



УДК 577.182.423:577.112.6.012.7:548.737

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА «ЛОЖНОГО» ВАЛИНОМИЦИНА*
 $CYCLO[-(D-Hyi-Ala-Hyi-D-Val)_3] \cdot 2H_2O$

Попович В. А., Зайцев О. И.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва

Прямыми рентгеновскими методами определена кристаллическая структура синтетического аналога валиномицина $cyclo[-(D-Hyi-Ala-Hyi-D-Val)_3]$ ($C_{54}H_{96}N_6O_{18}$), кристаллизующегося с двумя молекулами воды. Кристаллы тетрагональные, пространственная группа $P4_2$, параметры ячейки a 21,21 Å, b 21,21 Å, c 19,31 Å, Z 4. Величины стандартного (R) и взвешенного (R_w) факторов расхождимости равны 6,6 и 5,4% соответственно. В структуре присутствует псевдоцентр симметрии. Молекула имеет вытянутую форму, стабилизированную двумя водородными связями типа 1→5, образующимися между азотами остатков Ala⁶ и D-Val¹² и карбонильными кислородами соответственно остатков Ala¹⁰ и D-Val⁴. Карбонильные кислороды и боковые цепи характеризуются различными ориентациями по отношению к циклическому остову молекулы. Группы NH 4-го и 10-го остатков ориентированы внутрь молекулы и принимают участие в электростатическом взаимодействии с карбонильными кислородами O₁, O₁₂ и O₆, O₇ соответственно. Сольватная вода образует сетку межмолекулярных водородных связей с CO- и NH-группами депептидных остовов.

Одним из интереснейших мембраноактивных соединений, образующих комплексы с катионами щелочных металлов и увеличивающих катионную проницаемость мембран, является валиномицин. В последние годы большое внимание уделяется изучению строения как самого антибиотика, так и его синтетических аналогов. Ранее были установлены пространственные кристаллические структуры валиномицина [1, 2], его комплексов с металлами [3–6], а также аналогов, различающихся размером цикла [7–9], природой боковых групп [10–14], конфигурацией отдельных остатков [15] и заменой амидных и сложноэфирных групп на метиламидные [16, 17].

В настоящей работе представлены результаты рентгеноструктурных исследований синтетического аналога, так называемого «ложного» валиномицина, отличающегося от природного антибиотика формальной заменой всех амидных групп на сложноэфирные и сложноэфирных на амидные. Это соединение принадлежит к группе аналогов, для синтеза которых был использован топохимический метод модификации биологически активных молекул, предусматривающий трансформацию молекулы в целом [18]. «Ложный» валиномицин не образует комплексов с Na⁺ и K⁺ и не обладает антимикробной активностью [19].

Ранее установлено, что валиномицин, образующий комплексы с ионами щелочных металлов с высокой эффективностью и избирательностью, имеет следующие структурные особенности: отрицательно заряженную полость, выполняющую роль центра связывания катиона, систему из шести β-изгибов и соответственно шести внутримолекулярных водородных связей типа 4→1, стабилизирующих цилиндрическую («браслетную») комплексобразующую конформацию, и гидрофобную периферию, создаваемую боковыми радикалами [20]. «Ложный» валиномицин исследовался спектральными методами в растворах [21]. Было найдено, что у этого аналога дестабилизирована система внутримолекулярных водородных связей и не формируется «браслетная» структура. Этот факт объясняется тем обстоятельством, что при образовании β-изгибов последние включали бы в себя остатки с LL- и DD-конфигурацией, что термодинамически менее выгодно, чем в слу-

* Символ конфигурации L-кислотных остатков опущен.

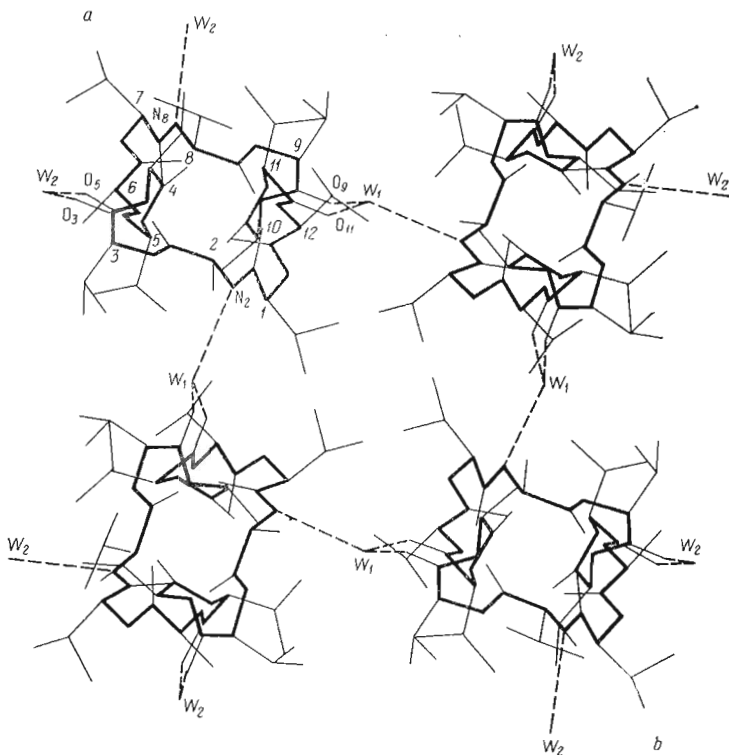


Рис. 1. Упаковка «ложного» валиномицина в кристаллической ячейке в проекции вдоль оси c . W_1 и W_2 соответствуют атомам кислорода молекул воды

чае валиномицина, имеющего LD - и DL -конфигурации остатков в β -изгибах [21].

Цель настоящей работы — установление молекулярной структуры «ложного» валиномицина в кристалле, что позволит объяснить отсутствие комплексобразующей способности у этого аналога и глубже оценить закономерности формирования пространственной структуры пептидов и депсипептидов. Координаты и тепловые параметры неводородных атомов исследуемой молекулы и двух сокристаллизующихся молекул воды даны в табл. 1, из которой видно, что атомы боковых групп имеют наибольшие тепловые колебания. Боковые группы оксикислотных остатков D - Hui^5 и Hui^{14} характеризуются статистической неупорядоченностью и занимают каждая две позиции с коэффициентами заполнения у обоих остатков 0,8 и 0,2. Величины валентных связей и углов приведены в табл. 2 и 3. Геометрические параметры имеют в основном значения, характерные для депсипептидных соединений [15]. Средняя длина связи $\text{N}(\text{O}')-\text{C}'$ 1,44 Å, что короче обычной на 0,03 Å. Исключения составляют также заниженные значения длин валентных связей $\text{C}^\beta-\text{C}^\gamma$ боковой цепи у остатка D - Hui^5 (1,467; 1,472; 1,435 Å). Это, по-видимому, объясняется его статистической неупорядоченностью. Отметим, что еще большие отклонения у аналогичных оксикислотных остатков найдены в структуре кристаллического $[\text{MeAla}^2]$ валиномицина [16].

