



УДК 547.964.4.02:539.26

КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА
ЦИКЛИЧЕСКОГО ДОДЕКАДЕПСИПЕПТИДА
cyclo[-Val-Hyi-D-Val-D-Hyi-(D-Val-Hyi-Val-D-Hyi)₂]- $2C_3H_6O$

Плетнев В. З., Попович В. А., Юркова Е. В.

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

Ван Руй Ш., Смит Г. Д., Дюжкс В. Л.

Медицинский Институт Буффало, США

Прямыми рентгеновскими методами определена кристаллическая структура синтетического аналога мезо-валиномицина — *cyclo*[-Val-Hyi-D-Val-D-Hyi-(D-Val-Hyi-Val-D-Hyi)₂] ($C_{60}H_{102}N_6O_{18}$), кристаллизующегося с двумя молекулами ацетона. Кристаллы триклинные, пространственная группа $P1$, число молекул на ячейку $Z1$, параметры ячейки a 10,701, b 11,016, c 18,458 Å, α 83,786°, β 66,415°, γ 87,826°. Величины стандартного (R) и взвешенного (R_w) факторов расхождености после уточнения по атомам С, N и O с учетом вкладов от атомов H равны соответственно 0,081 и 0,103. Молекула имеет асимметричную вытянутую форму с двумя β -изгибами, стабилизированными двумя сильными водородными связями типа 4→1 и одной слабой связью 5→1. Карбонильные группы и боковые цепи характеризуются различными ориентациями по отношению к циклическому остову молекулы. В отличие от мезо-Hyi-валиномицина свободная форма исследуемого аналога характеризуется отсутствием специфического центра связывания ионов металлов.

Интенсивные исследования пространственных структур валиномицина и его аналогов, различающихся природой и конфигурацией отдельных остатков [1—12], вызваны способностью многих представителей данного ряда избирательно связывать ионы металлов и индуцировать их транспорт через искусственные и биологические мембраны. Систематические структурные исследования этих соединений позволяют не только оценить потенциальные возможности валиномициновой цепи, но и путем установления взаимосвязи между их структурой и функцией получить ценную информацию, необходимую для понимания тонких деталей механизма функционирования этих биологически важных молекул.

Ранее рентгеновскими методами были установлены полные пространственные структуры валиномицина и серии его синтетических аналогов [3—11].

В настоящей работе представлены результаты рентгеноструктурных исследований синтетического производного мезо-Hyi-валиномицина с измененной конфигурацией остатков в первом и третьем положениях — *cyclo*[-Val¹-Hyi³-D-Val³-D-Hyi⁴-D-Val⁵-Hyi⁶-Val⁷-D-Hyi⁸-D-Val⁹-Hyi¹⁰-Val¹¹-D-Hyi¹²] ([Val¹, D-Val³] мезо-Hyi-валиномицин) [13]. В отличие от мезо-Hyi-валиномицина, исключительно эффективно связывающего ионы калия в растворах, исследуемый аналог характеризуется относительно слабой комплексобразующей способностью. Константы устойчивости его K^+ -комплекса в этаноле на 3 порядка ниже, чем у мезо-Hyi-валиномицина, и на 2 порядка ниже, чем у природного антибиотика валиномицина [14].

На данном примере представляло интерес выяснить, какое влияние оказывает изменение конфигурационной последовательности в тетрапептидном фрагменте мезо-Hyi-валиномицина на пространственное строение депсипептидного остова, и на основе полученных структурных данных объяснить резкое различие в свойствах обоих валиномициновых аналогов.

Координаты атомов С, N, O исследуемого соединения и двух сокри-

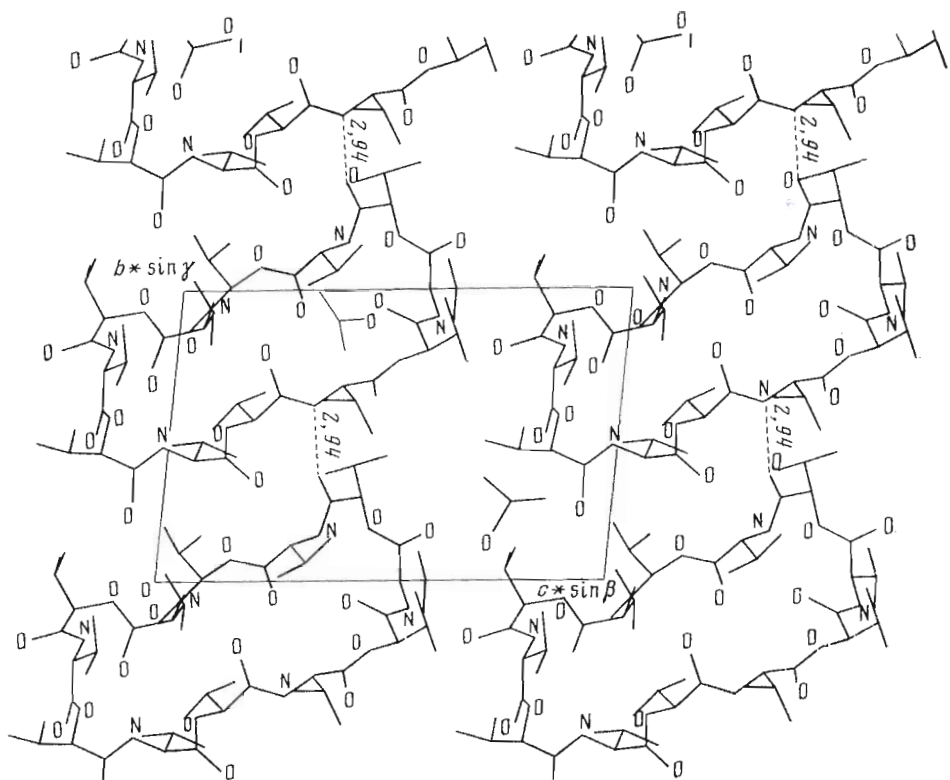


Рис. 1. Упаковка $[Val^4, D-Val^3]$ мезо-НуI-валиномицина в кристаллической ячейке в проекции вдоль оси a

сталлизующихся молекул ацетона после последнего цикла уточнения приведены в табл. 1.

Упаковка молекул в кристаллической ячейке в проекции вдоль оси a показана на рис. 1. Средние плоскости молекулярных циклов в кристаллической решетке приблизительно параллельны плоскости $b-c$ ячейки. Каждая молекула циклодodeкадепептида в кристалле связана водородными связями с двумя соседними молекулами; ~ 20 межмолекулярных контактов характеризуются межатомными расстояниями $< 3,5$ Å.

Величины валентных связей и углов даны в табл. 2 и 3. Геометрические параметры имеют в основном нормальные значения, характерные для большинства депептидных соединений (см. [15] и цитированные там работы). Исключение составляют заниженные значения валентного угла

$C_9^\alpha - C_9^\beta - O_{10}$ ($\sim 109^\circ$) и валентных связей боковых цепей $C_6^B - C_6^{7z}$

и $C_9^B - C_9^{71}$ (1,463 и 1,431 Å соответственно). В последнем случае отклонения от нормальной длины C—C-связи ($\sim 1,54$ Å), по-видимому, обусловлены большой амплитудой крутильных колебаний вокруг соответствующих связей $C^\alpha - C^B$. На это косвенным образом указывают повышенные значения изотропных температурных факторов концевых C¹-атомов. Величина частично кратной сложноэфирной связи $C_5 - O_6$ основной цепи также ниже обычной (1,305 Å). Длины карбонильных связей амидных групп (большинство из них участвуют в образовании сильных водородных связей) заметно больше (в среднем на 0,04 Å) длины соответствующих связей сложноэфирных групп.

Координаты и, как следствие, геометрические параметры двух сокристаллизующихся с циклодodeпептидом молекул ацетона были определены наименее точно. Полученные структурные данные указывают на силь-

Координаты (в долях ячейки) атомов O, N, C [Val¹-D-Val³]. мезо-Нуи-валлпомидина
В скобках даны стандартные отклонения

АТОМ	x/a	y/b	z/c	АТОМ	x/a	y/b	z/c
N ₁	0,6100(9)	0,1603(8)	0,3574(7)	O ₁₁	0,3559(10)	0,1585(9)	0,5869(6)
C ₁ ^α	0,7402(10)	0,1290(9)	0,2971(6)	O ₁₂ '	0,3560(8)	0,1810(7)	0,4655(5)
C ₁ '	0,7130(10)	0,0500(10)	0,2431(7)	C ₁₂ ^α	0,4358(10)	0,2927(9)	0,4424(6)
O ₁	0,6312(10)	-0,0265(9)	0,2639(5)	C ₁₂ '	0,5740(11)	0,2752(10)	0,3749(7)
O ₂	0,8025(8)	0,0768(7)	0,1658(5)	O ₁₂	0,6449(9)	0,3624(8)	0,3409(6)
C ₂ ^α	0,7834(11)	0,0091(10)	0,1067(6)	C ₁ ^β	0,8338(11)	0,0651(11)	0,3358(7)
C ₂ '	0,9081(11)	-0,0643(10)	0,0645(7)	C ₁ ^γ	0,9599(12)	0,0135(11)	0,2740(8)
O ₂	0,9023(8)	-0,1410(7)	0,0222(5)	C ₁ ^γ '	0,8677(12)	0,1507(11)	0,3842(8)
N ₃	1,0247(9)	-0,0392(8)	0,0736(5)	C ₂ ^β	0,7475(12)	0,1005(11)	0,0494(8)
C ₃ ^α	1,1390(10)	-0,1289(10)	0,0523(6)	C ₂ ^γ '	0,6095(14)	0,1619(13)	0,0943(9)
C ₃ '	1,1941(10)	-0,1574(10)	-0,0331(6)	C ₂ ^γ '	0,8579(14)	0,1982(13)	0,0079(9)
O ₃	1,2423(9)	-0,2553(8)	-0,0505(5)	C ₃ ^β	1,2520(11)	-0,0776(11)	0,0721(7)
O ₄ '	1,1842(7)	-0,0664(7)	-0,0858(5)	C ₃ ^γ	1,3528(15)	-0,1750(14)	0,0754(10)
C ₄ ^α	1,2492(10)	-0,0908(9)	-0,1696(6)	C ₃ ^γ '	1,3182(15)	0,0339(13)	0,0203(9)
C ₄ '	1,1574(11)	-0,1670(9)	-0,1928(7)	C ₄ ^β	1,2818(11)	0,0318(10)	-0,2207(7)
U ₄	1,2057(9)	-0,1996(8)	-0,2606(5)	C ₄ ^γ '	1,1543(11)	0,1128(11)	-0,2045(8)
N ₅	1,0328(9)	-0,1979(8)	-0,1399(5)	C ₄ ^γ '	1,3959(13)	0,0968(13)	-0,2118(9)
C ₅ ^α	0,9466(12)	-0,2750(10)	-0,1589(7)	C ₅ ^β	0,7932(13)	-0,2419(12)	-0,1112(8)
C ₅ '	0,9814(16)	-0,4087(12)	-0,1522(10)	C ₅ ^γ '	0,7706(17)	-0,1105(15)	-0,1296(11)
O ₃	0,9163(18)	-0,4866(12)	-0,1616(15)	C ₅ ^γ '	0,7006(18)	-0,3239(17)	-0,1295(12)
O ₆ '	1,0882(9)	-0,4324(7)	-0,1358(5)	C ₆ ^β	1,2768(15)	-0,5525(14)	-0,2154(10)
C ₆ ^α	1,1440(12)	-0,5559(9)	-0,1449(7)	C ₆ ^γ '	1,2593(20)	-0,5182(19)	-0,2945(14)
C ₆ '	1,1593(11)	-0,6075(10)	-0,0686(7)	C ₆ ^γ '	1,3784(17)	-0,4736(16)	-0,2093(11)
O ₆	1,1956(12)	-0,7133(8)	-0,0645(6)	C ₇ ^β	1,2558(13)	-0,5190(12)	0,0775(9)
N ₇	1,1375(10)	-0,5347(8)	-0,0109(6)	C ₇ ^γ '	1,2623(19)	-0,5710(18)	0,1553(13)
C ₇ ^α	1,1428(11)	-0,5833(9)	0,0644(7)	C ₇ ^γ '	1,3929(17)	-0,5324(16)	0,0093(11)
C ₇ '	1,0094(11)	-0,5720(10)	0,1308(7)	C ₈ ^β	0,7234(12)	-0,3876(11)	0,1442(8)
O ₇	0,9652(10)	-0,6444(11)	0,1874(8)	C ₈ ^γ '	0,6958(15)	-0,4745(15)	0,0954(10)
O ₈	0,9445(8)	-0,4689(7)	0,1236(5)	C ₈ ^γ '	0,5868(13)	-0,3462(12)	0,2051(9)
C ₈ ^α	0,8088(11)	-0,4459(9)	0,1856(7)	C ₉ ^β	0,8929(13)	-0,3782(13)	0,4053(9)
C ₈ '	0,8346(11)	-0,3615(10)	0,2383(7)	C ₉ ^γ '	0,8481(19)	-0,4950(18)	0,4491(13)
O ₈	0,9021(10)	-0,2677(9)	0,2101(6)	C ₉ ^γ '	1,0351(20)	-0,3765(18)	0,3364(13)
N ₉	0,7736(9)	-0,3976(8)	0,3171(6)	C ₁₀ ^β	0,5805(12)	-0,1578(12)	0,6185(8)
C ₉ ^α	0,7873(10)	-0,3276(10)	0,3761(7)	C ₁₀ ^γ '	0,6664(15)	-0,2509(14)	0,6463(10)
C ₉ '	0,6482(11)	-0,3119(10)	0,4418(7)	C ₁₀ ^γ '	0,6562(14)	-0,0381(13)	0,5857(9)
O ₉	0,5430(9)	-0,3575(9)	0,4492(5)	C ₁₁ ^β	0,1067(12)	0,0025(11)	0,6054(8)
O ₁₀ '	0,6610(8)	-0,2430(7)	0,4937(5)	C ₁₁ ^γ '	0,0293(17)	0,1059(15)	0,5807(11)
C ₁₀ ^α	0,5369(10)	-0,2120(9)	0,5591(6)	C ₁₁ ^γ '	0,0383(13)	-0,1228(12)	0,6098(9)
C ₁₀ '	0,4603(10)	-0,1204(9)	0,5254(6)				
O ₁₀	0,5143(8)	-0,0690(8)	0,4572(5)				
N ₁₁	0,3322(9)	-0,0967(8)	0,5736(5)				
C ₁₁ ^α	0,2561(10)	-0,0022(11)	0,5474(6)				
C ₁₁ '	0,3262(10)	0,1200(11)	0,5380(7)				

АТОМ	x/a	y/b	z/c	АТОМ	x/a	y/b	z/c
C_{12}^{β}	0,3604 (11)	0,3970 (11)	0,4196 (8)	C_{3A1}	0,2992 (29)	0,9943 (27)	0,3029 (19)
$C_{12}^{\gamma_1}$	0,3184 (15)	0,3667 (14)	0,3538 (10)	O_{1A2}	0,7580 (50)	0,1578 (50)	0,7401 (33)
$C_{12}^{\gamma_2}$	0,2337 (14)	0,4328 (14)	0,4913 (10)	C_{1A2}	0,7584 (47)	0,2727 (44)	0,7772 (32)
O_{1A1}	0,1171 (19)	0,9011 (16)	0,4068 (12)	C_{2A2}	0,7744 (53)	0,3534 (53)	0,7097 (35)
C_{1A1}	0,2501 (25)	0,8945 (23)	0,3518 (16)	C_{3A2}	0,6507 (64)	0,2816 (55)	0,8526 (42)
C_{2A1}	0,3225 (18)	0,7937 (17)	0,3703 (12)				

Таблица 2

Валентные связи (А) в структуре [Val¹, D-Val³] мезо-Нуй-валиномицина
В скобках даны стандартные отклонения

Связь	L-Val (i=1)	L-Hyi (i=2)	D-Val (i=3)	D-Hyi (i=4)
$C_i^{\alpha} - N_i (O_i')$	1,452 (13)	1,469 (16)	1,494 (13)	1,471 (13)
$C_i^{\alpha} - C_i'$	1,509 (18)	1,505 (14)	1,510 (16)	1,527 (18)
$C_i^{\alpha} - C_i^{\beta}$	1,555 (19)	1,532 (19)	1,538 (19)	1,527 (14)
$C_i' - O_i$	1,157 (15)	1,229 (16)	1,197 (14)	1,235 (14)
$C_i' - O_{i+1}' (N_{i+1})$	1,370 (12)	1,366 (17)	1,351 (14)	1,330 (12)
$C_i^{\beta} - C_i^{\gamma_1}$	1,515 (15)	1,546 (18)	1,506 (20)	1,544 (16)
$C_i^{\beta} - C_i^{\gamma_2}$	1,512 (22)	1,528 (18)	1,482 (18)	1,511 (21)
Связь	D-Val (i=5,9)	L-Hyi (i=6,10)	L-Val (i=7,11)	D-Hyi (i=8,12)
$C_i^{\alpha} - N_i (O_i')$	1,442 (18)	1,464 (13)	1,457 (17)	1,479 (12)
	1,457 (18)	1,452 (11)	1,457 (15)	1,449 (13)
$C_i^{\alpha} - C_i'$	1,509 (17)	1,528 (19)	1,475 (14)	1,521 (19)
	1,516 (13)	1,513 (16)	1,526 (17)	1,528 (13)
$C_i^{\alpha} - C_i^{\beta}$	1,572 (16)	1,493 (16)	1,536 (21)	1,497 (20)
	1,500 (24)	1,532 (21)	1,530 (14)	1,498 (17)
$C_i' - O_i$	1,193 (27)	1,218 (14)	1,184 (16)	1,226 (14)
	1,201 (16)	1,236 (13)	1,191 (19)	1,199 (13)
$C_i' - O_{i+1}' (N_{i+1})$	1,305 (22)	1,343 (16)	1,330 (14)	1,355 (15)
	1,336 (16)	1,337 (12)	1,351 (15)	1,344 (18)
$C_i^{\beta} - C_i^{\gamma_1}$	1,483 (21)	1,551 (33)	1,514 (29)	1,496 (25)
	1,431 (23)	1,534 (23)	1,519 (23)	1,525 (25)
$C_i^{\beta} - C_i^{\gamma_2}$	1,520 (27)	1,463 (27)	1,518 (19)	1,533 (16)
	1,543 (21)	1,509 (19)	1,566 (20)	1,544 (17)

ную дезориентацию этих молекул из-за эффектов тепловых колебаний атомов; их температурные факторы в 2–5 раз выше, чем у атомов исследуемого депсипептида, причем факторы, отвечающие одной молекуле ацетона, в 2 раза выше, чем у другой. В обоих случаях не представлялось возможным сделать однозначный выбор положения (среди трех возможных), отвечающего атому O; длины предполагаемых C=O-связей оказались сильно завышенными и практически не отличались от длин двух связей C—C.

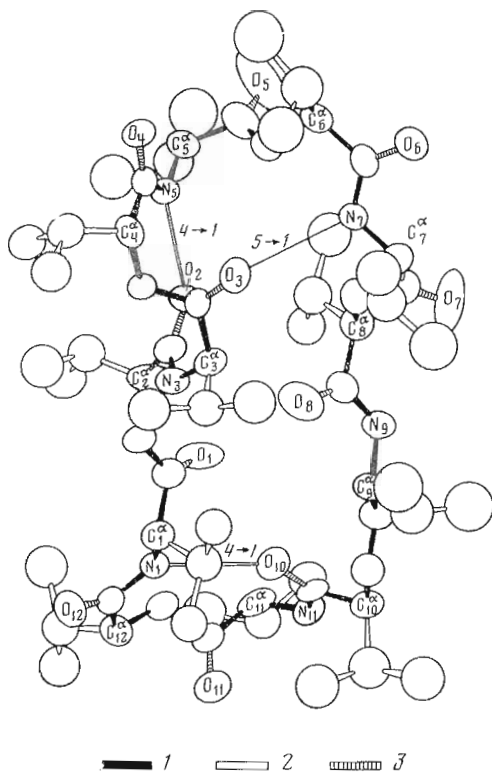


Рис. 2. Пространственная структура $[\text{Val}^1, D\text{-Val}^3]\text{мезо-Нуй-валиномицина}$. 1 — связи основной цепи, 2 — связи боковых цепей, 3 — двойные связи $\text{C}=\text{O}$

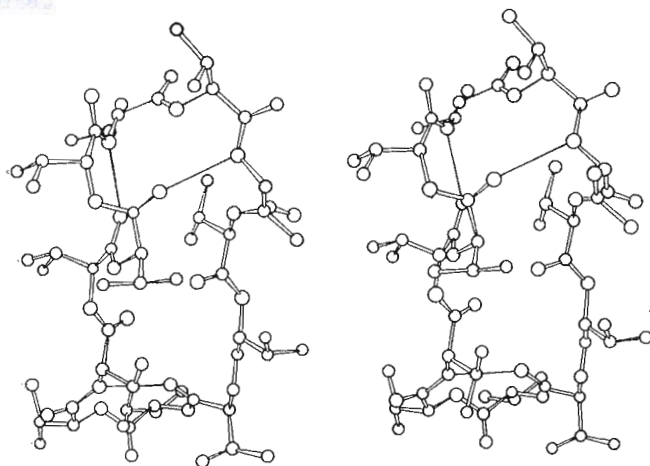


Рис. 3. Стереопара структуры $[\text{Val}^1, D\text{-Val}^3]\text{мезо-Нуй-валиномицина}$

Геометрические параметры меж- и внутримолекулярных водородных связей, а также расчетные значения конформационных углов $\varphi, \psi, \omega, \chi$ $[\text{Val}^1, D\text{-Val}^3]\text{мезо-Нуй-валиномицина}$ приведены в табл. 4 и 5. Конформация, а также стереоскопическое изображение молекулы показаны на рис. 2 и 3.

Молекула в кристалле образует пять водородных связей, из них две — с соседними молекулами. Из трех внутримолекулярных Н-связей две относятся к типу 4→1 с участием $\text{C}=\text{O}$ амидных групп и одна к типу 5→1 с участием $\text{C}=\text{O}$ сложноэфирных групп. В отличие от сильных связей 4→1 связь 5→1 заметно ослаблена, на что указывают увеличенные (по

Параметры водородных связей N—H...O=C в кристаллической структуре [Val¹, D-Val³] мезо-Нуй-валиномицина

Н-связь N—H...O=C	Длина, Å			Угол, град		Тип Н-связи
	N—H	H...O	N...O	N—H...O	H...O=C	
Межмолекулярные Н-связи						
N ₉ —H ₉ ...O ₁₂ =C ₁₂	1,08	1,886	2,935	162,7	152,7	—
N ₁₁ —H ₁₁ ...O ₄ =C ₄	1,08	1,860	2,922	166,8	145,2	—
Внутримолекулярные Н-связи						
N ₁ —H ₁ ...O ₁₀ =C ₁₀	1,08	1,973	2,916	143,9	145,2	4 → 1
N ₅ —H ₅ ...O ₂ =C ₂	1,08	1,822	2,880	165,3	134,2	4 → 1
N ₇ —H ₇ ...O ₃ =C ₃	1,08	2,368	3,223	134,9	124,8	5 → 1
N ₃ —H ₃ ...O ₈ =C ₈	1,08	3,837	3,262	48,8	—	Нет связи

Таблица 5

Конформационные углы (град) * пространственной структуры [Val¹, D-Val³] мезо-Нуй-валиномицина

Остаток	Углы					Остаток	Углы				
	φ	ψ	ω	χ ^{1,1}	χ ^{1,2}		φ	ψ	ω	χ ^{1,1}	χ ^{1,2}
L-Val ¹	-129	142	-178	171	-64	L-Val ⁷	-117	-38	180	180	-57
L-Hyi ²	-120	-13	164	-64	58	D-Hyi ⁸	99	-131	180	66	-173
D-Val ³	59	30	175	164	-68	D-Val ⁹	133	-177	177	-67	61
D-Hyi ⁴	82	3	-177	-56	70	L-Hyi ¹⁰	-72	169	175	-58	66
D-Val ⁵	80	-4	-168	57	-179	L-Val ¹¹	-65	127	-173	176	-62
L-Hyi ⁶	-128	-7	176	-67	59	D-Hyi ¹²	113	-11	-177	-56	67

* Отсчет углов проводился в соответствии с номенклатурой IUPAC — IUB, 1974 [20].

сравнению с оптимальными) расстояния N...O и H...O, а также несколько заниженное значение угла N—H...O, соответствующее менее благоприятной взаимной ориентации связей N—H и O=C [16—19]. Исходя из сравнительно небольшой величины расстояния N₃...O₈ (3,262 Å, табл. 4), можно было бы предположить наличие слабой водородной связи N₃—H₃...O₈=C₈. Однако резко отличающиеся от нормальных расчетные значения соответствующих параметров H...O и N—H...O однозначно указывают на отсутствие таковой.

Приведенные в табл. 5 величины углов вращения вокруг частично кратных связей C'—N(C'—O') (ω) свидетельствуют о том, что в структуре исследуемого соединения амидные и сложноэфирные группы в основном плоские. Некоторое искажение испытывает амидная группа между C^α-атомами Нуй² и D-Val³ (Δω₂ 16°) и сложноэфирная группа между D-Val⁵ и Нуй⁶ (Δω₅ 12°). Конформационные состояния L- и D-остатков в найденной структуре отвечают минимумам, располагающимся соответственно в левой и правой частях конформационных карт изолированных остатков [9, 10, 21]. Причем большинство φ,ψ-точек находится в областях невысоких энергий. Исключение составляют φ,ψ-углы D-Val⁵, попадающие на перешеек между двумя локальными минимумами. Как показывают расчеты [22], такая локализация объясняется включением этого остатка в 13-членный цикл, замкнутый водородной связью 5 → 1.

Все выявленные в [Val¹, D-Val³] мезо-Нуй-валиномицине отклонения геометрических параметров от оптимальных значений могли бы быть, по видимому, частично уменьшены включением в уточнение структуры параметров водородных атомов (см., например, [10]).

Интересно сопоставить пространственные кристаллические структуры мезо-Нуй-валиномицина, состоящего из трех одинаковых тетрадецинен-

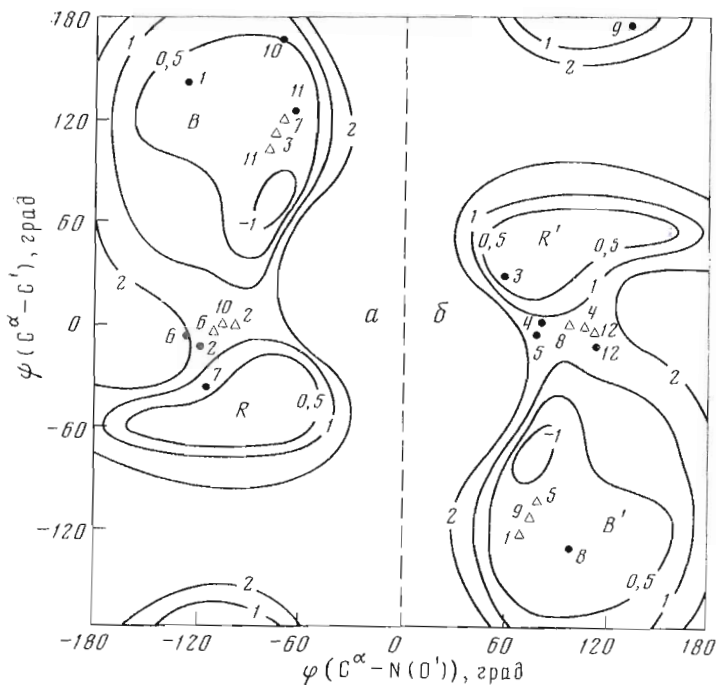


Рис. 4. Распределение углов φ , ψ [Val^L , $D\text{-Val}^D$] мезо-Нуй-валиномицина (отмечены идентификатором ●, числовой индекс — номер остатка) и мезо-Нуй-валиномицина (Δ ; [9]) на потенциальной поверхности остатка аланина в L - и D -конфигурациях (а и б соответственно)

тидных фрагментов $D\text{-Val-Hyi-Val-D-Hyi}$ ($\text{cyclo}(-D-L-L-D)_3$) и исследуемого аналога ($\text{cyclo}[-L-L-D-D-(D-L-L-D)]_2$) с измененной конфигурацией двух аминокислотных остатков в первом и третьем положениях. Для наглядности параметры φ , ψ амино- и оксикислотных остатков обоих соединений нанесены на конформационные карты с изображением энергетических контуров аланина в L - и D -конфигурациях (рис. 4). Такой условный выбор связан с тем, что потенциальная поверхность остатка аланина (обладающего максимальными конформационными возможностями среди остатков с боковыми цепями) охватывает все возможные конформационные состояния остатков валина и стереохимически подобной α -оксизовалериановой кислоты и в отличие от потенциальной поверхности последних не зависит от ориентации боковой цепи.

Циклическая структура мезо-Нуй-валиномицина характеризуется наличием центра симметрии и псевдооси симметрии 3-го порядка [9]. В кристалле она принимает браслетную форму, стабилизированную системой из шести внутримолекулярных водородных связей типа $4 \rightarrow 1$, образованных амидными группами. Внутренняя октаэдрическая полость из шести сложноэфирных карбонильных атомов кислорода приспособлена для эффективного связывания ионов калия (константы устойчивости соответствующих комплексов на 1–2 порядка выше, чем у природного антибиотика валиномицина [23]).

В отличие от мезо-Нуй-валиномицина, [Val^L , $D\text{-Val}^D$] мезо-Нуй-валиномицин кристаллизуется в асимметричной вытянутой форме, образованной двумя β -изгибами, соединенными двумя относительно прямолинейными участками цепи.

У обоих соединений конформационные состояния идентичных октадеципептидных фрагментов ($D\text{-Val-Hyi-Val-D-Hyi}$)₂ обнаруживают существенные различия; точки отдельных сравниваемых пар остатков заметно разнесены на конформационных картах в пределах одноименных минимумов и даже отвечают разным локальным минимумам.

Один из β -изгибов, относящийся в соответствии с классификацией Шераги и сотр. [24] к типу II, стабилизируется сильной водородной связью $N_1-H_1 \dots O_{10}=C_{10}$ типа $4 \rightarrow 1$, замыкающей 10-членный цикл, включающий остаток Val^{11} и $D-Hyi^{12}$. Второй β -изгиб типа I', включающий остаток $D-Val^3$ и $D-Hyi^4$, также стягивается сильной водородной связью $N_5-H_5 \dots O_2=C_2$ типа $4 \rightarrow 1$. Эта связь перекрещивается со слабой водородной связью $N_7-H_7 \dots O_3=C_3$ типа $5 \rightarrow 1$.

Изопропильные боковые цепи окси- и аминокислотных остатков характеризуются различным расположением по отношению к циклическому остову молекулы.

В свободной форме данного аналога отсутствует характерная для мезо- Hyi -валиномицина отрицательно заряженная полость, образованная свободными карбонильными атомами кислорода сложноэфирных групп. Семь не участвующих в образовании водородных связей карбонильных групп ориентированы случайным образом. По-видимому, невысокая энергетическая стабилизация специфической, обладающей катионсвязывающим центром «браслетной» формы у $[Val^1, D-Val^3]$ мезо- Hyi -валиномицина, является причиной его относительно слабой комплексообразующей способности [14]. На низкую устойчивость «браслетной» конформации исследуемого соединения в растворах указывают также данные ИК-спектроскопии [14].

Таким образом, структурный анализ валиномицина и его производных позволяет сформулировать некоторые выводы.

В циклических соединениях валиномицинового типа трижды повторяющаяся конфигурационная последовательность остатков $D-L-L-D$ обладает оптимальными конформационными возможностями для формирования из карбонильных атомов кислорода энергетически предпочтительных специфических центров комплексообразования. Изменения конфигурации отдельных остатков оказывают наибольшее действие на конформационное состояние молекулы, приводя, как правило, к сильной дестабилизации или к полному разрушению таких центров; в результате существенно ослабляются или полностью теряются комплексообразующие, ионно-транспортные и антимикробные свойства [12].

Изменение природы остатков в этом плане оказывает заметно меньшее влияние; оно чаще всего сопровождается определенным сдвигом конформационного равновесия в пределах энергетически оптимальных (включая функционально активные) форм.

Экспериментальная часть

Кристаллы $cyclo[-Val-Hyi-D-Val-D-Hyi-(D-Val-Hyi-Val-D-Hyi)_2]$ · $2C_3H_6O$ выращены в форме неправильных призм из раствора ацетона и воды (3 : 1) при комнатной температуре. В кристаллической решетке на каждую молекулу циклического додекадепептида приходится по две молекулы ацетона. Полученные кристаллы имели следующие кристаллографические характеристики: пространственная группа $P1$, V 1982,27 Å³, a 10,701 Å, b 11,016 Å, c 18,458 Å, α 83,786°, β 66,415°, γ 87,826°, $\rho_{теор}$ 1,00 г/см³, $\mu(CuK\alpha)$ 6,1 см⁻¹, F_{000} 648.

Пространственная группа кристалла $P1$ и параметры ячейки были определены по прецессионным рентгенограммам. Уточнение параметров ячейки и сбор экспериментальных данных проводились на четырехкружном дифрактометре Р1 при 18° С (излучение $CuK\alpha$, графитовый монохроматор, режим трубки 40 кВ и 30 мА, фокус трубки 0,4×1 мм). Интенсивности отражений измерялись в режиме $\theta-2\theta$ до величины 2θ 105° (4322 независимых рефлекса). Интервал 2θ сканирования профиля пика выбран равным 0,3°; общее число точек измерения на профиле 11. Интервал между точками измерения фона 0,8°. Суммарное время измерения фона слева и справа от пика равнялось половине времени измерения интегральной интенсивности пика. Величина минимальной скорости сканирования (0,4 град/мин) обеспечила высокую точность измерений; число зарегистрированных рефлексов с $I \geq 3\sigma(I)$, $I \geq 10\sigma(I)$ и $I \geq 25\sigma(I)$ составляло со-

ответственно 85, 75 и 40% общего числа. Через каждые 6 ч съемки перемерялись 6 контрольных рефлексов.

Была проведена коррекция отражений на факторы Лоренца и поляризации, а также введены поправки на поглощение [25] и радиационное порождение кристалла. Найденные по вычисленным нормализованным структурным факторам E статистически усредненные значения $|E|$ 0,850 и $|E^2-1|$ 0,829 лучше соответствовали нецентросимметричной пространственной группе (теоретические значения равны соответственно 0,886 и 0,736 [26]), чем симметричной (0,798 и 0,968).

Расшифровка структуры проводилась «прямыми» методами на основе комплекса программ QTAN [27]. Были выбраны 500 наибольших E с ограничением $E \geq 1,48$; число сформированных независимых Σ_2 -соотношений равнялось 3885 (A_{\min} 1,2), а число «отрицательных» квартетов для расчета оценки NQUEST [28] 511 (B_{\min} 0,37, Cross term 0,55). Для стартового набора было выбрано 10 рефлексов. Из них три рефлекса 1 2 0, 3 - 1 4 и 0 2 - 1 (E 3,17; 2,66 и 1,94 соответственно), образующие матрицу с детерминантом, равным 1, были использованы для фиксации начала координат.

Всего было рассмотрено 16384 решения. После 8 циклов тангенс-уточнения (с последовательным увеличением числа включенных в уточнение фаз до 458 и Σ_2 -соотношений до 3708) только у двух решений оценка NQUEST была отрицательной. Наилучшее решение, характеризующееся оценками NQUEST -0,06 (ожидаемое значение -0,42) Resid 0,26 и Cosav 0,70 (ожидаемое значение 0,64), отвечало верной структуре. Соответствующие оценки следующего вероятного решения равны -0,01; 0,29; 0,67. В E -синтезе, вычисленном по фазам наилучшего решения, были выявлены положения 66 неводородных атомов структуры. Стандартный R фактор на этой стадии был равен 0,39. В последующих синтезах Фурье удалось локализовать все 84 независимых неводородных атома исследуемого соединения плюс 8 атомов углерода и кислорода, относящихся к двум молекулам ацетона (компонент раствора, в котором выращивались кристаллы).

Положения атомов водорода были определены теоретическим путем на основе стереохимических правил.

Уточнение структуры по параметрам неводородных атомов проводилось методом наименьших квадратов по полиматричной схеме. При этом основная и боковые цепи уточнялись соответственно в предположении анизотропных и изотропных тепловых колебаний атомов С, N, O при учете вкладов от атомов H. Положения водородных атомов не уточнялись, так как это привело бы к резкому снижению числа экспериментальных амплитуд структурных факторов (до трех), приходящегося на переменный параметр.

Используемый в уточнении экспериментальный набор включал 3873 рефлекса; рефлексы с $F \leq 4\sigma(F)$ плюс 42 рефлекса, определенные как плохие из графика нормального распределения величин $\delta(R) = \|F_{\text{obs}}\| - \|F_{\text{calc}}\| / \sigma(F_{\text{obs}})$ [29], были исключены. Величины стандартных отклонений оценивались по следующей формуле [30]:

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

Структура молекулы после последнего цикла уточнения характеризовалась величинами стандартного фактора расходимости R 0,081 и взвешенного фактора R_w 0,109.

Авторы выражают благодарность Ю. А. Овчинникову и В. Т. Иванову за постоянный интерес к работе и обсуждение результатов, а также Л. А. Фоминой за предоставление циклического додекадезоксипептида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ivanov V. T., Laine I. A., Abdulaev N. D., Senyavina L. B., Popov E. M., Ovchinnikov Yu. A., Schemyakin M. M. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1969, v. 34, № 6, p. 803—811.
2. Bystrov V. F., Gavrilov Yu. D., Ivanov V. T., Ovchinnikov Yu. A. Eur. J. Biochem., 1977, v. 78, № 1, p. 63—82.
3. 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, p. 7242—7247.

4. Karle I. J. Amer. Chem. Soc., 1975, v. 97, p. 4379—4386.
5. Pinkerton M., Steinrauf L. K., Dawkins P. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1969, v. 35, № 4, p. 512—518.
6. Neupert-Laves K., Dobler M. Helv. chim. acta, 1975, v. 58, p. 432—442.
7. Плетнев В. З., Галицкий Н. М., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 10, с. 1427—1429.
8. Васильев А. Д., Шибанова Т. А., Андрианов В. Т., Симонов В. И., Санасарян А. А., Иванов В. Т., Овчинников Ю. А. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 9, с. 1157—1163.
9. Pleinev V. Z., Galitsky N. M., Ivanov V. T., Ovchinnikov Yu. A. Biopolymers, 1979, v. 18, p. 2145—2166.
10. Pleinev V. Z., Galitskii N. M., Smith G. D., Weeks C. M., Duax W. L. Biopolymers, 1980, v. 19, p. 1517—1534.
11. Смирнова В. И., Тищенко Г. Н., Вайнштейн Б. К. Докл. АН СССР, 1981, т. 257, № 4, с. 879—884.
12. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М. Мембрано-активные комплексы. М.: Наука, 1974.
13. Санасарян А. А., Фомина Л. А., Швецов Ю. Б., Виноградова Е. И. Химия природн. соедин., 1971, № 1, с. 81—85.
14. Иванов В. Т., Санасарян А. А., Фомина Л. А., Сенявина Л. Б., Виноградова Е. И., Овчинников Ю. А., Червин И. И., Яковлев Г. И. Биоорган. химия, 1975, т. 1, № 2, с. 214—225.
15. Плетнев В. З., Галицкий Н. М., Туркин Н. Г., Тарнопольский Б. Л., Евстратов А. В. Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 7, с. 869—878.
16. Hamilton W. C., Ibers J. A. Hydrogen Bonding in Solids. N. Y.: W. A. Benjamin, 1968.
17. McGuire R. F., Motany F. A., Scheraga H. A. J. Phys. Chem., 1972, v. 76, № 3, p. 375—393.
18. Chidambaram R., Balasubramanian R., Ramachandran G. N. