



УДК 547.96 : 548.737

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ
ТЕТРАДЕПСИПЕПТИДОВIV. КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА *LDDD*-ФОРМЫ
ЦИКЛОТЕТРАДЕПСИПЕПТИДА $[-(\text{MeVal-HyIv})_2-]$

Тищенко Г. Н., Смирнова В. И., Зейбот Л. Н.,
Назимова Н. В., Андрианов В. И.

Институт кристаллографии Академии наук СССР, Москва

Методом рентгеноструктурного анализа определена конформация молекулы *LDDD*-формы циклотетрадепептида $[-(\text{MeVal-HyIv})_2-]$. Молекула нецентросимметрична, амидные и сложноефирные группы почти плоские и имеют соответственно *цис*- и *транс*-конфигурацию. Одна из групп $\text{C}=\text{O}$ (а именно $\text{C}=\text{O}$ -группа остатка HyIv ($j = 2$)) направлена по отношению к плоскости цикла в сторону, противоположную трем другим $\text{C}=\text{O}$ -группам. Боковые радикалы имеют псевдоэкваториальную *транс*-ориентацию. Конформация в кристалле близка к расчетной конформации для свободной молекулы с минимальной величиной $U_{\text{общ}}$. Длины связей и величины валентных углов в молекуле близки к стандартным величинам для пептидов. Упаковка молекул в ацентричной структуре *LDDD*-формы характеризуется наличием цепочек молекул, вытянутых вдоль оси y . Кристаллы ромбические с параметрами ячейки $a = 18,30(6)$, $b = 12,14(5)$, $c = 10,93(5)$ Å, $Z = 4$, пространственная группа $P2_12_12_1$. Трехмерный набор отражений получен в дифрактометре ДАР-Б. Структура определена прямым методом и уточнена методом наименьших квадратов (МНК) в изотропном приближении до $R = 0,113$.

Стереизомерные циклотетрадепептиды, построенные из чередующихся остатков *N*-метилвалина и α -оксиизовадериановой кислоты, синтезированы М. М. Шемякиным, Ю. А. Овчинниковым, В. Т. Ивановым с сотр. [1]. Исходя из предположения о *транс*-конфигурации *N*-метиламидных связей, были предложены пространственные структуры синтезированных циклов [2]. Однако рентгеноструктурный анализ одного из циклических тетрадепептидов $[-L\text{-MeIle-}D\text{-HyIv-L-MeLeu-}D\text{-HyIv-}]$ [3] показал, что в этом соединении пептидная группа принимает *цис*-конфигурацию, тогда как сложноефирная сохраняет обычную *транс*-конфигурацию.

Теоретическим конформационным анализом молекул $[-(\text{MeAla-Lac})_2-]$ со всеми возможными (кроме *LLDD*) конфигурациями атомов C^α и с фиксированными конфигурациями связей — *цис*-метиламидной и *транс*-сложноефирной [4] — было установлено: 1) для каждого соединения возможны одна — три оптимальные конформации; 2) у замещенных тетрадепептидов выбор конформаций цикла из числа возможных для полностью незамещенного цикла $[-(\text{Gly-Glyco})_2-]$ определяется главным образом не объемом заместителя, а последовательностью конфигураций атомов C^α , причем увеличение эффективного радиуса заместителей у атомов C^α приводит к более резкой энергетической дифференциации форм.

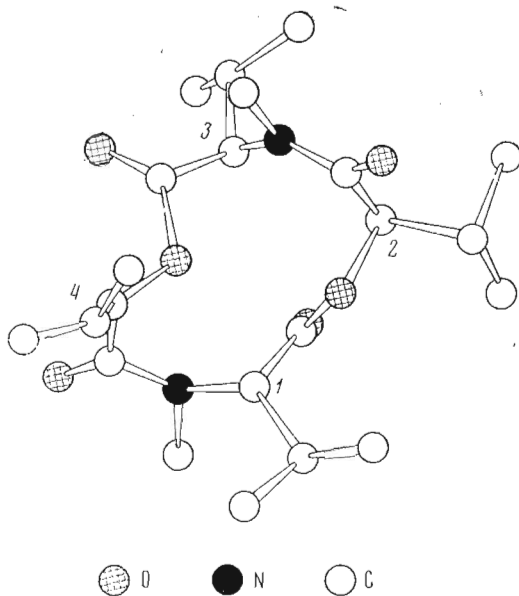


Рис. 1. Конформация молекулы *LDDD*-формы

Следовательно, можно было ожидать, что конформации молекул $[-(\text{MeVal-HyIv})_2-]$ близки к расчетным конформациям $[-(\text{MeAla-Lac})_2-]$ с минимальными значениями общей энергии $U_{\text{общ}}$.

С целью определения строения стереоизомеров циклического тетрадепептида $[-(\text{MeVal-HyIv})_2-]$ в лаборатории структуры белка Института кристаллографии АН СССР проводятся систематические исследования кристаллов этих соединений методом рентгеноструктурного анализа. К настоящему моменту завершено исследование четырех форм — *DDDL*, *DLLD*, *LDDD* и *LLDD*. В первых трех соединениях [5–7] и настоящая работа) так же, как и в изученном Карле и Коннертом депептиде $[-L\text{-MeIle-}D\text{-HyIv-}L\text{-MeLeu-}D\text{-HyIv-}]$ [3], имеет место *цис*-строение амидных и *транс*-строение сложноэфирных связей. Однако в *LLDD*-форме, данные для которой вскоре будут опубликованы в этом журнале, и те и другие связи принимают *транс*-конфигурацию (расчет для этой формы в [4] не проводился).

Предварительное изучение кристаллов *LLLL*-стереоизомера показало, что существуют две кристаллические модификации этого соединения с двумя и тремя молекулами в независимой части элементарной ячейки. При отсутствии межмолекулярных водородных связей это может указывать на реализацию в кристалле двух или трех различных конформаций одновременно. Ведется расшифровка кристаллических структур обеих модификаций. После завершения изучения строения кристаллов всех соединений данного ряда предполагается опубликовать подробное сопоставление конформационных состояний их молекул как в кристаллах, так и в растворах.

В данной статье представлены результаты определения строения *LDDD*-формы.

Конформация молекулы. Конформация молекулы *LDDD*-формы показана на рис. 1. Обозначения атомов даны в соответствии с номенклатурой, предложенной для пептидных систем [8]. Для атомов кислорода сложноэфирных связей принято обозначение O' , введенное Карле и Коннертом [3]. В табл. 1 наряду со стандартными конформационными параметрами приведены также двугранные углы φ_N и φ_C , необходимые для полной характеристики пептидной единицы [9, 10]. Эти углы отражают

Конформационные параметры (град) для *LDDD*-формы

В скобках — расчетные величины [4]

j	φ	ψ	ω	χ^1	χ^2	$ \theta_N $	$ \theta_{C'} $
1	-80 (-76)	157 (137)	-166	-58	-180	3	2
2	127 (126)	-84 (-86)	-4	-175	63		3
3	63 (92)	-66 (-35)	174	172	54	4	0
4	117 (76)	41 (56)	15	156	38		2

Таблица 2

Длины связей (Å) в структуре *LDDD*-формы

В скобках — стандартные отклонения

Связи	$j=1$	$j=2$	$j=3$	$j=4$
N — C $^\alpha$	1,49 (03)		1,45 (03)	
O' — C $^\alpha$		1,48 (02)		1,50 (03)
N — C	1,46 (03)		1,51 (03)	
C $^\alpha$ — C $^\beta$	1,56 (03)	1,52 (03)	1,53 (04)	1,53 (04)
C $^\beta$ — C $^{\gamma_1}$	1,52 (04)	1,57 (04)	1,59 (04)	1,51 (04)
C $^\beta$ — C $^{\gamma_2}$	1,51 (04)	1,52 (04)	1,51 (04)	1,51 (04)
C $^\alpha$ — C'	1,51 (03)	1,56 (03)	1,50 (04)	1,55 (04)
C' — O	1,19 (03)	1,19 (03)	1,21 (03)	1,24 (03)
C' — O'		1,36 (03)		1,34 (03)
C' — N	1,33 (03)		1,38 (03)	

