	3,87	C ₄ ^β	0,441	0,063	0,023	4,96
C ₁ ^β	0,979	0,859	0,016	5,86	C ₄ ^{γ₁}	0,440	0,120	0,063	6,93
C ₁ ^{γ₁}	0,162	0,932	0,148	7,57	C ₄ ^{γ₂}	0,280	0,409	0,153	6,95
C ₁ ^{γ₂}	0,092	0,948	0,002	7,47	C' ₄	0,531	0,505	0,152	3,80
C' ₁	0,939	1,002	0,052	5,31	O ₄	0,532	0,551	0,120	5,47
O ₁	0,948	0,996	0,090	8,64	N ₅	0,571	0,433	0,153	3,73
O' ₂	0,976	0,097	0,033	4,44	C ₅	0,629	0,430	0,116	4,87
C ₂ ^α	0,020	0,198	0,057	4,93	C ₅ ^α	0,396	0,799	0,027	4,02
C ₂ ^β	0,136	0,282	0,041	6,29	C ₅ ^β	0,285	0,695	0,024	4,52
C ₂ ^{γ₁}	0,215	0,239	0,047	7,35	C ₅ ^{γ₁}	0,256	0,633	0,065	6,25
C ₂ ^{γ₂}	0,820	0,136	0,165	7,63	C ₅ ^{γ₂}	0,192	0,723	0,010	6,70
C' ₂	0,947	0,249	0,059	4,53	C' ₅	0,487	0,779	0,041	4,27
O ₂	0,973	0,348	0,087	5,92	O ₅	0,543	0,825	0,072	5,43
N ₃	0,863	0,227	0,031	4,36	O' ₆	0,498	0,707	0,019	3,70
C ₃	0,679	0,835	0,162	5,08	C ₆ ^α	0,590	0,689	0,029	3,55
C ₃ ^α	0,795	0,279	0,040	4,00	C ₆ ^β	0,579	0,593	0,003	4,68
C ₃ ^β	0,799	0,354	0,004	4,48	C ₆ ^{γ₁}	0,475	0,488	0,013	6,14
C ₃ ^{γ₁}	0,731	0,409	0,020	5,45	C ₆ ^{γ₂}	0,968	0,588	0,124	6,83
C ₃ ^{γ₂}	0,479	0,918	0,161	5,95	C' ₆	0,697	0,801	0,019	3,93
C' ₃	0,679	0,185	0,052	4,29	O ₆	0,834	0,698	0,160	4,90
O ₃	0,650	0,153	0,086	6,35					

* Приведены координаты базисных атомов, которые в общем случае не принадлежат одной молекуле.

** Нумерации атомов дана в соответствии с рис. 1.

чина угла θ_N (см. табл. 4) указывают на существование напряжений в цикле. В изученных к настоящему времени родственных циклодепсиептидах (см. работы [6, 15—18] и цитированную там литературу) величина $|\Delta\omega|$ не превышала 15—20°. Для остальных метиламидных и сложнэфирных групп значения углов $|\Delta\omega|$, θ_N и θ_C в гексадепсиептиде (II) (см. табл. 4) лежат в пределах обычных величин, характерных для циклических и линейных пептидов [7, 8].

Боковые цепи всех остатков имеют псевдоэкваториальную ориентацию. В кристаллической структуре $C^{\alpha}H - C^{\beta}H$ протоны аминокислотных остатков имеют незначительно скошенную *транс*-ориентацию, соответствующие протоны в оксикислотных остатках — ориентации, близкие к *гош*-. На основании этих данных можно отнести сигналы $C^{\alpha}H$ -протонов в спектрах 1H -ЯМР циклогексадепсиептида (II) [3]. Наблюдаемые в спектрах ЯМР доминирующей пространственной формы соединения (II) сигналы α -протонов с константой $^3J_{C^{\alpha}H-C^{\beta}H} \approx 11$ Гц следует отнести к сиг-

