



УДК 577.112.6.088.52

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА K⁺-КОМПЛЕКСА *мезо*-ВАЛИНОМИЦИНА, *cyclo[-(D-Val-L-Hyi-L-Val-D-Hyi)₃-] · KAuCl₄*

© 1995 г. В. З. Плетнев[#], И. Н. Цыганник, Ю. Д. Фонарев, И. Ю. Михайлова,
Ю. В. Куликов, В. Т. Иванов, Д. А. Лэнгс*, В. Л. Дюэкс*

*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

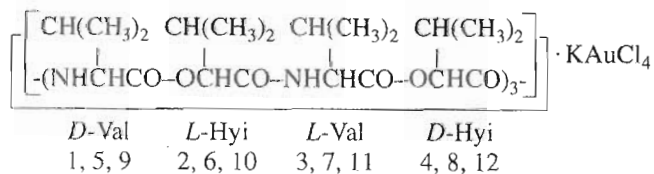
** Медицинский исследовательский центр Хауптмана-Вудварда,
Буффало, Нью-Йорк, 14203-1196, США*

Поступила в редакцию 20.01.95 г.

Прямыми рентгеновскими методами установлена кристаллическая структура комплекса *мезо*-валиномицина с KAuCl₄ (C₆₀H₁₀₂N₆O₁₈KAuCl₄). Конформационное состояние комплекса аналогично ранее установленному для свободного *мезо*-валиномицина. Оно характеризуется центросимметричной браслетной формой, стабилизированной шестью внутримолекулярными водородными связями NH...OC типа 4 → 1. Ион K⁺ располагается во внутренней отрицательно заряженной октаэдрической полости, образованной шестью карбонильными кислородами сложноэфирных групп. Наблюдаемые различия конформационных углов комплексной и свободной форм вызваны подстройкой геометрии ионсвязывающей полости при комплексообразовании под размер связываемого иона.

Ключевые слова: рентгеноструктурный анализ, депсипептиды, ионофоры, комплекс, пространственная структура.

Исследования пространственной организации и структурно-функциональных отношений макроциклических комплексов валиномицинового ряда (см. [2] и цитированные там работы) вызваны способностью отдельных его представителей избирательно транспортировать ионы щелочных металлов через биологические мембраны [3 - 5]. Объект настоящего исследования – комплекс *мезо*-валиномицина с KAuCl₄:



Мезо-валиномицин является синтетическим аналогом природного калиевого ионофора валиномицина *cyclo[-(D-Val-L-Lac-L-Val-D-Hyi)₃-]* и характеризуется исключительно высокой константой связывания ионов K⁺ и Rb⁺, приблизительно на порядок превышающей соответствующую константу природного объекта [6].

Ранее прямыми рентгеновскими методами были установлены пространственные структуры

свободного *мезо*-валиномицина в кристаллах, выращенных из смеси диметилформамид–петролейный эфир [7] и изопропилового спирта [8], а также кристаллического комплекса *мезо*-валиномицина с H₂O, выращенного из диоксиана [9].

Координаты атомов C, N, O, ионов K⁺ и AuCl₄⁻ исследуемого комплекса *мезо*-валиномицина приведены в табл. 1.

Скелетное и стереохимическое изображение молекулярной структуры комплекса дано на рис. 1 и 2. Валентные связи и углы в найденной структуре имеют типичные для депсипептидов значения (см. [10] и цитированные там работы). Структура центросимметрична, имеется также инверсионная ось третьего порядка. Амидные группы образуют шесть равноценных внутримолекулярных водородных связей NH...OC типа 4 → 1 с расстоянием N...O, равным 2.93 Å (см. рис. 1). Замкнутые водородными связями 10-членные циклы в K⁺-комплексе *мезо*-валиномицина формируют конформационно жесткую конденсированную браслетную систему, аналогичную найденным как для свободного *мезо*-валиномицина [7, 8], так и для его гидратированного комплекса [9], а также для комплексов валиномицина с ионами щелочных металлов в различных растворах и кристалле (см., например, [11 - 13]).

Обозначения аминокислотных остатков соответствуют рекомендациям номенклатурной комиссии IUPAC-IUB [1];
Hui – гидроксизолейцин.

[#] Автор для переписки.

Таблица 1. Координаты* ($\times 10^4$, в долях ячейки) и эквивалентные температурные факторы ($U_{\text{eq}} \times 10, \text{Å}^2$) неводородных атомов K⁺-комплекса мезо-валиномицина

Атом**	x/a	y/b	z/c	U_{eq}^{***}	Атом**	x/a	y/b	z/c	U_{eq}^{***}
K ⁺	3333	6667	1667	43(1)	C(1G2)	939(4)	3883(5)	3772(8)	78(4)
AuCl ₄ ⁻	3333	6667	6667	89(1)	O'(2)	3178(2)	4708(2)	3291(3)	44(2)
N(1)	1799(2)	4521(2)	1886(4)	44(2)	C(2)	4248(3)	5419(3)	2395(4)	44(3)
C(1)	2790(3)	4963(3)	2984(4)	44(3)	O(2)	4833(2)	5868(2)	2416(3)	53(2)
O(1)	2998(2)	5536(2)	2810(3)	57(2)	C(2A)	3875(3)	5182(3)	3451(5)	48(3)
C(1A)	2067(3)	4428(3)	2891(5)	44(3)	C(2B)	4171(4)	4856(4)	4178(5)	58(3)
C(1B)	1658(3)	4431(4)	3892(5)	56(3)	C(2G1)	3850(7)	4669(7)	5287(8)	95(7)
C(1G1)	1949(7)	4335(8)	4931(7)	101(8)	C(2G2)	4170(5)	4282(5)	3625(7)	74(5)

* В соответствии с симметрией пространственной группы координаты (стандартные отклонения даны в скобках) приведены для 1/6 независимой части комплекса.

** В скобках у каждого идентификатора атома указан номер остатка и символ обозначения атома: A – α , B – β , G – γ .

*** U_{eq} – эквивалентный температурный фактор, рассчитанный программой SHELXS-76.

Основная цепь молекулы имеет замкнутую синусоидальную форму с шестью экстремальными точками (три максимума и три минимума), в которых расположены сложноэфирные атомы кислорода (см. рис. 2). В средней части синусоидальной кривой приблизительно в одной плоскости размещены шесть атомов азота. Изопропильные боковые группы остатков Val и Hyl образуют гидрофобную периферию браслета.

Карбонилы шести сложноэфирных групп ориентированы внутрь молекулы, образуя из атомов кислорода симметричную октаэдрическую отрицательно заряженную полость, в центре которой

размещается ион K⁺. Расстояние K⁺...OC в найденной структуре составляет 2.73 Å. Соответствующие расстояния в комплексах валиномицина с пикратом K, KAuCl₄, KI₅ варьируют от 2.67 до 2.83 Å [12 - 15].

Распределение конформационных углов ϕ и ψ основной цепи (табл. 2) в структурах исследуемого K⁺-комплекса мезо-валиномицина, его свободной [7, 8] и гидратированной форм [9], а также K⁺-комплекса валиномицина [12, 13] отвечает одному набору областей с низкой энергией на конформационных картах. Тем не менее, как видно из табл. 2, сходство конформационных состояний

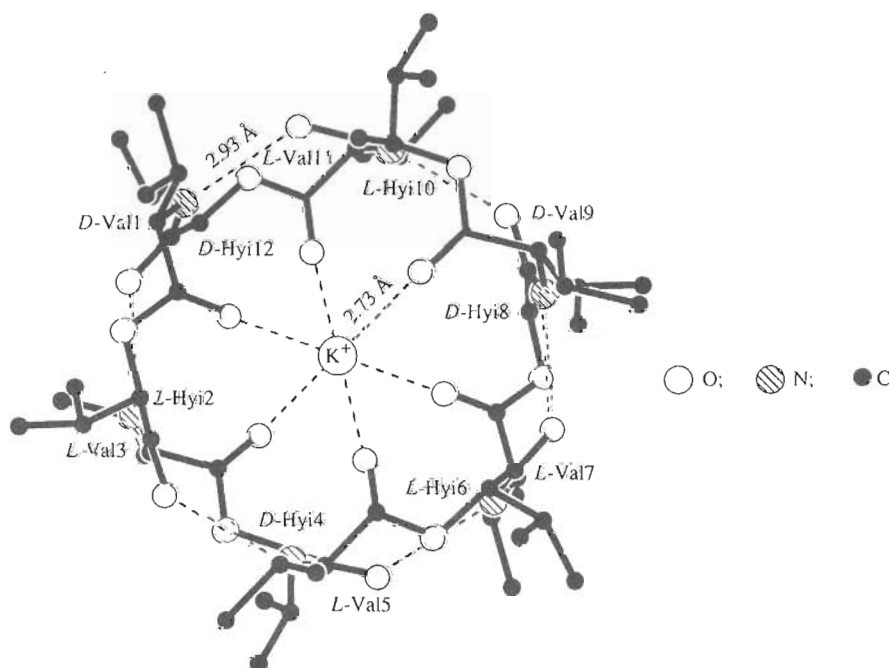


Рис. 1. Скелетное изображение пространственной структуры K⁺-комплекса мезо-валиномицина; ион-дипольные и H⁺-связи показаны штриховыми линиями.