Таблица 3

Валентные углы (град) в структуре *LDDD*-формы

Стандартные отклонения — 2°

Углы	$j=1$	$j=2$	$j=3$	$j=4$	Углы	$j=1$	$j=2$	$j=3$	$j=4$
C $^\alpha$ — C' — O	127	121	126	115	C' — N — C	118		117	
O — C' — N		123		122	C — N — C $^\alpha$	118		116	
O — C' — O'	123		123		N — C $^\alpha$ — C $^\beta$	112		112	
C' — N — C $^\alpha$	124		127		C' — C $^\alpha$ — C $^\beta$	115	112	115	115
C' — O' — C $^\alpha$		119		119	O' — C $^\alpha$ — C $^\beta$		108		112
N — C $^\alpha$ — C'	109		107		C $^\alpha$ — C $^\beta$ — C $^{\gamma_1}$	109	107	108	105
O' — C $^\alpha$ — C'		101		105	C $^\alpha$ — C $^\beta$ — C $^{\gamma_2}$	112	110	111	112
C $^\alpha$ — C' — N		116		123	C $^{\gamma_1}$ — C $^\beta$ — C $^{\gamma_2}$	109	110	108	109
C $^\alpha$ — C' — O'	110		111						

степень отклонения связей, сходящихся на атомах C' и N от плоской конфигурации.

Молекула *LDDD*-формы асимметрична, одна из групп C=O (а именно C=O-группа остатка H_2Iv ($j=2$)) направлена по отношению к плоскости цикла в сторону, противоположную трем другим C=O-группам. Амидные и сложноэфирные группы имеют соответственно *цис*- и *транс*-конфигурацию. Конформация в кристалле близка к расчетной конформации для

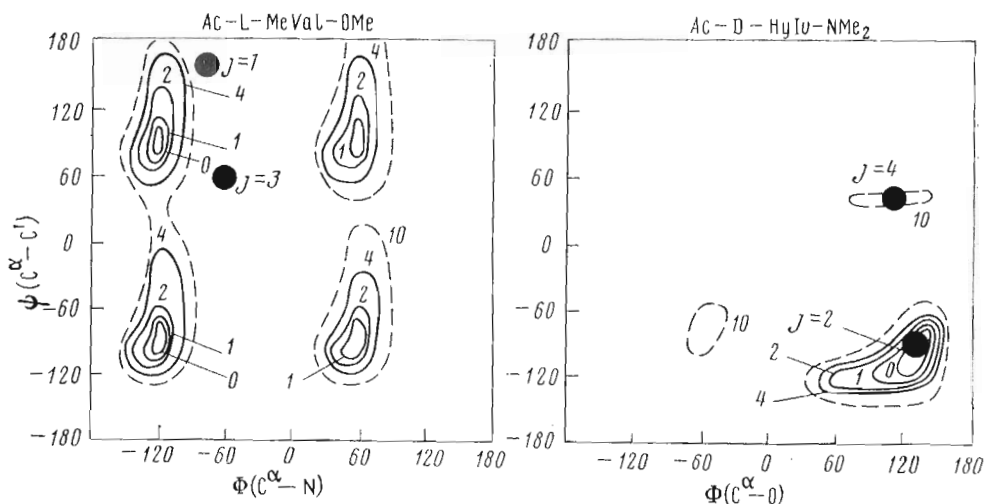


Рис. 2. Положение экспериментальных точек на конформационной карте для фрагментов молекулы. Номера точек соответствуют номеру остатка в цепи. Для остатка *D*-MeVal нанесены инвертированные координаты $\phi - \psi$ (точка $j=3$)

свободной молекулы с минимальной величиной $U_{\text{общ}}$, что следует из сопоставления экспериментальных и расчетных величин конформационных параметров, приведенных в табл. 1.

Величины углов χ свидетельствуют о преимущественной псевдоэкваториальной *транс*-ориентации боковых радикалов.