Таблица 2

Длины связей (Å) в аминокислотных остатках молекулы циклогексадецепептида (II) *

Связь	Номер остатка, j					
	1	2	3	4	5	6
$N_j C_j^\alpha$	1,42	—	1,48	—	1,51	—
$O_i' C_i^\alpha$	—	1,45	—	1,46	—	1,46
$C_j' N_{j+1}$	—	1,38	—	1,37	—	1,38
$C_j' O_{j+1}'$	1,34	—	1,34	—	1,32	—
$C_i^\alpha C_j'$	1,54	1,52	1,54	1,52	1,50	1,57
$C_j' O_j$	1,23	1,24	1,18	1,22	1,23	1,20
$N_j C_j$	1,50	—	1,45	—	1,47	—
$C_j^\alpha C_j^\beta$	1,59	1,52	1,57	1,57	1,51	1,55
$C_j^\beta C_j^{\gamma_1}$	1,57	1,52	1,57	1,53	1,53	1,50
$C_j^\beta C_j^{\gamma_2}$	1,52	1,48	1,52	1,54	1,60	1,52

* Нумерация атомов дана в соответствии с рис. 1.

Таблица 3

Величины валентных углов (град.) в аминокислотных остатках молекулы соединения (II)

Угол	Номер остатка, j					
	1	2	3	4	5	6
$C_j^\alpha C_j' O_i$	123,4	113,8	125,0	120,9	122,5	121,8
$O_j C_j' N_{j+1}$	—	121,9	—	120,7	—	123,2
$O_j C_j' O_{j+1}'$	122,8	—	123,5	—	123,7	—
$C_j' N_{j+1} C_{j+1}^\alpha$	—	116,7	—	121,7	—	116,9
$C_i' O_{j+1}' C_{j+1}^\alpha$	119,5	—	118,0	—	116,4	—
$N_j C_j^\alpha C_j'$	111,7	—	106,9	—	107,9	—
$O_j' C_j^\alpha C_j'$	—	115,2	—	104,4	—	105,5
$C_j^\alpha C_j' N_{j+1}$	—	124,1	—	117,8	—	114,5
$C_j^\alpha C_j' O_{j+1}'$	113,6	—	111,6	—	113,8	—
$N_j C_j^\alpha C_j^\beta$	109,5	—	111,7	—	113,2	—
$O_j' C_j^\alpha C_j^\beta$	—	110,9	—	110,1	—	107,6
$C_j^\beta C_j^\alpha C_j'$	112,7	111,1	115,4	109,9	113,3	111,8
$C_j^{\gamma_1} C_j^\beta C_j^{\gamma_2}$	106,4	111,1	112,1	110,3	111,3	112,4
$C_j^{\gamma_1} C_j^\beta C_j^\alpha$	107,8	111,0	104,7	110,4	110,7	110,3
$C_j^{\gamma_2} C_j^\beta C_j^\alpha$	113,8	113,0	109,0	114,0	110,7	111,5
$C_{j-1}' N_j C_j$	124,0	—	125,3	—	115,7	—
$C_j N_j C_j^\alpha$	118,6	—	118,0	—	118,2	—

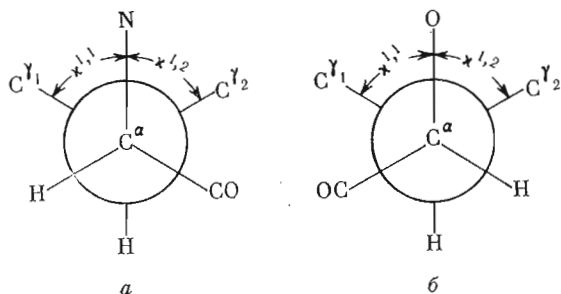


Рис. 4. Обозначение γ -углеродных атомов и конформационных параметров χ в остатках валина (а) и α -оксиэвалериановой кислоты (б) \ddagger