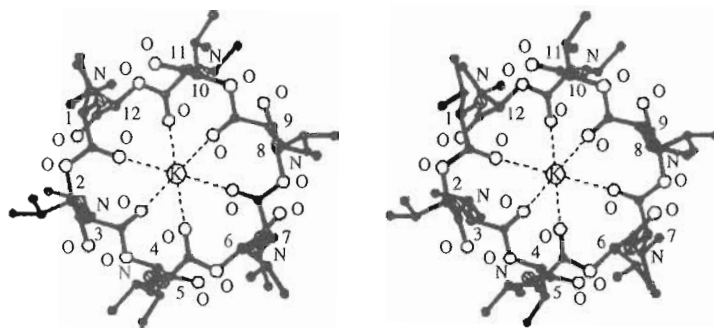


Рис. 2. Стереорепрезентация пространственной структуры K^+ -комплекса *мезо*-валиномицина. Цифры соответствуют номерам остатков.

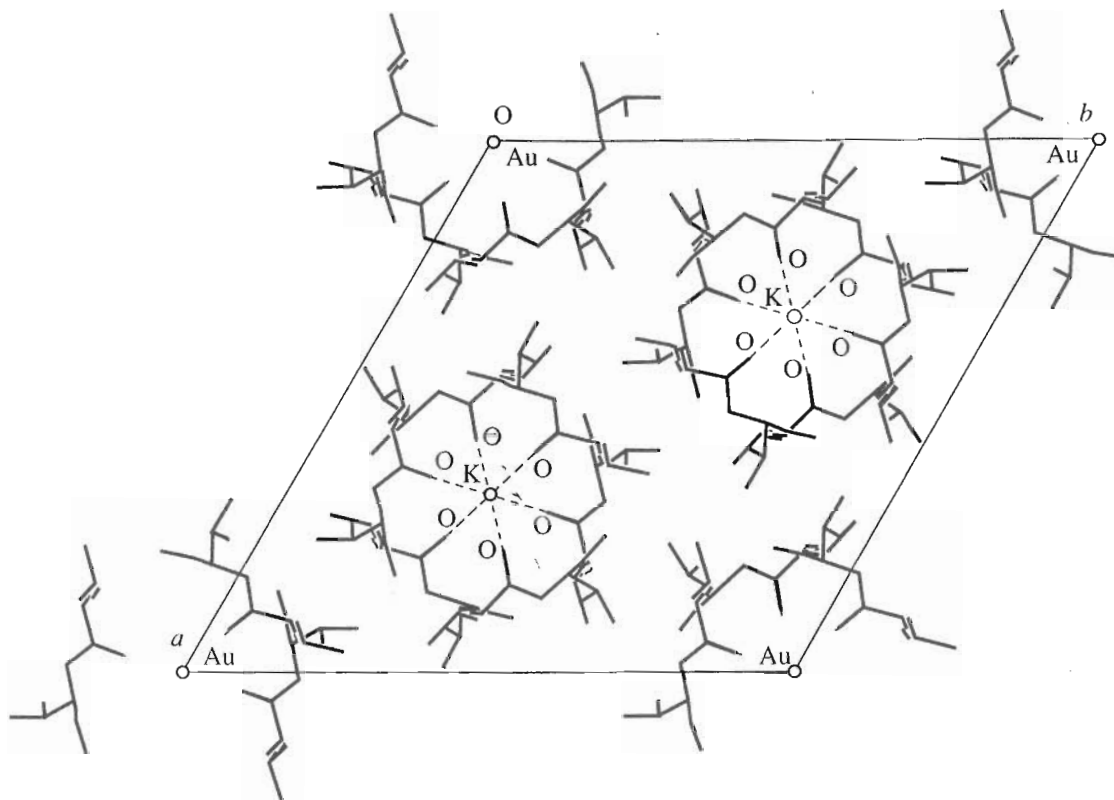


Рис. 3. Упаковка K^+ -комплекса *мезо*-валиномицина в кристаллической ячейке вдоль оси *C*.

сравниваемых структур не исключает довольно заметного разброса величин φ и ψ сопоставимых остатков в пределах одноименных локальных минимумов, достигающего в отдельных случаях ($\varphi_2(\varphi_8)$ и $\varphi_{10}(\varphi_4)$ у остатков $Hu1$) 50° . Наблюдаемый разброс является следствием реальной, хотя и ограниченной структурной жесткостью, конформационной подвижности молекулы, отражающей изменчивость ее состояния вследствие различий в кристаллическом окружении (в случае разных кристаллических форм), а также взаимодействия с лигандами (ионами, водой и т.д.). Как и следовало ожидать, ион-дипольные взаимодействия при комплексообразовании вызывают наибольшие изменения конформационных парамет-

ров. При этом конформационные возможности молекулы обеспечивают подстройку центральной связывающей полости под размер связываемого иона. Как видно из табл. 2, наибольшее сходство конформационных параметров имеет место у форм *мезо*-валиномицина и валиномицина в комплексе с ионами K^+ . При этом наблюдаемые различия в ориентациях боковых цепей остатков *D-Hu1* вызваны появлением в структуре *мезо*-валиномицина дополнительных стерических взаимодействий вследствие пространственной сближенности боковых цепей *D-Hu1* и *L-Hu1*.

Упаковка исследуемого комплекса в кристаллической ячейке в проекции вдоль оси *C* показана на рис. 3. Межмолекулярные водородные связи в

Таблица 2. Конформационные углы* (град) пространственной структуры K⁺-комплекса мезо-валиномицина в сравнении с углами для свободной, гидратированной форм мезо-валиномицина и K⁺-комплекса валиномицина, наблюдаемых в кристалле

Пространственная группа	D-Val (i = 1, 5, 9)				L-Hy (i = 2, 6, 10)				L-Val (i = 3, 7, 11)				D-Hy (i = 4, 8, 12)				
	φ_i	ψ_i	ω_i	χ_i	φ_i	ψ_i	ω_i	χ_i	φ_i	ψ_i	ω_i	χ_i	φ_i	ψ_i	ω_i	χ_i	
R3 (данная работа)	59.2	-134.1	-177.4	-179.9	-77.6	-7.5	176.2	-61.3	-59.2	134.1	177.4	179.9	77.6	7.4	-176.2	61.3	
P1 [7] (свободная форма)	76.1	-114.1	173.5	179.1	-106.7	-0.5	179.6	-63.3	-79.7	104.6	-174.2	-179.0	112.3	3.9	179.4	67.0	
P2 _{1/n} [8] (свободная форма)	70.4	-122.7	178.1	-173.7	-98.8	-1.3	-178.4	-67.4	-76.1	114.1	-173.5	-179.1	106.7	0.5	-179.6	63.3	
P1 [9] (моногидрат)	79.7	-104.6	174.2	179.0	-112.3	-3.9	-179.4	-67.0	-70.4	112.7	-178.1	173.7	98.8	1.3	178.4	67.4	
	91.0	-98.7	167.0	178.7	-130.2	7.0	171.5	-75.4	-77.1	111.2	-171.3	174.4	125.6	-13.3	-170.7	77.4	
	69.5	-126.9	175.7	-175.3	-98.5	-0.6	-176.9	-64.7	-91.0	98.7	-167.0	-178.7	130.2	-7.0	-171.5	75.4	
	77.1	-111.2	171.3	-174.4	-125.6	13.3	170.7	-77.4	-69.5	126.9	-175.3	175.3	98.5	0.6	176.9	64.7	
	66.6	-125.9	178.0	179.5	-90.5	-4.5	-178.0	-65.5	-80.4	105.3	-173.3	-177.8	115.3	-0.8	179.7	70.9	
	76.0	-116.6	177.5	-177.2	-109.5	2.3	177.7	-72.3	-66.6	125.9	-178.0	-179.5	90.5	4.5	178.0	65.5	
	80.4	-105.3	173.3	177.8	-115.3	0.8	-179.7	-70.9	-76.0	116.6	-177.5	177.2	109.5	-2.3	-177.7	72.3	
										L-Val				D-Hy			
P1 [12, 14] (комплекс валиномицина с K ₂ SO ₄)	41	-113	173	179	-81	-15	180	-	-51	121	160	-163	79	41	174	-55	
	60	-153	-178	185	-89	24	172	-	-64	135	173	-195	86	5	176	180	
	47	-132	-172	156	-79	-3	168	-	-77	155	168	-199	75	4	-174	197	

