



УДК 547.96;548.737

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ
ТЕТРАДЕПСИПЕПТИДОВ.II. КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА
DLLD-ФОРМЫ ЦИКЛОТЕТРАДЕПСИПЕПТИДА (-MeVal-HyIv)₂ *

Тищенко Г. Н., Каримов З., Борисов В. В.

Институт кристаллографии Академии наук СССР, Москва

На базе трехмерного набора отражений, полученного в дифрактометре «Нониус», расшифрована структура DLLD-формы тетрадепсипептида (-MeVal-HyIv)₂. Кристаллы моноклинные $a=6,01$ (1), $b=17,78$ (1), $c=11,48$ (1) Å, $\gamma=110,23$ (5)°, $Z=2$, пространственная группа $P2_1/b$. Знаки отражений определены прямым методом Сейра – Захаряна – Конкрена. Структура уточнена методом наименьших квадратов (МНК) в изотропном приближении до R 0,125. Молекула центросимметрична, пептидная и сложноэфирная группы имеют соответственно *цис*- и *транс*-конформацию. Обе группы неплоские за счет заметного выхода карбонильного атома O из плоскости других атомов: $\Lambda\omega=1-2^\circ$, $|\Phi_N|=1^\circ$, $|\Phi_{C'}|=5$ и 15° . Длины связей и величины валентных углов в молекуле близки к стандартным величинам для пептидов.

Группа диастереомеров циклического тетрадепсипептида (-MeVal-HyIv)₂, отличающихся различной последовательностью конфигураций атомов C α , (*D* и *L*), была синтезирована в Институте биоорганической химии АН СССР [1] и подвергнута конформационному анализу с использованием физико-химических [2] и расчетных [3] методов. Рентгеноструктурное исследование одного из соединений циклотетрадепсипептидного ряда (-*D*-HyIv-*L*-MeIle-*D*-HyIv-*L*-MeLeu), отличающегося от вышеупомянутого тетрадепсипептида только строением боковых радикалов [4], подтвердило правильность расчета [3] для DLLD-формы.

Предварительный рентгеновский анализ показал, что для DLLD-формы молекула в кристалле занимает центросимметричную позицию и, вероятнее всего, имеет конформацию с минимальной величиной внутренней энергии $U_{\text{внут}}$ [3].

В статье приводятся результаты определения структуры этой формы методом дифракции рентгеновских лучей.

Конформация молекулы. Строение молекулы DLLD-формы показано на рис. 1. Обозначения атомов даны в соответствии с номенклатурой, предложенной для пептидных систем [5]. Для атомов кислорода сложноэфирных связей принято обозначение O', введенное Карле и Коннертом [4]. Длины связей и величины валентных углов приведены в табл. 1 и 2. В табл. 3 наряду со стандартными конформационными параметрами для пептидной цепи ϕ , ψ , ω , χ даны также параметры $\Phi_{C'}$ и Φ_N , предложенные в последнее время для более полной характеристики пептидной еди-

* Сокращения см. сообщение I, стр. 375.

ницы [6, 7]. Двугранные углы $\vartheta_{C'}$ и ϑ_N (так же как и $\Delta\omega_1$) отражают степень отклонения связей, сходящихся на атомах C' и N от плоской конфигурации. Согласно теоретическому расчету [6], три связи, сходящиеся на атоме азота, могут иметь пирамидальную структуру. Анализ структурных данных для 14 малых пептидов (в том числе одного циклического) [7] показал, что $|v_N|$ может достигать величины $24,1^\circ$, причем имеет место корреляция между величиной $\Delta\omega$ и ϑ_N ($\vartheta_N \sim -1,5\Delta\omega$); в то время как величина $|\vartheta_{C'}|$ обычно не превышает 2° и только в одном случае возрастает до 4° .

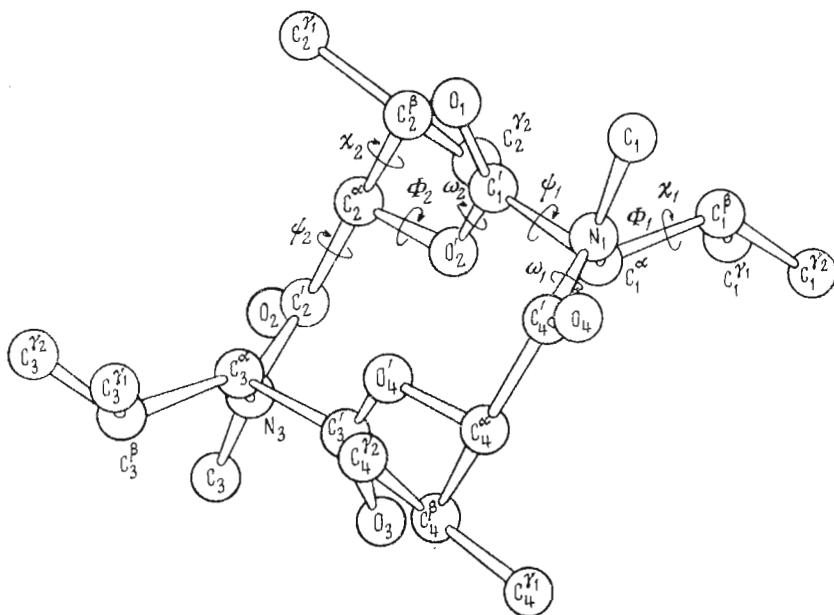


Рис. 1. Конформация молекулы DLLD-формы циклотетрадепептида $(-MeVal-HyIv-)_2$

В DLLD-форме циклотетрадепептида $(-MeVal-HyIv-)_2$ значения углов $\Delta\omega$ и v_N близки к нулю, а величины $\vartheta_{C'}$ существенно от него отличаются за счет значительного выхода атома O из плоскости других атомов пептидных и сложноэфирных групп. Этот результат не вполне согласуется с выводами Рамачандрана и др. [6, 7]. Однако для циклических депептидов возможны существенные отклонения от закономерностей, наблюдаемых для линейных пептидов. В единственном депептиде $(-D-HyIv-L-Melle-D-HyIv-L-MeLeu-)$, изученном ранее [4], имеет место тот же тип нарушения плоскостности пептидных и сложноэфирных групп $\vartheta_{N40'}$ и $4^\circ40'$, $\vartheta_{C'9^\circ}$, $5^\circ40'$, $2^\circ30'$ и $13^\circ50'$ (углы ϑ_N , $\vartheta_{C'}$ вычислены нами по опубликованным [4] координатам атомов).

Конформация пептидного остова молекулы определяется строением двух почти плоских пептидных единиц, имеющих *цис*-конформацию, и двух сложноэфирных группировок в *транс*-конфигурации, а также углами поворота вокруг связей N—C $^\alpha$ (φ) и C $^\alpha$ —C' (ψ). Появление *цис*-конфигурации третично-амидных групп связано со стерическими затруднениями, возникающими при замыкании цикла. В соответствии с centrosимметричностью молекулы C=O связи расположены попарно под и над плоскостью цикла. Экспериментальные значения конформационных параметров близки к вычисленным для энергетически наиболее выгодной структуры цикла [3] (табл. 3).

Длины связей и величины связевых углов (табл. 1 и 2, точность определения 0,02 Å и 0,8°) хорошо согласуются со значениями, найденными

Таблица 1

Длины связей (Å) в структуре *DLLD*-формы
(обозначения в соответствии с рис. 1)

Связи	$j=1,3$	$j=2,4$	Связи	$j=1,3$	$j=2,4$
NC ^α	1,48		C ^β C ^γ	1,57	1,52
O'C ^α		1,48	C ^α C'	1,52	1,56
NC	1,50		C'O	1,26	1,22
C ^α C ^β	1,56	1,56	C'O'		1,34
C ^β C ^γ	1,54	1,58	C'N	1,34	

Таблица 2

Величины валентных углов в структуре *DLLD*-формы
(обозначение атомов см. рис. 1)

Угол	Град.	Угол	Град.
O ₄ C ₄ N ₁	119,1	C ₁ ^γ C ₁ ^β C ₁ ^γ ₂	107,5
O ₄ C ₄ C ₄ ^α	119,6	C ₁ ^α C ₁ ^γ O ₂ '	110,9
C ₄ ^α C ₄ ^γ N ₁	121,1	C ₁ ^α C ₁ ^γ O ₁	124,8
C ₄ ^γ N ₁ C ₁	120,0	O ₁ C ₁ ^γ O ₂ '	124,4
C ₄ ^γ N ₁ C ₁ ^α	121,6	C ₂ ^α O ₂ 'C ₁	115,7
C ₁ N ₁ C ₁ ^α	118,1	O ₂ 'C ₂ ^α C ₂ ^β	108,7
N ₁ C ₁ ^α C ₁ ^β	111,1	C ₂ ^γ C ₂ ^α O ₂ '	103,2
N ₁ C ₁ ^α C ₁ ^γ	109,5	C ₂ ^γ C ₂ ^α C ₂ ^β	115,0
C ₁ ^γ C ₁ ^α C ₁ ^β	110,6	C ₂ ^α C ₂ ^β C ₂ ^γ ₁	108,1
C ₁ ^α C ₁ ^β C ₁ ^γ ₁	109,6	C ₂ ^α C ₂ ^β C ₂ ^γ ₂	117,6
C ₁ ^α C ₁ ^β C ₁ ^γ ₂	107,5	C ₂ ^γ ₁ C ₂ ^β C ₂ ^γ ₂	111,1

Таблица 3

Конформационные параметры для *DLLD*-формы
(в скобках приведены данные расчета [3] для структуры
с минимальной величиной $U_{\text{общ}}$)

j	φ_j	ψ_j	ω_j	ϑ_N	ϑ_C
1	98(103)	-40(-45)	179	1	-15
2	24(22)	-130(-101)	0		5
3	-98(-103)	40(45)	-179	1	15
4	-24(-22)	130(101)	-2		-5

в других пептидах [8], а также в циклотетрадепептиде (*-D*-Hylv-*L*-Melle-*D*-Hylv-*L*-MeLeu-) [14] и свидетельствуют об отсутствии заметных напряжений в цикле.

В табл. 4 приведены длины связей C—H, полученные на данной стадии исследования. Значительный разброс в длинах этих связей говорит о необходимости дальнейшего уточнения структурных параметров атомов водорода.

Таблица 4

Длины связей (Å), включающих атомы Н, в структуре *DLLD*-формы
(обозначения см. рис. 1 и табл. 6)

Связи	$j=1,3$	Связи	$j=2,4$
C—H ₁	0,96	C ^α —H ₁₂	1,13
C—H ₂	1,13	C ^β —H ₁₃	1,02
C—H ₃	1,20	C ^{γ₁} —H ₁₄	1,06
C ^α —H ₄	1,16	C ^{γ₁} —H ₁₅	1,18
C ^β —H ₅	1,08	C ^{γ₁} —H ₁₆	1,08
C ^{γ₁} —H ₆	0,90	C ^{γ₂} —H ₁₇	1,04
C ^{γ₁} —H ₇	0,80	C ^{γ₂} —H ₁₈	1,04
C ^{γ₂} —H ₈	1,28	C ^{γ₂} —H ₁₉	1,28
C ^{γ₂} —H ₉	1,14		
C ^{γ₂} —H ₁₀	0,83		
C ^{γ₂} —H ₁₁	1,28		

На рис. 2 представлена упаковка молекул в структуре и пунктирными линиями показаны кратчайшие контакты между ними. Аномально коротких межмолекулярных расстояний в структуре нет.

Экспериментальная часть

Кристаллы *DLLD*-формы имели форму игл с удлинением вдоль оси *a*. Параметры моноклинной ячейки были определены по рентгенограммам Вайсенберга и уточнены на дифрактометре ДРОН-1: $a=6,02(1)$, $b=17,78(1)$, $c=11,48(1)$ Å, $\gamma=110,23(5)^\circ$. При величине $\rho_{\text{флот}}=1,23$ г/см³ в ячейке объема $V=1153,0$ Å³ содержится 2 молекулы состава C₂₂H₃₈N₂O₆. По систематике погасаний установлена пространственная группа $P2_1/b$. Поскольку кратность общего положения в этой пространственной группе равна 4, молекула занимает частное положение в центре инверсии, т. е. является центросимметричной.

Трехмерный набор интенсивностей был получен на автоматическом трехкружном дифрактометре «Ноннус» на CuK_α-излучения с Ni-фильтром. Угол сканирования ω 0,9°. Всего было зарегистрировано ~3000 отражений. Из массива были исключены рефлексы с разницей интенсивностей эквивалентных отражений, превышающей 15% от их величины. После усреднения по эквивалентным отражениям окончательный набор составил 1300 независимых неэквивалентных отражений.

Структура определена прямым методом Сейра — Захаряссена — Кокрена [9]. Предварительно были нормированы структурные амплитуды и определены коэффициент приведения к абсолютной шкале *K* и общий изотропный температурный фактор $B=2,0$ Å². Из 288 рефлексов с $E \geq 1,2$ были составлены 1643 тройных произведения. В качестве опорных выбраны 10 отражений (в том числе три координатные). Расчет знаков велся с критериями $P_{\text{мин}}$ 0,96 и δ 0,75. Из 128 вариантов знаков автоматически были отобраны 6 лучших, среди которых резко выделился один вариант со следующими оценками: $Q_1=278$, $R_1=0,875$, $Q_2=171$, где Q_1 — число определенных знаков, R_1 — отношение суммы положительных тройных произведений к сумме всех тройных произведений, Q_2 — число отрицательных знаков.

По знакам этого варианта был построен *E*-ряд, координаты наиболее сильных 15 пиков которого были использованы для расчета фаз и по-

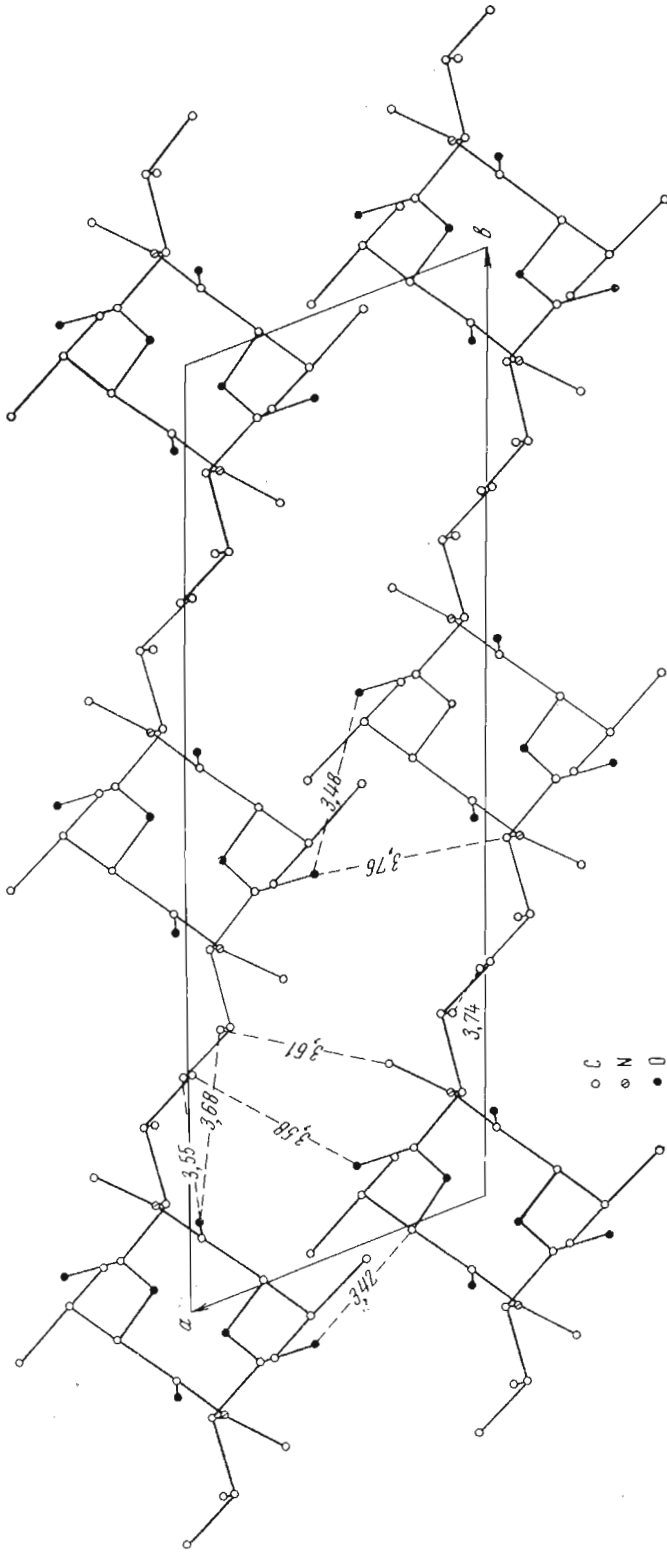


Рис. 2. Упаковка молекул в структуре *D,L,D*-формы циклотетрадеципептида $(-\text{MeVal-HuIv-})_2$

Таблица 5

Координаты атомов и их индивидуальные тепловые поправки
в структуре *DLLD*-формы
(в скобках — стандартные отклонения) *

Атом	x/a	y/b	z/c	B
O ₂ '	0,1226 (10)	0,0393 (3)	0,3837 (6)	2,29 (2)
O ₁	0,5694 (12)	0,4123 (4)	0,0066 (6)	3,71 (2)
O ₄	0,0517 (12)	0,4101 (5)	0,3376 (6)	4,26 (2)
N ₁	0,8904 (15)	0,3758 (6)	0,1610(7)	2,62 (2)
C ₂ ^α	0,2540 (18)	-0,0042 (6)	0,3178 (9)	2,56 (4)
C ₁ ^α	0,9194 (18)	0,3748 (5)	0,0324 (9)	2,55 (4)
C ₁ '	0,2356 (18)	0,0820 (6)	0,4764 (9)	2,30 (4)
C ₂ ^β	0,4143 (18)	0,0524 (6)	0,2266 (9)	3,20 (4)
C ₁ '	0,0612 (19)	0,4235 (6)	0,2312 (9)	2,80 (4)
C ₁ ^β	0,1443 (18)	0,2113 (6)	0,4861 (9)	3,00 (4)
C ₁	0,6770 (18)	0,3149 (6)	0,2165 (9)	3,92 (4)
C ₂ ^{γ1}	0,5909 (18)	0,0138 (6)	0,1758 (9)	4,63 (4)
C ₁ ^{γ1}	0,1143 (17)	0,2115 (6)	0,3527 (9)	4,09 (4)
C ₁ ^{γ2}	1,0203 (18)	0,2496 (6)	0,0388 (9)	4,15 (4)
C ₂ ^{γ2}	0,2913 (18)	0,0814 (6)	0,1314 (9)	3,91 (4)

* Обозначения атомов см. рис. 1.

Таблица 6

Координаты атомов водорода в структуре *DLLD*-формы

Атом	x/a	y/b	z/c	Связан с атомом
H ₁	0,562	0,341	0,233	C ₁
H ₂	0,636	0,251	0,244	C ₁
H ₃	0,574	0,343	0,140	C ₁
H ₄	0,110	0,412	0,004	C ₁ ^α
H ₅	0,686	0,247	0,022	C ₁ ^β
H ₆	0,984	0,182	0,322	C ₁ ^{γ1}
H ₇	0,234	0,215	0,367	C ₁ ^{γ1}
H ₈	0,179	0,157	0,289	C ₁ ^{γ1}
H ₉	0,010	0,252	0,140	C ₁ ^{γ2}
H ₁₀	0,857	0,232	0,495	C ₁ ^{γ2}
H ₁₁	0,962	0,314	0,493	C ₁ ^{γ2}
H ₁₂	0,331	0,474	0,102	C ₂ ^α
H ₁₃	0,480	0,108	0,266	C ₂ ^β
H ₁₄	0,684	0,484	0,270	C ₂ ^{γ1}
H ₁₅	0,490	0,444	0,348	C ₂ ^{γ1}
H ₁₆	0,718	0,064	0,220	C ₂ ^{γ1}
H ₁₇	0,144	0,094	0,155	C ₂ ^{γ2}
H ₁₈	0,320	0,050	0,059	C ₂ ^{γ2}
H ₁₉	0,392	0,140	0,060	C ₂ ^{γ2}

строения трехмерного синтеза электронной плотности, причем рассеивающая способность всех заданных атомов считалась равной рассеивающей способности атома углерода. Фактор расходимости на этом этапе $R=0,33$.

Анализ полученного синтеза Фурье, содержащего 17 пиков, дал возможность сформировать молекулу, причем уже на этой стадии распределение пиков по высотам соответствовало соотношению рассеивающих способностей атомов: 3 наиболее сильных пика отвечали атомам кислорода, следующий — атому азота, 11 — атомам углерода и, наконец, последние два, высота которых составляла не более 0,09 высоты остальных пиков, как было выяснено позже, соответствовали атомам водорода, связанным с атомами C_2^{β} и C_1^{α} (обозначения см. рис. 1).

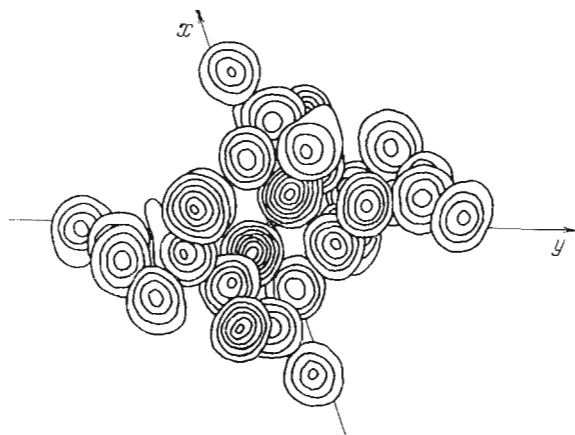


Рис. 3. Сечения через центры пиков синтеза электронной плотности $DLLD$ -формы циклотетрадеcapeптида $[-MeVal-HyIv-]_2$ в проекции на плоскость xy

Методом последовательных приближений рядов электронной плотности с учетом индивидуальных рассеивающих способностей атомов были получены координаты атомов C , N , O , послужившие исходными для уточнения МНК в изотропном приближении с начальным фактором расходимости $R0,266$. Структура уточнена до R -фактора 0,143, $V_{общ}=3,19$ Å. На рис. 3 представлено положение сечений, проведенных через центры пиков окончательного синтеза электронной плотности параллельно плоскости xy . Далее было проведено определение положения атомов водорода из трехмерного разностного ряда Фурье. Анализ пиков полученного синтеза путем подсчета углов и расстояний, включающих атомы водорода ($<CCH$, $<OCH$, $<NCH$, $<HCH$, $C-H$), выявил все 19 атомов водорода независимой части молекулы. При этом 16 из 19 атомов соответствовали пикам, входящим в число 22 сильнейших пиков разностного ряда.

Учет атомов водорода при задании их индивидуальных изотропных температурных факторов равными увеличенным на единицу величинам B для связанных с ними неводородных атомов снизил величину R -фактора до 0,125, т. е. примерно на 0,02. Координаты неводородных атомов вместе с их изотропными тепловыми поправками приведены в табл. 5. Координаты водородных атомов даны в табл. 6. Предполагается дальнейшее уточнение структуры по МНК в анизотропном приближении.

Авторы глубоко признательны В. Т. Иванову и А. В. Евстратову за предоставление кристаллов, а также за полезные обсуждения и постоянный интерес к работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шемякин М. М., Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Михалева И. И., Рябова И. Д. (1972) *Ж. общ. химии*, **42**, 2320–2334.
2. Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T., Peck G. Ya., Shemyakin M. M. (1965) *Acta chim. hung.*, **44**, 211–218.
3. Плетнев В. Э., Попов Е. М. (1970) *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 5, 991–995.
4. Konnert J., Karle I. L. (1969) *J. Amer. Chem. Soc.*, **91**, 4888–4892.
5. IUPAC—IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1970) *Biochemistry*, **9**, 3471–3479.
6. Ramachandran G. N., Lakshminarayan A. V., Kolaskar A. S. (1973) *Biochim. et biophys. acta*, **303**, 8–13.
7. Ramachandran G. N., Kolaskar A. S. (1973) *Biochim. et biophys. acta*, **303**, 385–388.
8. Marsh R. E., Donohue J. (1967) *Advances Protein Chem.*, **22**, 235–256.
9. Андрианов В. И., Гарнопольский В. Л., Шибаева Р. П. (1969) *Ж. структурн. химии*, **10**, 116–123.

Поступила в редакцию
31.VII.1974

STRUCTURAL STUDY OF CYCLIC TETRADEPSIPEPTIDES. II. THE CRYSTAL STRUCTURE OF THE DLLD-FORM OF CYCLOTETRADEPSIPEPTIDE $[-\text{MeVal-HyIv-}]_2$

G. N. TISHCHENKO, Z. KARIMOV, V. V. BORISOV

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

The crystal structure of the DLLD-form of cyclotetradepsipeptide $[-\text{MeVal-HyIv-}]_2$ has been solved by the direct method on the basis of three - dimensional X-ray intensity data collected with an automatic diffractometer. The refinement of the structure has been performed by least squares method with the isotropic thermal parameters to the R index of 0.125. The molecule is centrosymmetrical, N-methyl amide and ester bonds have *cis*- and *trans*-configuration respectively. These groups are non-planar due to considerable deviation of the O atom of the carbonyl group from the plane of other atoms: $\Delta\omega=1$ and 2° , $|\theta_N|=1^\circ$, $|\theta_C|=5$ and 15° . The bond lengths and bond angles (standard deviations 0.02 Å and 0.8°) are close to the standard values for peptides. The material crystallizes in monoclinic space group $P2_1/c$ with the cell parameters $a=6.01$ (1), $b=17.78$ (1), $c=11.48$ (1) Å, $\gamma=110.23$ (5)°, $Z=2$