Упаковка молекул в кристаллической ячейке в проекции вдоль оси c показана на рис. 1. Каждая молекула воды в кристалле образует три водородные связи, одна из которых относится к типу $\text{N}-\text{H}\dots\text{O}$ (возникает между NH -протоном и кислородом молекулы воды), а две другие — к типу $\text{O}-\text{H}\dots\text{O}$ (возникает между двумя OH -протонами молекулы воды и карбонильными кислородами). Молекулы воды соединяют посредством сети этих водородных связей эквивалентные молекулы «ложного» валиномицина в ячейке, стабилизируя кристаллическую упаковку. Из рис. 2 видно, что средние значения расстояний $\text{N}\dots\text{O}$ составляют 2,90 Å, $\text{O}\dots\text{O}$ — 2,79 Å,

Координаты ($\times 10^4$) и параметры анизотропного теплового движения (\AA^2) атомов «ложного» валиномицина*
 В скобках даны стандартные отклонения

АТОМ	x/a	y/b	z/c	B_{11}	B_{22}	B_{33}	B_{12}	B_{13}	B_{23}
O_1^I	3490 (3)	3828 (3)	493 (0)	14,61 (46)	7,49 (30)	6,51 (27)	-1,11 (32)	2,91 (32)	-0,05 (26)
C_1^a	3811 (4)	3465 (4)	-6 (4)	9,54 (54)	7,66 (48)	9,46 (50)	-1,37 (43)	-0,51 (47)	1,38 (45)
C_1^I	3400 (4)	3264 (5)	-633 (5)	8,77 (49)	9,34 (54)	10,73 (60)	-0,90 (44)	-0,27 (48)	2,46 (50)
O_1	2817 (3)	3374 (4)	-568 (4)	9,23 (37)	15,28 (54)	10,10 (38)	1,74 (40)	-0,20 (33)	-3,28 (41)
C_1^B	4390 (5)	3874 (6)	-260 (6)	9,30 (62)	12,77 (73)	14,35 (84)	-4,80 (58)	0,57 (59)	0,65 (57)
C_1^{Y1}	4145 (7)	4504 (7)	-580 (9)	16,22 (97)	11,99 (84)	18,44 (108)	-6,65 (80)	-3,07 (93)	6,28 (85)
C_1^{Y2}	4823 (6)	4016 (6)	372 (7)	13,87 (85)	11,98 (73)	13,11 (75)	-5,16 (66)	-3,63 (72)	0,54 (68)
N_2	3674 (3)	2982 (3)	-1138 (3)	7,77 (36)	7,96 (37)	5,84 (30)	-1,00 (34)	2,15 (28)	-0,44 (29)
C_2^a	3304 (4)	2724 (4)	-1694 (4)	9,05 (47)	7,51 (44)	6,09 (40)	0,05 (39)	0,22 (38)	0,71 (37)
C_2^I	3049 (4)	2102 (4)	-1568 (4)	9,14 (48)	9,80 (52)	5,99 (43)	0,89 (43)	-1,44 (44)	0,24 (43)
O_2	2712 (5)	1827 (4)	-1963 (4)	19,36 (71)	11,21 (44)	12,60 (44)	-2,40 (48)	-9,09 (51)	1,39 (41)
C_2^B	3715 (5)	2678 (7)	-2373 (4)	11,79 (68)	17,40 (99)	6,10 (44)	0,63 (71)	1,90 (49)	-1,76 (58)
O_3	3220 (2)	1848 (3)	-960 (2)	7,39 (26)	8,75 (29)	5,27 (24)	-1,03 (24)	0,39 (21)	0,03 (23)
C_3^a	3089 (4)	1211 (4)	-795 (4)	7,16 (40)	8,72 (46)	6,80 (39)	-1,03 (38)	0,30 (36)	0,39 (39)
C_3^B	3634 (4)	813 (4)	-683 (5)	7,21 (43)	8,23 (46)	9,89 (53)	1,08 (38)	0,78 (42)	0,64 (44)

Таблица I (продолжение)

АТОМ	α/a	β/b	z/c	B_{11}	B_{22}	B_{33}	B_{12}	B_{13}	B_{23}
$C_3^{\gamma 1}$	4012 (5)	0808 (6)	-1385 (6)	9,88 (62)	11,51 (65)	15,66 (80)	1,35 (56)	3,98 (63)	0,93 (65)
$C_3^{\gamma 2}$	3989 (5)	1061 (5)	-58 (5)	9,98 (61)	12,58 (69)	10,58 (61)	0,17 (55)	-3,47 (55)	1,76 (58)
C_3^{γ}	2596 (4)	1183 (4)	-201 (3)	6,80 (39)	8,44 (44)	5,61 (35)	-1,05 (36)	-0,07 (32)	0,27 (35)
O_3	2399 (3)	657 (3)	-24 (3)	10,26 (37)	9,27 (33)	8,50 (30)	-1,64 (29)	2,83 (30)	-0,64 (28)
N_4	2424 (3)	1722 (3)	119 (3)	7,09 (32)	8,14 (36)	5,61 (29)	-0,24 (28)	1,17 (27)	0,20 (28)
C_4^{α}	1929 (4)	1750 (4)	622 (3)	6,74 (40)	11,68 (55)	4,16 (32)	-0,00 (41)	0,79 (32)	0,67 (37)
C_4^{β}	1372 (4)	2198 (7)	416 (4)	8,74 (49)	22,32 (11)	4,91 (37)	2,00 (67)	0,33 (40)	0,69 (58)
$C_4^{\gamma 1}$	1149 (11)	1945 (19)	-312 (86)	24,65 (17)	66,40 (49)	18,27 (12)	30,56 (26)	-10,29 (13)	-14,10 (21)
$C_4^{\gamma 2}$	834 (11)	2185 (12)	897 (11)	19,28 (15)	27,91 (21)	24,16 (17)	3,82 (16)	8,88 (15)	7,10 (18)
C_4^{γ}	2185 (3)	1934 (3)	1330 (3)	7,69 (40)	6,20 (36)	5,95 (35)	-0,27 (33)	1,82 (33)	-0,17 (32)
O_4	1914 (3)	2266 (2)	1731 (2)	9,40 (31)	8,64 (29)	6,70 (26)	1,09 (27)	1,05 (26)	-0,14 (25)
O_5	2730 (2)	1646 (2)	1468 (2)	7,24 (25)	7,84 (26)	5,40 (22)	0,56 (22)	-0,04 (20)	-0,63 (21)
C_5^{α}	2954 (4)	1748 (3)	2158 (3)	8,39 (42)	6,67 (38)	4,79 (34)	-0,18 (35)	0,18 (34)	-0,28 (31)
C_5^{β}	3680 (4)	1567 (4)	2153 (4)	8,65 (48)	10,48 (56)	7,01 (44)	1,56 (44)	-1,04 (40)	-0,21 (44)
$C_5^{\gamma 1}$	3778 (5)	894 (5)	2015 (5)	11,09 (61)	10,43 (60)	10,20 (54)	1,15 (54)	0,87 (52)	-0,23 (51)
$C_5^{\gamma 2}$	4035 (5)	1998 (7)	1699 (6)	6,45 (63)	10,80 (83)	9,84 (75)	-1,61 (62)	1,98 (60)	-1,36 (70)
$C_5^{\gamma 2**}$	3976 (22)	1824 (27)	2758 (23)	9,71 (26)	12,93 (35)	10,10 (26)	-3,08 (26)	1,96 (23)	5,32 (26)
C_5^{γ}	2570 (4)	1338 (3)	2650 (3)	8,22 (42)	6,76 (37)	5,81 (36)	0,93 (34)	-0,96 (34)	-0,42 (31)
O_5	2327 (3)	852 (3)	2482 (2)	11,48 (36)	8,49 (30)	6,58 (25)	-1,80 (29)	0,76 (27)	-1,28 (25)
N_6	2560 (3)	1568 (3)	3304 (2)	10,74 (42)	8,54 (36)	5,63 (29)	0,37 (34)	0,85 (32)	-0,40 (29)
C_6^{α}	2263 (5)	1192 (4)	3865 (4)	12,27 (61)	7,34 (44)	7,54 (46)	1,84 (45)	0,71 (46)	-0,21 (39)

Таблица I (продолжение)

АТОМ	α/a	β/b	z/c	B_{11}	B_{22}	B_{33}	B_{12}	B_{13}	B_{23}
C_6^β	2756(6)	858(6)	4311(5)	16,60(99)	14,80(83)	8,61(56)	7,05(81)	2,73(65)	4,77(60)
C_6'	1862(4)	1622(3)	4303(4)	10,21(49)	6,24(37)	5,46(35)	-0,56(36)	0,92(38)	0,38(32)
O_6	1850(3)	2200(3)	4257(3)	10,54(33)	7,03(26)	9,41(30)	-0,16(26)	2,90(30)	0,40(26)
O_7	1517(3)	1284(2)	4732(2)	11,69(35)	5,17(22)	6,92(26)	0,16(24)	1,75(27)	-0,30(21)
C_7^α	1126(4)	1601(3)	5233(3)	9,30(49)	6,22(38)	6,12(37)	1,19(36)	1,10(37)	-0,09(32)
C_7^β	661(4)	1122(4)	5496(5)	10,12(53)	6,93(41)	9,41(48)	-0,56(40)	1,05(45)	-1,75(40)
C_7^{12}	1024(6)	565(5)	5813(6)	15,90(85)	8,42(53)	11,73(69)	-0,78(56)	3,63(66)	3,61(62)
C_7^{11}	203(6)	932(5)	4971(7)	12,09(76)	9,04(59)	18,27(96)	-3,09(55)	-1,44(74)	0,92(68)
C_7	1564(3)	1890(4)	5794(3)	6,81(38)	8,21(41)	5,09(32)	0,52(34)	0,89(31)	-0,13(32)
O_7	2131(3)	1916(3)	5732(2)	8,07(30)	14,68(45)	6,79(27)	1,56(32)	0,47(25)	-1,56(31)
N_8	1271(3)	2125(2)	6347(2)	8,29(33)	6,15(28)	6,00(27)	0,24(27)	-0,16(27)	0,31(25)
C_8^α	1602(4)	2412(4)	6913(4)	7,82(41)	8,69(45)	5,86(36)	0,25(37)	0,36(34)	0,73(36)
C_8^β	1163(8)	2516(8)	7537(4)	26,85(16)	26,08(16)	4,86(40)	-19,98(14)	2,90(69)	-2,35(69)
C_8^{11}	1034(10)	1892(10)	7903(6)	30,88(19)	28,61(17)	11,61(59)	-14,42(16)	5,74(95)	4,18(91)
C_8^{12}	1318(13)	3074(12)	8005(9)	34,02(26)	26,04(18)	14,05(10)	2,59(20)	0,35(16)	-4,55(14)
C_8'	1874(3)	3050(3)	6705(3)	7,53(38)	8,29(38)	5,52(32)	-0,78(33)	-1,71(31)	0,63(31)
O_8	2278(3)	3297(3)	7019(3)	14,46(48)	10,85(37)	12,99(41)	-3,28(37)	-7,27(41)	4,09(36)
O_9	1597(2)	3307(2)	6179(2)	8,35(25)	7,08(23)	5,51(22)	-0,29(21)	-0,41(21)	-0,32(20)
C_9^α	1766(4)	3931(3)	5985(3)	9,57(43)	5,11(31)	5,52(32)	-0,85(31)	-0,37(33)	0,08(29)
C_9^β	1176(4)	4295(4)	5782(4)	9,26(48)	9,48(50)	9,83(54)	1,39(43)	0,31(44)	2,40(44)

Таблица 1 (продолжение)

Атом	π/a	y/b	z/c	B_{11}	B_{22}	B_{33}	B_{12}	B_{13}	B_{23}
$C_9^{\gamma 1}$	862(5)	3964(5)	5162(5)	9,36(53)	15,14(75)	12,34(66)	1,15(55)	-2,06(51)	2,90(63)
$C_9^{\gamma 2}$	738(5)	4352(6)	6430(7)	11,66(67)	12,75(77)	17,83(97)	4,07(63)	3,39(73)	0,70(74)
O_9	2249(4)	3938(3)	5413(4)	10,91(49)	6,55(35)	6,27(34)	-1,69(37)	0,33(38)	0,34(32)
O_9	2469(3)	4442(3)	5222(3)	12,84(41)	8,96(32)	9,88(35)	-3,13(31)	1,95(33)	0,29(29)
N_{10}	2469(3)	3385(3)	5140(3)	8,15(33)	8,33(35)	7,00(31)	0,06(28)	0,88(28)	-0,47(28)
C_{10}^{α}	2945(4)	3332(4)	4628(4)	9,20(47)	9,02(45)	8,21(44)	-1,26(41)	0,12(41)	0,19(41)
C_{10}^{β}	3420(5)	2814(7)	4870(6)	9,81(60)	19,56(10)	12,24(65)	5,01(69)	1,77(56)	2,52(74)
C_{10}^{γ}	2712(5)	3206(3)	3925(4)	10,04(48)	6,48(37)	7,09(39)	-0,90(37)	1,56(38)	-0,04(34)
O_{10}	3019(2)	2888(2)	3496(3)	9,46(29)	8,06(28)	9,19(27)	-0,66(25)	2,02(27)	-0,90(25)
O_{11}	2181(2)	3507(2)	3737(2)	9,72(29)	6,18(22)	6,98(24)	0,34(22)	0,67(23)	0,05(20)
C_{11}^{α}	1966(4)	3417(3)	3036(3)	11,84(55)	7,58(39)	4,74(32)	0,04(40)	0,60(38)	-0,53(31)
C_{11}^{β}	1278(4)	3606(4)	3025(5)	10,72(54)	8,05(46)	11,76(59)	0,79(43)	-1,49(51)	-0,61(46)
$C_{11}^{\gamma 2}$	1188(5)	4329(5)	3141(7)	13,16(73)	8,68(54)	17,38(92)	3,16(55)	-1,97(73)	-1,66(61)
$C_{11}^{\gamma 1}$	855(9)	3167(8)	3473(8)	21,19(13)	13,77(94)	18,05(12)	0,81(99)	5,21(12)	1,30(97)
$C_{11}^{\gamma 1**}$	854(5)	3315(3)	2492(4)	28,90(94)	11,31(32)	1,86(67)	-12,05(47)	-1,29(69)	-1,77(40)
C_{11}^{γ}	2362(5)	3827(4)	2567(4)	12,38(60)	8,33(46)	7,73(41)	1,63(45)	1,75(44)	0,30(39)
O_{11}	2633(4)	4312(3)	2802(3)	19,47(59)	7,50(29)	9,07(32)	-3,73(36)	1,07(39)	-0,20(26)
N_{12}	2415(4)	3614(3)	1912(3)	14,40(50)	6,91(32)	6,59(32)	0,40(35)	1,07(35)	-0,54(27)
C_{12}^{α}	2761(5)	3973(4)	1406(4)	17,73(79)	6,00(38)	7,98(41)	0,96(50)	2,93(51)	0,64(34)

Таблица 1 (окончание)

АТОМ	x/a	y/b	z/c	B ₁₁	B ₂₂	B ₃₃	B ₁₂	B ₁₃	B ₂₃
C ₁₂ ^B	2288 (10)	4440 (5)	1016 (8)	35,51 (22)	8,75 (58)	18,77 (12)	8,04 (96)	14,82 (14)	3,67 (71)
C ₁₂ ^{Y1}	2691 (21)	4924 (12)	606 (15)	60,65 (59)	20,71 (17)	46,62 (32)	-1,14 (28)	20,36 (41)	16,25 (22)
C ₁₂ ^{Y2}	1844 (10)	4134 (10)	527 (8)	23,96 (15)	23,93 (15)	13,70 (87)	11,31 (14)	-0,89 (10)	-1,01 (11)
C ₁₂ [']	3083 (4)	3537 (4)	906 (4)	11,94 (56)	6,94 (39)	8,74 (46)	0,23 (40)	-1,40 (45)	-0,32 (37)
O ₁₂	2972 (3)	2983 (2)	890 (3)	11,88 (36)	7,18 (26)	9,31 (30)	-0,09 (26)	2,07 (29)	-0,58 (25)
W ₁	4934 (3)	2474 (2)	-1058 (2)	11,84 (16)					
W ₂	9914 (2)	2305 (2)	-3725 (2)	10,67 (15)					

* Анизотропные тепловые колебания описываются функцией $T = \exp\left[-\frac{1}{4}(B_{11}l^2a^{*2} + B_{22}l^2b^{*2} + B_{33}l^2c^{*2} + 2B_{12}l^2a^{*}b^{*} + 2B_{13}l^2a^{*}c^{*} + 2B_{23}l^2b^{*}c^{*})\right]$.

Для атомов O молекул воды W₁ и W₂ даны изотропные тепловые факторы.

** Соответствует позиции с коэффициентом заполнения 0,2.

Валентные связи (А) в структуре *cyclo*[(D-Hyi-Ala-Hyi-D-Val)₃]^{*}

Связь	D-Hyi (i=1, 5, 9)			Ala (i=2, 6, 10)			Hyi (i=3, 7, 11)			D-Val (i=4, 8, 12)		
O _i (N _i)—C _i ^α	1,410	1,432	1,421	1,436	1,485	1,479	1,439	1,440	1,442	1,431	1,434	1,433
C _i ^α —C _i ^γ	1,554	1,524	1,506	1,446	1,505	1,470	1,485	1,553	1,510	1,522	1,526	1,500
C _i ^α —C _i ^β	1,582	1,586	1,522	1,578	1,530	1,564	1,536	1,506	1,513	1,568	1,539	1,599
C _i ^γ —O _{i+1} (N _{i+1})	1,285	1,354	1,342	1,341	1,319	1,344	1,348	1,333	1,347	1,334	1,294	1,320
C _i ^γ —O _i	1,261	1,198	1,224	1,197	1,230	1,252	1,240	1,210	1,263	1,193	1,173	1,199
C _i ^β —C _i ^{γ1}	1,563	1,467	1,540				1,574	1,460	1,555 (0,8) 1,500	1,576	1,524	1,555
C _i ^β —C _i ^{γ2}	1,555	1,472 (0,8) 1,435 (0,2)	1,561				1,518	1,537	1,560 (0,2)	1,471	1,525	1,480

* В скобках даны коэффициенты заполнения для двух положений боковых радикалов.

а ориентация молекул воды относительно групп N—H и C'=O характеризуется угловыми параметрами, близкими к оптимальным [22, 23].

Конформация и стереоскопическое изображение молекулы «ложного» валиномицина даны на рис. 3 и 4. Молекула имеет вытянутую форму, стабилизированную двумя водородными связями, образующимися между азотами остатков Ala⁶ и D-Val¹² и карбонильными кислородами соответственно остатков Ala¹⁰ и D-Val⁴. Геометрические параметры внутримолекулярных водородных связей приведены в табл. 4. Анализ расстояний N...O указывает на возможность образования еще двух слабых водородных связей N₄...O₁₂ и N₁₀...O₆ (соответствующие расстояния равны 3,27 и 3,28 Å, табл. 4). Однако при этом расстояния N₄...O₁₂ и N₁₀...O₆, равные 2,6 и 2,7 Å, близки к величине ван-дер-ваальсова контакта между атомами H и O, равной 2,6 Å [22], что свидетельствует об отсутствии водородных связей между указанными атомами. Анализ структуры показывает, что расположение протонов при атомах N₄ и N₁₀ является благоприятным для электростатических взаимодействий с карбонильными кислородами. Первый из них взаимодействует с карбонильными кислородами O₁ и O₁₂ (соответствующие расстояния N...O равны 2,82 и 2,63 Å), а второй — с O₆ и O₇ (2,71 и 2,55 Å).

Расчетные значения углов вращения φ, ψ, ω, χ даны в табл. 5, из которой видно, что в молекуле присутствует псевдоцентр симметрии. Все амидные и сложноэфирные группы имеют в целом плоскую *транс*-конфигурацию. Максимальное отклонение от планарности (Δω=10°) наблюдается у сложноэфирной группы между остатками Hui³ и D-Val⁴. Карбонильные кислорода и боковые цепи имеют различные ориентации по отношению к циклическому остову молекулы. Двугранные углы вращения χ боковых изопропильных групп близки к двум (из трех возможных) наиболее часто встречающимся значениям: ~180 и -60° для *L*-конфигурации и 60 и -60° для *D*-конфигурации. Исключение составляет одна изопропильная группа D-Val¹², имеющая угол χ 166,84°. Такое значение угла χ (~180°) для *D*-конфигурации остатков Val и Hui встречается крайне редко (в качестве примера можно привести значение χ 170,3°, наблюдающееся у одного остатка D-Hui¹² в молекуле изолейциномицина [10]).

Анализ кристаллической структуры исследуемой молекулы показывает, что в ней не образуется отрицательно заряженная полость, выполняющая в валиномицине роль специфического центра связывания катионов щелочных металлов, что объясняет отсутствие у «ложного» валиномицина способности эффективно связывать ионы.

Валентные углы (град.) в структуре $cyclo[-(D\text{-Hyl-Ala-Hyl-D-Val})_3\text{-}]^*$

Угол	$D\text{-Hyl}^i$ ($i=1, 5, 9$)	Ala ($i=2, 6, 10$)	Hyl^i ($i=3, 7, 11$)	$D\text{-Val}$ ($i=4, 8, 12$)
$C'_{i-1}-O'(N_i)-C_i^\alpha$	117,95	119,75	119,89	123,00
$O'_i(N_i)-C_i^\alpha-C'_i$	114,85	115,22	112,13	111,01
$O'_i(N_i)-C_i^\alpha-C_i^\beta$	107,64	110,09	109,42	114,03
$C_i^\alpha-C'_i-O_i$	109,06	106,88	112,92	107,94
$C_i^\alpha-C'_i-O'_{i+1}(N_{i+1})$	117,57	114,34	119,48	114,11
$C_i^\alpha-C'_i-O_i$	115,02	124,10	117,41	124,20
$O_i-C'_i-N_{i+1}(O'_{i+1})$	127,32	121,56	123,11	123,94
$C_i^\alpha-C_i^\beta-C_i^{\gamma 1}$	109,13	125,13	121,77	123,39
			107,52	110,33
$C_i^\alpha-C_i^\beta-C_i^{\gamma 2}$	108,09		109,14	114,45
			113,81	116,35
			112,81	115,28
			113,00 (0,8)	
			118,57 (0,2)	
$C_i^{\gamma 1}-C_i^\beta-C_i^{\gamma 2}$	109,97		115,79	115,94
			113,48	108,38
			115,97 (0,8)	
			115,49 (0,2)	

* В скобках даны коэффициенты заполнения для двух положений бокового радикала.

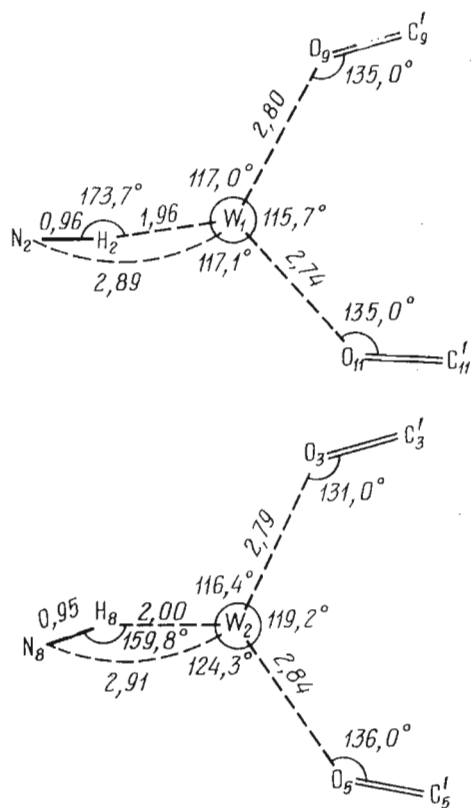


Рис. 2

Рис. 2. Геометрические параметры межмолекулярных водородных связей. W_1 , W_2 — атомы кислорода молекул воды

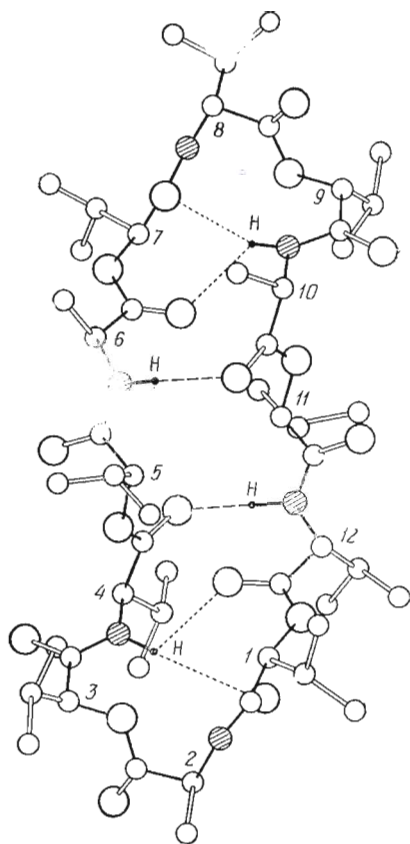


Рис. 3

Рис. 3. Пространственная структура «ложного» валиномицина. Штриховые линии — водородные связи, пунктирные — электростатические взаимодействия

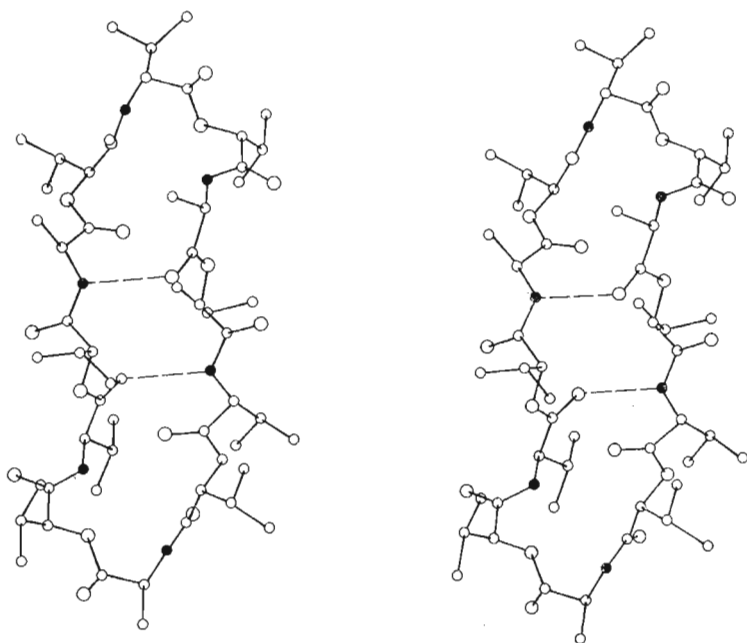


Рис. 4. Стереопара структуры «ложного» валиномицина

Взаимное расположение $C'=O$ - и NH -групп в кристаллической структуре $cyclo[-(D-Hyi-Ala-Hyi-D-Val)_3-]$