* Отсчет углов проводился в соответствии с номенклатурой IUPAC-IUB [16]. Торсионные углы вокруг связей C^α-C^β (χ_i) в остатках L-Val (L-Hy) и D-Val (D-Hy) в приведенных формах мезо-валиномицина отсчитывались от затененного положения связей C^α-N (C^α-O) и C^α-C по отношению к связям C^β-C^γ и C^β-C^δ соответственно; для корректного сопоставления углы χ_i в структуре K⁺-комплекса валиномицина пересчитаны в соответствии с выбранной системой отчета.

Таблица 3. Кристаллографические и экспериментальные данные

Химическая брутто-формула	$C_{60}H_{120}N_6O_{18}KAuCl_4$
Молекулярная масса (Да)	1195.5
Пространственная группа	$R\bar{3}$
Параметры кристаллической ячейки (в гексагональной установке)	
$a = b$ (Å)	23.324(3)
c (Å)	12.216(1)
$\alpha = \beta$ (град)	90
γ (град)	120
V (Å ³)	5754.3(2, 0)
Z	3
$\rho_{теор}$ (г/см ³)	1.362
Общее число рефлексов, в том числе	1699
$F > 2\sigma_F$	1586
(использовано в уточнении)	1389
$\sin \theta_{max} / \lambda$ (Å ⁻¹)	0.53
Стандартный фактор R	0.059

кристалле отсутствуют. Мезовалиномициновые браслеты с ионами K^+ в центре располагаются стопкой попеременно с ионами $AuCl_4^-$. При этом вдоль оси $\bar{3}$ формируется бесконечный цилиндрический канал с цепочкой внутренних октаэдров из сложноэфирных карбонильных кислородов, удерживающих ионы K^+ . Ионы $AuCl_4^-$ смещены от ионов K^+ на 0.5 трансляции вдоль оси C (6.1 Å), что исключает их непосредственное взаимодействие. Более того, наблюдаемое минимальное расстояние (3.73 Å) от атомов Cl до ближайшего из атомов C мезо-валиномицина больше суммы их ван-дер-ваальсовых радиусов, что также указывает на достаточно обособленное расположение ионов $AuCl_4^-$ в кристаллической решетке.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Кристаллы мезо-валиномицина в комплексе с K^+ были получены при медленном выпаривании раствора исследуемого соединения и соли $KAuCl_4$ в эквимолярном соотношении из смеси хлористого метилена с добавкой этилового спирта при комнатной температуре. Прозрачные кристаллы со средними размерами $0.3 \times 0.4 \times 0.5$ мм имели светло-оранжевую окраску и хорошую огранку.

Экспериментальные данные были собраны ω - и $\theta/2\theta$ -методами на четырехкружном дифрактометре РЗ (Nicolet, США) при комнатной температуре

(излучение $CuK\alpha$, графитовый монохроматор). Число измерений на профиле пиков составило, в зависимости от ширины дифракционных максимумов, от 35 до 60, интервал сканирования – соответственно от 0.7° до 1.2°. Через каждые 24 ч проводились замеры 7 контрольных отражений.

После первичной обработки данных, включающей коррекцию на поглощение, радиационное повреждение, факторы Лорентца и поляризацию, оба набора были приведены в одну шкалу и объединены с усреднением интенсивностей совпадающих отражений. Основные кристаллографические и экспериментальные данные представлены в табл. 3. В кристаллической упаковке, отвечающей пространственной группе $R\bar{3}$, молекула с ионом K^+ в центре занимает частное положение $(0, 0, 1/2) + (1/3, 2/3, 2/3)$ на оси инверсии третьего порядка; ион $AuCl_4^-$ занимает другое частное положение $-(0, 0, 0) + (1/3, 2/3, 2/3)$. При этом на независимую часть ячейки приходится 1/6 молекулы.

Структура исследуемого соединения расшифрована прямыми рентгеновскими методами на ЭВМ IBM-PC AT/386 с использованием программы SHELXS-86; уточнение координат неводородных и водородных атомов проводили по программе SHELXS-76 в анизотропно-изотропном (атомы H) приближении их тепловых колебаний. Окончательный стандартный фактор расхождения, рассчитанный по 1389 рефлексам ($F > 2\sigma_F$), равен 0.059.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. IUPAC-IUB Commission on Biochemistry Nomenclature // Eur. J. Biochem. 1984. V. 138. P. 9 - 37.
2. Pletnev V.Z., Mikhailova I.Yu., Ivanov V.T., Langs D.A., Grochulski P., Duax W.L. // Biopolymers. 1991. V. 31. P. 409 - 415.
3. Овчинников Ю.А., Иванов В.Т., Шкроб А.М. Мембрано-активные комплексоны. М.: Наука, 1974. 463 с.
4. Dobler M. Ionophores and their Structures. N. Y.: J. Wiley and Sons, 1981. 379 p.
5. Ovchinnikov Yu.A., Ivanov V.T. The Proteins. V. 5. N. Y.: Acad. Press, 1982. P. 307 - 642.
6. Иванов В.Т., Санасарян А.А., Червин И.И., Яковлев Г.И., Фомина Л.А., Сенявина Л.Б., Сычев С.В., Виноградова Е.И., Овчинников Ю.А. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1974. С. 2310 - 2319.
7. Pletnev V.Z., Galitskii N.M., Ivanov V.T., Ovchinnikov Yu.A. // Biopolymers. 1979. V. 18. P. 2145 - 2166.
8. Васильев А.Д., Шибанова Т.А., Андрианов В.И., Симонов В.И., Санасарян А.А., Иванов В.Т., Овчинников Ю.А. // Биоорганическая химия. 1978. Т. 4. С. 1157 - 1163.

9. Плетнев В.З., Цыганник И.Н., Фонарев Ю.Д., Иванов В.Т., Лэнгс Д.А., Грохульский П., Дюэкс В.Л. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. С. 794 - 801.
10. Плетнев В.З., Галицкий Н.М., Туркин Н.Г., Тарнопольский Б.Л., Евстратов А.В. // Биоорган. химия. 1977. Т. 3. С. 869 - 878.
11. Bystrov V.F., Gavrilov Yu.D., Ivanov V.T., Ovchinnikov Yu.A. // Eur. J. Biochem. 1977. V. 78. P. 63 - 82.
12. Hamilton J.A., Sabesan M.N., Steinrauf L.K. // J. Amer. Chem. Soc. 1981. V. 103. P. 5880 - 5885.
13. Steinrauf L.K., Hamilton J.A., Sabesan M.N. // J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 4085 - 4091.
14. Pinkerton M., Steinrauf L.K., Dawkins P. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1969. V. 35. P. 512 - 518.
15. Neupert-Laves K., Dobler M. // Helv. Chim. Acta. 1975. V. 58. P. 432 - 442.
16. IUPAC-IUB Commission on Biochemistry Nomenclature // Pure Appl. Chem. 1974. V. 40. P. 293 - 308.

Crystal and Molecular Structure of K⁺ Complex of *meso*-Valinomycin, *cyclo[-(D-Val-L-Hyi-L-Val-D-Hyi)₃-] · KAuCl₄*

V. Z. Pletnev*,¹ I. N. Tsygannik*, Yu. D. Fonarev*, I. Yu. Mikhailova*,
Yu. V. Kulikov*, V. T. Ivanov*, D. A. Langs**, and W. L. Duax**

* Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117871 Russia

** Hauptman-Woodward Medical Research Center, Buffalo, NY, 14203-1196, USA

Abstract – Crystal structure of the complex of *meso*-valinomycin with KAuCl₄ (C₆₀H₁₀₂N₆O₁₈KAuCl₄) was determined using direct X-ray diffraction analysis. The conformational state of the complex is similar to that determined earlier for free *meso*-valinomycin. Characteristic of it is the centrosymmetric bracelet shape stabilized by six intramolecular NH...OC hydrogen bonds of 4 → 1 type. The K⁺ ion is located in an inner negatively charged octahedral cavity formed by six carbonyl oxygen atoms of ester groups. The observed differences in conformational angles of the complex and free forms are caused by readjustment of the geometry of the ion-binding cavity to the size of the ion bound during complexation.

Key words: X-ray analysis, depsipeptides, ionophores, complex, spatial structure.

¹ To whom correspondence should be addressed.