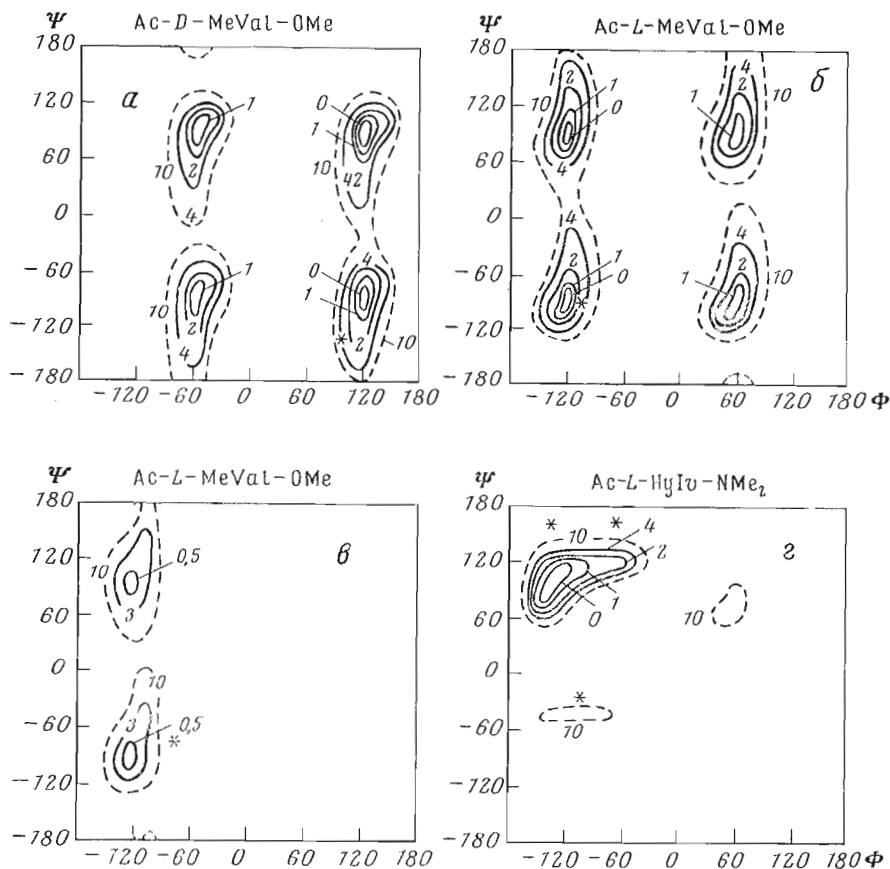


Рис. 5. Конформационные карты соединений, моделирующих фрагменты циклогексадепсиептида (II): а — Ac-D-MeVal-OMe, б — Ac-L-MeVal-OMe, в — Ac-L-MeVal-OMe, г — Ac-L-HyIu-NMe₂ [14]. Конформационные карты а, б, г рассчитаны для соединений с *транс*-метиламидной группой; конформационная карта в рассчитана для *цис*-конфигурации метиламидной группы. Конформационные параметры соответствующих остатков в соединении (II) показаны на конформационных картах звездочками

налам C^{α} -протонов аминокислотных остатков, остальные (величины $^3J_{C^{\alpha}H-C^{\beta}H} \sim 4,5$ и 9 Гц) — к сигналам α -протонов оксикислотных остатков.

Все карбонильные группы имеют псевдоаксиальную ориентацию, причем кислородные атомы карбонильных групп 2, 3 и 5-го остатков расположены над средней плоскостью цикла (рис. 3), соответствующие атомы кислорода 1-го и 4-го остатков — под плоскостью цикла. Имеющаяся

Конформационные параметры циклодесяпептида (II) (град.)

<i>j</i>	Остаток	Φ	Ψ	ω	Δω	^θ N	^θ C'	χ ^{1,1}	χ ^{1,2}
1	<i>D</i> -MeVal	99,8	-134,9	180,0	0	8,1	5,1	63,2	180,0
2	<i>L</i> -HyIv	-106,2	-21,6	176,4	3,6	—	5,1	-62,6	62,9
3	<i>L</i> -MeVal	-111,1	-89,3	167,7	12,3	2,6	0	-175,5	-55,3
4	<i>L</i> -HyIv	-136,1	162,0	-24,4	24,4	—	-9,3	-71,3	53,4
5	<i>L</i> -MeVal	-79,8	-70,2	175,5	4,5	24,4	0	177,4	-58,9
6	<i>L</i> -HyIv	-66,9	162,6	168,2	11,8	—	8,1	-63,6	61,8

внутримолекулярная полость занята *N*-метильной группой 3-го остатка, и в такой конформации цикл не может образовывать ни эквимолекулярных, ни «сандвичевых» комплексов с ионами металлов. Однако добавление избытка соли к раствору соединения (II) в этаноле приводит к перестройке конформации молекулы, и образующаяся новая пространственная структура, хотя и слабо, связывает ионы натрия и калия [3].

Экспериментальная часть

Кристаллы соединения *cyclo(-D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-)* с брутто-формулой $C_{33}H_{57}N_3O_9$ получены из гептана и представляют собой бесцветные, устойчивые на воздухе, хорошо ограненные призмы. Для получения рентгеновских экспериментальных данных был отобран монокристалл размерами 0,30 × 0,20 × 0,20 мм. Рентгенографическое обследование выявило гексагональную симметрию кристаллов; анализ закономерных погасаний дифракционных отражений и априорное отсутствие в молекулах и кристалле центра симметрии позволило однозначно зафиксировать нецентросимметричную федоровскую группу $R6_1$. В примитивной элементарной ячейке размерами $a = 13,972 \pm 0,005$; $c = 32,453 \pm 0,015$ Å подлежало размещению 6 молекул состава $C_{33}H_{57}N_3O_9$.

Трехмерный набор интенсивностей дифракционных отражений был получен на автоматическом дифрактометре в лаборатории фирмы Syntex в США на $CuK\alpha$ -излучении. Массив, использованный для определения структуры, состоял из 2588 независимых ненулевых структурных амплитуд. Поправка на поглощение рентгеновских лучей в образце не вводилась (μ 8,24 см⁻¹).

Структура расшифрована прямыми методами по системе программ «Рентген-73» [19]; расчет основан на многовариантном методе получения фаз [20] с применением тангенс-формулы Карле и Хауптмана и последующем анализе *E*-синтезов, построенных по лучшим наборам фаз. При нормировании структурных амплитуд определен усредненный изотропный параметр тепловых колебаний атомов B 4 Å². По рефлексам с $|E| > 1,5$ составлено 1500 тройных произведений. Для определения фаз структурных амплитуд в качестве опорных выбрано 5 отражений и 1 координатное [21]. Просчитано 512 вариантов фаз, из которых для дальнейшего анализа отобрано 9 лучших наборов. Набор фаз под номером 1 дал решение структуры: *E*-синтез, построенный по этим фазам (R 28,3%), содержал 32 правильных пика среди 45 сильнейших. Три последовательных синтеза Фурье с привисыванием на этом этапе всем атомам *f*-кривых углерода позволили выявить все недостающие неводородные атомы структуры. Сравнение полученной модели молекулы и структурной формулы соединения $C_{33}H_{57}N_3O_9$ с учетом встав найденных пиков и межатомных расстояний позволило провести идентификацию атомов и приписать им соответствующие рассеивающие способности (R 23,1%).

Структура уточнена методом наименьших квадратов по программе комплекса «Кристалл» [22] в приближении изотропных тепловых колебаний атомов до фактора расходимости R 13,3%; $V_{\text{общ}}$ 5,05 Å³. В настоящее время проводится дальнейшее уточнение структуры по программам [23] и поиск 57 базисных атомов Н.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шемякин М. М., Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Рябов И. Д. (1972) Ж. общ. химии, 42, 2320—2334.
2. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1971) Biochem. J., 126, 773—780.
3. Иванов В. Т., Евстратов А. В., Балашова Т. А., Мещерякова Е. А., Портнова С. Л., Быстров В. Ф., Овчинников Ю. А. (1976) Биоорган. химия, 2, 1464—1496.
4. Плетнев В. З., Попов Е. М. (1975) Биоорган. химия, 1, 160—166.
5. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1971) Biochem. J., 121, 577—585.
6. Konnert J., Karle I. L. (1969) J. Amer. Chem. Soc., 91, 4888—4892.
7. Ramachandran G. N., Lakshminarayanan A. V., Kolaskar A. S. (1973) Biochim. et biophys. acta, 303, 8—13.
8. Ramachandran G. N., Kolaskar A. S. (1973) Biochim. et biophys. acta, 303, 385—388.
9. Сумская Л. В., Балашова Т. А., Чумбуридзе Т. С., Мельник Е. И., Михалева И. И., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. (1977) Биоорган. химия, 3, 5—21.
10. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. (1975) Tetrahedron, 31, 2177—2209.
11. Titlestad K. (1975) Acta chem. scand., B 29, 153—167.
12. Yamane T., Ashida T., Kakudo M., Sasada Y. (1975) Acta crystallograph., sec. A, S 47.
13. Иванов В. Т., Костецкий П. В., Балашова Т. А., Портнова С. Л., Ефремов Е. С., Овчинников Ю. А. (1973) Хим. природн. соедин., 339—348.
14. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Плетнев В. З., Архипова С. Ф. (1971) Химия природн. соедин., 184—192.
15. Tishchenko G. N., Karimov Z., Vainshtein B. K., Evstratov A. V., Ivanov V. T., Ovchinnikov Yu. A. (1976) FEBS Lett., 65, 315—318.
16. Hamilton J. A., Steinrauf L. K., Braden V. (1975) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 64, 151—156.
17. Шишова Т. Г., Симонов В. И., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Балашова Т. А., Овчинников Ю. А. (1975) Биоорган. химия, 1, 1689—1701.
18. Тищенко Г. Н., Смирнова В. И., Зейбот Л. Н., Назимова Н. В., Андрианов В. И. (1976) Биоорган. химия, 2, 885—891.
19. Андрианов В. И., Сафина З. Ш., Тарнопольский Б. Л. (1974) Ж. структурн. химии, 15, 911—916.
20. Андрианов В. И., Тарнопольский Б. Л. (1972) Кристаллография, 17, 745—749.
21. Борисов С. В., Головачев В. П., Белов Н. В. (1958) Кристаллография, 3, 269—276.
22. Товбис А. Б., Щедрин Б. М. (1970) Кристаллография, 15, 1127—1134.
23. Мурадян Л. А., Симонов В. И. (1973) Кристаллография, 18, 75—80.

Поступила в редакцию
28.VII.1976

THE ATOMIC STRUCTURE OF *CYCLO* (-D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv)— A STEREOISOMERIC ANALOG OF ENNIATIN B

SHISHOVA T. G., ANDRIANOV V. I., SIMONOV V. I.,
PLETNEV V. Z., EVSTRATOV A. V., IVANOV V. T.,
OVCHINNIKOV Yu. A.

A. V. Shubnikov Institute of Crystallography and M. M. Shemyakin
Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow

The molecular and crystal structure of *cyclo*(-D-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-L-MeVal-L-HyIv-), a stereoisomeric analog of enniatin B, has been solved by direct methods. The crystals are hexagonal, space group $P6_1$, $a = 13.972(5)$ Å, $c = 32.453(15)$ Å, $z = 6$. In crystals, the molecule has a plate-type conformation. One of the methylamide groups has *cis*-configuration, the others — *trans*; ester groups are of *trans* configuration. All carbonyl groups have pseudo-axial orientation, whereas the side chains possess pseudo-equatorial orientation. The molecular structure has a cavity occupied by one of the N-methyl groups.