Группа	Расстояние, Å			Угол, град.		Н-связь
	N—H	H...O	N...O	N—H...O	H...O=C'	
$N_8-H_8 \cdots O_{10}=C'_{10}$	0,84	2,14	2,99	169,7	112,7	Есть
$N_{12}-H_{12} \cdots O_4=C'_4$	0,91	2,20	3,05	160,3	114,5	»
$N_4-H_4 \cdots O_{12}=C'_{12}$ $\cdots O_1=C'_1$	1,04	2,63	3,27	119,6	137,1	Нет
		2,82	3,84	165,9	90,9	
$N_{10}-H_{10} \cdots O_6=C'_6$ $\cdots O_7=C'_7$	1,00	2,71	3,28	116,0	136,0	Нет
		2,55	3,38	155,1	98,0	

Таблица 5

Конформационные углы (град.) * пространственной структуры $cyclo[-(D-Hyi-Ala-Hyi-D-Val)_3-]$

Остаток	φ	ψ	ω	$\chi^{1,1}$	$\chi^{1,2}$
$D-Hyi^1$	74,40	173,77	173,00	-59,74	60,38
Ala^2	-83,89	-2,77	-175,12		
Hyi^3	-114,59	-1,20	169,98	-62,29	64,05
$D-Val^4$	115,52	-41,22	-173,43	55,67	174,52
$D-Hyi^5$	76,29	-155,34	-173,64	-65,19	64,50(0,8) 163,56(0,2)
Ala^6	-135,88	169,91	175,96		
Hyi^7	-71,77	-170,97	-179,70	-68,42	58,53
$D-Val^8$	71,26	21,96	173,39	74,87	-150,37
$D-Hyi^9$	96,44	3,49	-173,52	-60,62	63,77
Ala^{10}	-106,62	38,82	176,46		
Hyi^{11}	-78,25	152,97	177,75	-65,17(0,8) -153,43(0,2)	68,06
$D-Val^{12}$	146,29	-170,03	-178,95	166,84	-72,12

* Отсчет углов проводился в соответствии с номенклатурой IUPAC—IUB [24]. В скобках даны коэффициенты заполнения для двух положений боковых радикалов.

Интересно сравнить кристаллические конформации валиномицина и «ложного» валиномицина. Для наглядности углы вращения φ и ψ аминокислотных остатков нанесены на конформационные карты остатка Ala в *L*- и *D*-конфигурациях (рис. 5), а углы вращения оксикислотных остатков — на конформационные карты изолированного остатка Hyi в *L*- и *D*-конфигурациях, построенных при значении угла $\chi = -60^\circ$ (рис. 6). При построении конформационных карт были использованы такие же параметры, как и в работе [25]. Конформационные состояния остатков в молекуле «ложного» валиномицина находятся в низкоэнергетических областях (рис. 5, 6), но существенно отличаются от конформационных состояний стереохимически подобных остатков валиномицина в той же конфигурации. В качестве примера можно сравнить *D-Val*¹ у валиномицина с *D-Hyi*¹ у «ложного» валиномицина, *Lac*² с *Ala*² и т. д. Таким образом, замена аминокислотных остатков на стереохимически подобные оксикислотные остатки и наоборот приводит к существенному изменению конформации валиномицина, несмотря на значительное перекрытие локальных минимумов на конформационных картах изолированных остатков amino- и оксикислот (*Val* и *Hyi*, *Ala* и *Lac*). Поэтому представляется интересным выяснить природу сил, ответственных за столь резкое изменение конформации валиномицина при заменах NH на O' и O' на NH в остове цепи и стабилизирующих кристаллическую конформацию «ложного» валиномицина.

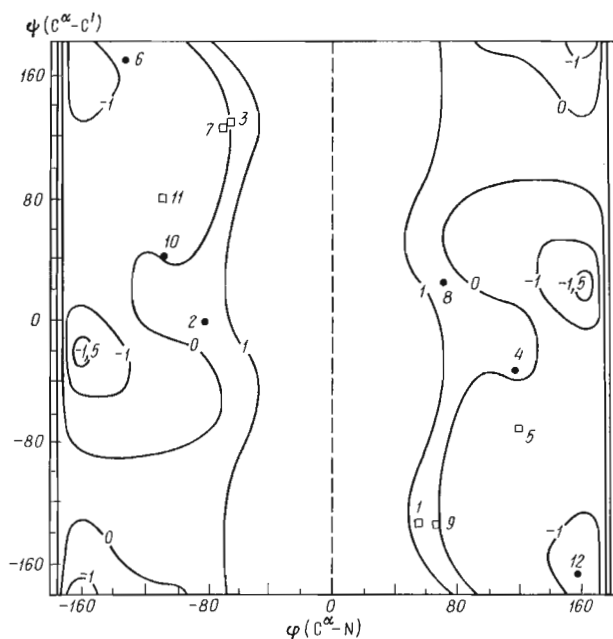


Рис. 5. Распределение углов φ , ψ аминокислотных остатков «ложного» валиномицина (темные кружки) и валиномицина (квадраты) на конформационной карте изолированного остатка Ac-Ala-OMe в *L*- (левая половина карты) и *D*- (правая половина карты) конфигурациях. Цифры около кружков и квадратов — номера остатков

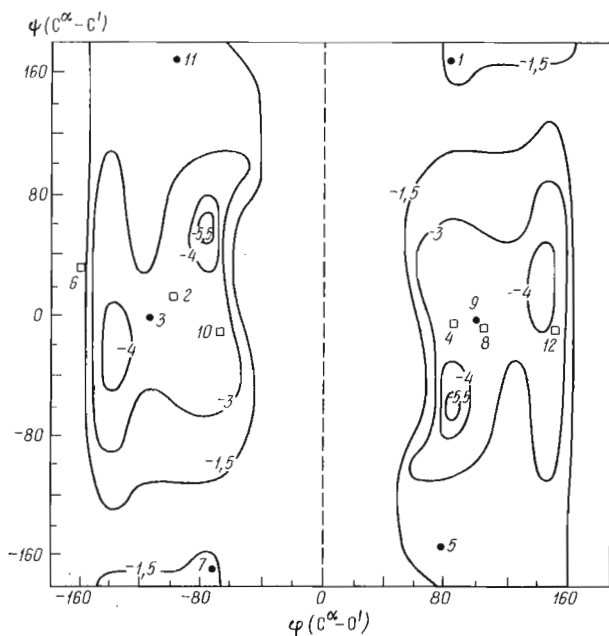


Рис. 6. Распределение углов φ , ψ аминокислотных остатков «ложного» валиномицина (кружки) и валиномицина (квадраты) на конформационной карте изолированного остатка Ac-Hu1-NMe в *L*- (левая половина карты) и *D*- (правая половина карты) конфигурациях при значении угла $\chi = -60^\circ$. Обозначения см. в подписи к рис. 5

С этой целью были произведены расчеты конформационной потенциальной энергии валиномицина и «ложного» валиномицина. Каждая молекула рассчитывалась в кристаллических конформациях валиномицина и «ложного» валиномицина. Учитывая тот факт, что для расчетов брались усредненные геометрические параметры (длины связей, валентные углы), была проведена минимизация энергии каждой конформации. Энергетиче-

Распределение энергий молекулы валиномицина и «ложного» валиномицина в кристаллических конформациях

Соединение	Кристаллическая конформация	$E_{\text{общ}}$	$E_{\text{н. в.}}$	$E_{\text{эл}}$	$E_{\text{торс}}$	$E_{\text{в. с.}}$	$N_{\text{в. с.}}$
Валиномицин	Валиномицин	-68,0	-83,0	23,3	7,7	-16,0	6
	«Ложный» валиномицин	-31,4	-67,0	27,9	7,7	0	0
«Ложный» валиномицин	То же	-57,1	-85,3	26,5	7,4	-5,2	2
	Валиномицин	-34,6	-70,7	29,1	7,0	0	0

Примечание. Энергия (ккал/моль): $E_{\text{общ}}$ — общая потенциальная, $E_{\text{н. в.}}$ — энергия невалентных взаимодействий, $E_{\text{эл}}$ — электростатических взаимодействий, $E_{\text{торс}}$ — торсионная, $E_{\text{в. с.}}$ — водородных связей, $N_{\text{в. с.}}$ — число водородных связей.

ские и стереохимические параметры были взяты такими же, как в работе [25]. Конформационная потенциальная энергия $E_{\text{общ}}$ равнялась сумме энергий невалентных и электростатических взаимодействий, водородных связей и торсионной энергии. Для минимизации энергии использовался градиентный метод [26]. Переменными параметрами были углы вращения φ , ψ , ω , χ . После минимизации отклонения в значениях углов вращения от начальных не превышали 6° . Все расчеты выполнены на ЭВМ Eclipse C-330.

Результаты расчетов представлены в табл. 6. Анализ этих данных показывает, что вклады энергий электростатических взаимодействий и торсионной энергии в $E_{\text{общ}}$ для каждой из четырех конформаций соизмеримы; максимальное различие в энергии электростатических взаимодействий составляет лишь 5,8 ккал/моль, а в торсионной энергии — 0,7 ккал/моль. Валиномицин и исследуемый аналог в «собственных» кристаллических конформациях имеют близкие значения по всем составляющим энергии, кроме энергии водородных связей, которых у валиномицина на четыре больше, и соответственно их вклад в $E_{\text{общ}}$ на 10,8 ккал/моль меньше. Точно так же близкие значения по всем составляющим энергии имеют валиномицин в конформации «ложного» валиномицина и аналог в конформации валиномицина. Как и следовало ожидать, валиномицин и «ложный» валиномицин в собственной конформации имеют существенно более низкую энергию, чем в «чужой» конформации; разница в $E_{\text{общ}}$ для валиномицина составляет 36,6 ккал/моль, а для «ложного» валиномицина — 22,5 ккал/моль, причем на энергию невалентных взаимодействий приходится соответственно разница в 16 и 14,8 ккал/моль.

Таким образом, невалентные взаимодействия определяют кристаллические конформации валиномицина и «ложного» валиномицина и обуславливают резкое изменение конформации валиномицина при замене аминокислотных остатков на стереохимически подобные оксикислотные остатки и оксикислотных остатков на стереохимически подобные аминокислотные остатки.

Экспериментальная часть

Кристаллы «ложного» валиномицина выращены из раствора хлористого метилена и октана (1:1) при 20°C . Кристаллы принадлежат к тетрагональной пространственной группе $P4_2$, a 21,21 Å, b 21,21 Å, c 19,31 Å, число молекул в ячейке Z4. Определение параметров ячейки и сбор экспериментальных данных проводили на четырехкружном дифрактометре Syntex (США) $P\bar{1}$ $\theta/2\theta$ -методом при 18°C (излучение $\text{Cu } K_\alpha$, графитовый монохроматор, режим работы трубки 40 кВ и 35 мА, фокус трубки $0,4 \times 1$ мм). Трехмерный набор интегральных интенсивностей (I) включал в себя 4726 независимых рефлексов, отсвечивающих до разрешения 0,98 Å. Интервал сканирования профиля пика составлял $0,4^\circ$, интервал между точками измерения фона — $0,8^\circ$. Через каждые 6 ч съемки перемерялись шесть контрольных отражений.

Первичная обработка экспериментальных данных включала в себя коррекцию интенсивностей на факторы Лорентца и поляризации (Lp), на поглощение [27] и радиационное разрушение кристалла.

Расшифровка структуры была проведена «прямыми» рентгеновскими методами на основе комплекса программ QTAN на ЭВМ Eclipse C-330. Было отобрано 467 наибольших E ($E_{\text{мин}}=1,55$) и сформировано 3606 Σ_2 -соотношений ($A_{\text{мин}}=1,1$), число отрицательных квартетов для оценки NQUEST [28] равнялось 203.

Было сгенерировано 1024 варианта фаз. Ожидаемые значения оценок составили: NQUEST $-0,206$, COSAV $0,581$. Лучшее из решений с оценками NQUEST $-0,196$, RESID $0,392$, COSAV $0,667$ позволило выявить на E -сиптезе положения 60 из 78 неводородных атомов в структуре. На последующих синтезах Фурье и разностных синтезах Фурье были выявлены положения всех атомов циклодепсипептида, а также обнаружена статистическая неупорядоченность в ориентации боковых групп остатков D -Hui⁵ и Hui¹¹.

Уточнение структуры на первом этапе проводили методом наименьших квадратов по полноматричной схеме в изотропном приближении тепловых колебаний атомов. Стандартный фактор расходимости R на этой стадии уточнения равнялся 20% при локальных искажениях в стереохимии молекулы. В связи с этим был проведен анализ карт электронной плотности с целью локализации атомов молекул растворителя, тем более что на его присутствие в кристалле косвенным образом указывало низкое значение вычисленной по атомам депсипептида плотности вещества в ячейке $0,85$ г/см³ (характерное значение для соединений депсипептидной природы $1,1$ г/см³). На синтезах Фурье и разностных синтезах были обнаружены размытые области электронной плотности, не принадлежащие молекуле «ложного» валиномицина. Провести идентификацию молекул растворителя по плотности не удалось, поэтому для отнесения пиков этой электронной плотности к атомам растворителя был проведен анализ упаковки найденных областей в кристаллической ячейке. В качестве дополнительных центров рассеивания было взято 10 пиков, расположенных между симметрично связанными молекулами циклодепсипептида и не попадающих на поворотные оси. Дальнейшее уточнение велось с учетом этих дополнительных центров, которым была приписана рассеивающая способность атома С. Последний этап уточнения был проведен в анизотропном приближении для атомов аналога (с учетом вкладов от атомов Н) и дополнительных центров рассеивания в изотропном приближении. Координаты водородных атомов были определены как из разностных синтезов, так и на основании стереохимических правил.

Для дополнительных центров рассеивания уточняемыми параметрами были координаты и либо коэффициенты заполнения, либо тепловые факторы. В результате уточнения у двух из них коэффициенты заполнения стали равны 1,5, поэтому эти центры были интерпретированы как атомы О, рассеивающая способность которых выше. После проведения нескольких циклов уточнения коэффициенты заполнения у этих атомов стали близки к 1, а R -фактор уменьшился на 0,2, что явилось доказательством того, что в кристалле присутствуют две молекулы воды.

В уточнении использовался набор структурных факторов $F \geq 6\sigma(F)$, который включал в себя 3903 рефлекса. Величины стандартных отклонений определялись по формуле [29]

$$\sigma(F) = [(K/Lp)I(\sigma^2(I) + 0,06I)]^{1/2},$$

где K — коэффициент приведения к абсолютной шкале. На последней стадии уточнения по критерию $T \geq 15$ ($T = |F_{\text{набл}}| - |F_{\text{выч}}| / \sigma(F_{\text{набл}})$, где $F_{\text{набл}}$ и $F_{\text{выч}}$ соответствуют наблюдаемым и вычисленным значениям структурных факторов) были исключены 277 рефлексов, наиболее чувствительных к ошибкам в определении координат атомов растворителя и экспериментальным погрешностям. Величины стандартного (R) и взвешенного (R_w) факторов расходимости равны соответственно 6,6 и 5,4% по набору, состоящему из 3626 рефлексов.

Авторы выражают благодарность Ю. А. Овчинникову за обсуждение результатов работы, а также В. Т. Иванову за обсуждение результатов и предоставление вещества.

1. *Smith G. D., Duax W. L., Langs D. A., DeTitta G. T., Edmonds J. W., Rohrer D. C., Weeks C. M.* J. Amer. Chem. Soc., 1975, v. 97, № 25, p. 7242—7247.
2. *Karle I. J.* Amer. Chem. Soc., 1975, v. 97, № 15, p. 4379—4386.
3. *Pinkerton M., Steinrauf L. K., Dawkins P.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1969, v. 35, № 4, p. 512—518.
4. *Neupert-Laves K., Dobler M.* Helv. chim. acta, 1975, v. 58, fasc. 2, p. 432—442.
5. *Steinrauf L. K., Hamilton J. A., Sabesan M. N.* J. Amer. Chem. Soc., 1982, v. 104, № 15, p. 4085—4091.
6. *Devarajan S., Nair C. M. K., Easwaran K. R. K., Vijayan M.* Nature, 1980, v. 286, № 5771, p. 640—641.
7. *Duax W. L., Smith G. D., Weeks C. M., Pletnev V. Z., Galitsky N. M.* Acta crystallogr., 1980, B36, p. 2651—2654.
8. *Плетнев В. З., Галицкий Н. М., Лэнгс Д. А., Дюикс В. Л.* Биооргани. химия, 1980, т. 6, № 1, с. 5—20.
9. *Васильев А. Д., Караулов А. И., Шишова Т. Г., Тищенко Г. Н., Симонов В. И., Иванов В. Т.* Биооргани. химия, 1982, т. 8, № 9, с. 1157—1164.
10. *Pletnev V. Z., Galitsky N. M., Smith G. D., Weeks C. M., Duax W. L.* Biopolymers, 1980, v. 19, № 8, p. 1517—1534.
11. *Hamilton J. A., Sabesan M. N., Steinrauf L. K.* Acta crystallogr., 1980, B36, p. 1052—1057.
12. *Pletnev V. Z., Galitsky N. M., Ivanov V. T., Ovchinnikov Yu. A.* Biopolymers, 1979, v. 18, № 9, p. 2145—2166.
13. *Плетнев В. З., Галицкий Н. М., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А.* Биооргани. химия, 1977, т. 3, № 10, с. 1427—1429.
14. *Васильев А. Д., Шибанова Т. А., Андрианов В. Т., Симонов В. И., Санасарян А. А., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А.* Биооргани. химия, 1978, т. 4, № 9, с. 1157—1163.
15. *Плетнев В. З., Попович В. А., Юркова Е. В., Ван Руй П., Смит Г. Д., Дюикс В. Л.* Биооргани. химия, 1982, т. 8, № 1, с. 50—60.
16. *Смирнова В. И., Тищенко Г. Н., Вайнштейн Б. К.* Докл. АН СССР, 1981, т. 257, № 4, с. 879—884.
17. *Попович В. А., Зайцев О. И.* Биооргани. химия, 1984, т. 10, № 5, с. 581—594.
18. *Shemyakin M. M., Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T.* Angew. Chem., 1969, v. 81, p. 523.
19. *Иванов В. Т., Лайне И. А., Овчинников Ю. А.* Химия природн. соед., 1970, № 6, с. 744—754.
20. *Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М.* Мембраноактивные комплексоны. М.: Наука, 1974, с. 137, 138.
21. *Иванов В. Т., Лайне И. А., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И.* Химия природн. соед., 1973, № 2, с. 248—263.
22. *Hamilton W. C., Ibers J. A.* Hydrogen Bonding in Solids/Ed. Benjamin W. A. N. Y., 1968, p. 16.
23. *Лименгел Д., Мак-Клеллан У.* Водородная связь. М.: Мир, 1964, с. 227, 258.
24. IUPAC—IUB Commission on Biochemical Nomenclature — Pure Appl. Chem., 1974, v. 40, № 3, p. 293—308.
25. *Попов Е. М., Мельников П. Н.* Биооргани. химия, 1979, т. 5, № 6, с. 828—847.
26. *Vixon M., Lijson S.* Tetrahedron, 1967, v. 23, p. 769—784.
27. *North A. C. T., Phillips D. C., Mathews F. S.* Acta crystallogr., 1968, A24, part 3, p. 351—359.
28. *DeTitta G. T., Edmonds J. W., Langs D. A., Hauptman H.* Acta crystallogr., 1975, A31, part 4, p. 427—479.
29. *Stout G. H., Jensen L. H.* X-ray structure determination. London: McMillan, 1969, p. 457.

Поступила в редакцию
29.XI.1983

CRYSTAL STRUCTURE OF «PSEUDOVALINOMYCIN»

цикло [-(D-Нyi-Ala-Нyi-D-Val)₃-]·2H₂O

POPOVICH V. A., ZAITSEY O. I.

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

The crystal structure of valinomycin analogue *cyclo*[-(D-Hyi-Ala-Hyi-D-Val)₃-] (C₃₃H₉₆N₆O₁₈) crystallized with two water molecules has been solved by the X-ray direct methods. Tetragonal crystals belong to the *P*4₂ space group, cell dimensions are *a* 21,21 Å, *b* 21,21 Å, *c* 19,31 Å, *Z* 4. The standard (*R*) and weighted (*R*_w) factors are 6,6 and 5,4%, respectively. The structure has a symmetry pseudocenter. The molecule adopts an extended conformation stabilized by two hydrogen bonds of the 1→5 type between the Ala⁶ and D-Val¹² nitrogens and the carbonyl oxygens of the Ala¹⁰ and D-Val⁴ residues, respectively. The carbonyls and the side chains are differently oriented in respect of the cyclic backbone. The NH groups of the 4th and 10th residues are facing the inside of the molecule and interact electrostatically with the O₁, O₁₂ and O₆, O₇ carbonyls, respectively. The solvate water forms a network of intramolecular hydrogen bonds with CO- and NH-groups of the depsipeptide units.