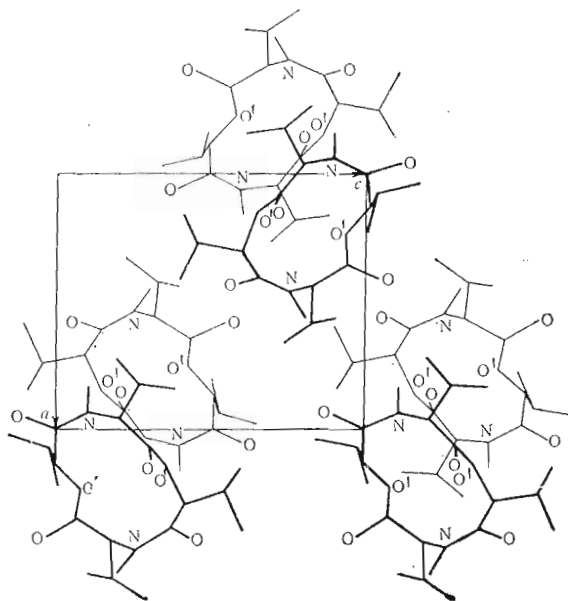


Рис. 3. Упаковка молекул в структуре *LDDD*-формы

Экспериментальные точки $\phi - \psi$ для остатков *D*-оксизавалериановой кислоты (2 и 4) попадают в область дозванных значений на конформационной карте соединения, моделирующего эти остатки (рис. 2), причем одна из них, а именно точка 2, располагается в глубоком энергетическом минимуме, а точка 4 — в другом, слабовыраженном минимуме. Значения поворотных углов ϕ и ψ для аминокислотных остатков (точки 1 и 3) отве-

чают области с высокой энергией. Расположение экспериментальных точек на конформационных картах свидетельствует о некоторой напряженности 12-членного цикла в *LDDD*-стереоизомере.

Длины связей (табл. 2) и величины валентных углов (табл. 3) согласуются с соответствующими величинами в других циклодепептидах [3, 5, 6, 11] и со стандартными величинами для пептидов [12]. Можно отметить некоторое укорочение связи $C^\alpha-C'$ в амидных группах и удлинение этой же связи в сложнэфирных — средние величины равны 1,50 и 1,55 Å соответственно при стандартной величине 1,53 Å. Окончательный анализ длин связей и величин валентных углов будет проведен после уточнения структуры в анизотропном приближении с учетом атомов водорода.

Упаковка молекул в ацентричной структуре *LDDD*-формы (рис. 3) характеризуется наличием цепочек молекул, вытянутых вдоль оси *y*. Молекулы в цепочках связаны между собой осью z_1 и отстоят друг от друга на 7 Å. Каждая цепочка окружена шестью другими по псевдогексагональному закону: расстояния между ними ~ 10 Å. Межмолекулярные контакты укладываются в схему ван-дер-ваальсовых радиусов.

Экспериментальная часть

Кристаллы *LDDD*-формы представляли собой вытянутые бесцветные призмы, устойчивые на воздухе. Параметры ромбической решетки определяли по прецессионным рентгенограммам и уточняли на дифрактометре

Таблица 4

Координаты и индивидуальные температурные поправки атомов в структуре *LDDD*-формы

В скобках — стандартные отклонения

Атом	x/a	y/b	z/c	$B, \text{Å}^2$	Атом	x/a	y/b	z/c	$B, \text{Å}^2$
N_1	0,0266 (10)	0,2135 (16)	0,0992 (18)	3,07	N_3	0,2695 (10)	0,1597 (15)	0,7520 (18)	3,03
C_1^α	0,5172 (12)	0,2168 (20)	0,7900 (23)	2,80	C_3^α	0,2782 (13)	0,2635 (20)	0,8166 (23)	2,80
C_1'	0,4604 (13)	0,2682 (21)	0,7073 (23)	3,49	C_3'	0,3156 (13)	0,2372 (20)	0,9348 (24)	3,26
O_1	0,4478 (09)	0,3641 (13)	0,6963 (15)	4,26	O_3	0,2893 (11)	0,2457 (17)	0,0354 (19)	6,16
C_1	0,0751 (15)	0,1187 (22)	0,1073 (26)	5,24	C_3	0,2178 (14)	0,0774 (20)	0,8091 (25)	4,94
C_1^β	0,0916 (13)	0,3091 (20)	0,2735 (23)	3,83	C_3^β	0,2655 (15)	0,3238 (22)	0,8306 (26)	4,38
$C_1^{\gamma_1}$	0,1409 (14)	0,3671 (22)	0,1824 (26)	4,89	$C_3^{\gamma_1}$	0,2226 (14)	0,4422 (23)	0,8849 (26)	7,10
$C_1^{\gamma_2}$	0,0824 (15)	0,3802 (23)	0,3861 (27)	5,46	$C_3^{\gamma_2}$	0,1683 (15)	0,3380 (23)	0,7080 (29)	7,14
O_2'	0,4225 (07)	0,1885 (11)	0,6479 (12)	2,45	O_4'	0,3837 (08)	0,2014 (12)	0,9158 (15)	3,25
C_2^α	0,3537 (11)	0,2179 (18)	0,5844 (20)	2,26	C_4^α	0,4325 (13)	0,1812 (21)	0,0233 (22)	3,89
C_2'	0,3005 (12)	0,1320 (19)	0,6409 (21)	2,74	C_4'	0,4959 (13)	0,2641 (22)	0,0079 (25)	3,99
O_2	0,2905 (08)	0,0454 (13)	0,5921 (16)	3,98	O_4	0,5155 (10)	0,3114 (16)	0,1029 (18)	5,25
C_2^β	0,3641 (13)	0,1989 (21)	0,4480 (23)	3,48	C_4^β	0,4555 (13)	0,0602 (21)	0,0332 (23)	3,96
$C_2^{\gamma_1}$	0,2890 (14)	0,2251 (22)	0,3843 (25)	5,07	$C_4^{\gamma_1}$	0,4746 (14)	0,0443 (23)	0,1663 (25)	5,98
$C_2^{\gamma_2}$	0,4230 (14)	0,2747 (21)	0,3988 (24)	4,33	$C_4^{\gamma_2}$	0,3938 (15)	0,9834 (24)	0,9985 (27)	6,05

ДРОН-1: $a = 18,30$ (6), $b = 12,14$ (5), $c = 10,93$ (5) Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, $M = 426,562$. В ячейке объема $V = 2431,1$ Å³ содержится четыре молекулы состава $C_{22}H_{38}N_2O_6$, ρ (выч.) = $1,17$ г/см³. Систематические погасания однозначно определили пространственную группу симметрии $P 2_1 2_1 2_1$.

Трехмерный набор интенсивностей был получен на автоматическом дифрактометре ДАР-Б на Си K_α -излучении с применением Ni-фильтра. Интегральную интенсивность измеряли комбинированным ω - $\omega/2\theta$ -методом [13]. Фон измеряли слева и справа, суммарное время измерения фона было равно времени измерения интегральной интенсивности. Интервал сканирования определяли по стандартной формуле [13]. Из массива были исключены рефлексy с разницей интенсивностей эквивалентных отражений, превышающей 15% их величины. После усреднения эквивалентных отражений окончательный набор составили 1446 независимых ненулевых отражений.

Нецентросимметричную структуру расшифровали с использованием системы программы «Рентген-73», разработанной для машины БЭСМ-6 [14—16]. При расшифровке структуры (30 независимых неводородных атомов) были посчитаны 1024 варианта фазовых наборов.

Из 15 наборов фаз с наилучшими оценками правильный вариант был 9-м по величинам оценок и имел R -фактор, равный 0,410. Как выяснилось в дальнейшем, на E -синтезе этого варианта среди 30 наибольших пиков было только 11 правильных. Путем построения и анализа последовательных синтезов Фурье (было проведено 10 итераций) удалось получить координаты всех неводородных атомов структуры. На этой стадии исследования величина фактора расхожимости R была 0,290, причем всем 30 атомам были приписаны рассеивающие способности атомов углерода. Расстановка атомов по сортам спирида R -фактор до 0,203. Далее проводили уточнение МНК в изотропном приближении по всем рефлексам без учета весовых множителей по программе Л. А. Мурадян [17]. Окончательное значение $R = 0,113$.

Координаты и индивидуальные температурные поправки приведены в табл. 4.

Авторы признательны В. Т. Иванову и А. В. Евстратову за предоставление кристаллов исследованного вещества и за полезное обсуждение результатов.

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. Yu., Shemyakin M. M. (1965) Acta chim. hung., 44, 211—218.
3. Konnert J., Karle I. L. (1969) J. Amer. Chem. Soc., 91, 4888—4892.
4. Плетнев В. З., Попов Е. М. (1970) Изв. АН СССР. Сер. хим., 5, 991—995.
5. Тищенко Г. Н., Каримов З., Назимова Н. В. (1975) Биоорган. химия, 1, 375—377.
6. Тищенко Г. Н., Каримов З., Борисов В. В. (1975) Биоорган. химия, 1, 378—385.
7. Тищенко Г. Н., Назимова Н. В., Андрианов В. И., Каримов З. (1975) Биоорган. химия, 1, 386—392.
8. IUPAC — IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1970) Biochemistry, 9, 3471—3479.
9. Ramachandran G. N., Lakshminarayan A. V., Kolaskar A. S. (1973) Biochim. et biophys. acta, 303, 8—13.
10. Ramachandran G. N., Kolaskar A. S. (1973) Biochim. et biophys. acta, 303, 385—388.
11. Шишова Т. Г., Симонов В. И., Иванов В. Т., Евстратов А. В., Овчинников Ю. А. (1975) Биоорган. химия, 1, 1689—1701.
12. Marsh R. E., Donohue J. (1967) Advan. Protein. Chem., 22, 235—256.
13. Хейкер Д. М., Горбатый Л. В., Лубе Э. Л. (1969) Кристаллография, 14, 251—260.
14. Андрианов В. И., Тарнопольский Б. Л. (1972) Кристаллография, 17, 745—749.
15. Karle J., Karle I. L. (1966) Acta Crystallogr., 21, 849—857.
16. Андрианов В. И., Сафина З. Ш., Тарнопольский Б. Л. (1971) Ж. структуры. химии, 12, 1052—1057.

17. Мурадян Л. А. (1973) Уточнение атомной структуры кристаллов методом наименьших квадратов с учетом анизотропии тепловых колебаний атомов и вычисление вероятностных характеристик теплового движения атомов. Серия: Автоматизация исследований атомной структуры кристаллов дифракционными методами, вып. 1, Изд. Ин-та кристаллографии АН СССР, М.

Поступила в редакцию
30.I.1976

STRUCTURAL STUDY OF CYCLIC TETRADEPSIPEPTIDES.
IV. THE CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF *LDDD*
FORM OF CYCLOTETRADEPSIPEPTIDE [-(MeVal-HyIv)₂-]

TISHCHENKO G. N., SMIRNOVA V. I., ZEIBOT L. N.,
NAZIMOVA N. V., ANDRIANOV V. I.

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

The conformation of the *LDDD* form of cyclotetrapeptide [-(MeVal-HyIv)₂-] has been determined by X-ray structure analysis. The molecule is noncentrosymmetric, the amide and ester groups have *cis* and *trans* configuration respectively, both groups being nearly planar. One of the C=O groups, namely that of HyIv residue ($j = 2$), is situated at one side of the ring plane, whereas the other C=O groups face the opposite direction. The side chains have pseudoequatorial *trans* orientation. The crystal conformation is close to that calculated for a free molecule with the minimum value of the U_{total} . The bond lengths and bond angles are close to standard parameters in peptides. The molecular packing in the noncentrosymmetric structure of the *LDDD* form is characterized by the presence of the chains of molecules extended along the Y axis. The crystals are orthorhombic, $a = 18,30(6)$, $b = 12,14(5)$ and $c = 10,93(5)$ Å, $Z = 4$, space group is $P2_12_12_1$. The X-ray intensity data were collected with an automatic diffractometer DAR-B. The structure was solved by the direct method and refined by least squares in isotropic approximation to the $R = 0.113$.
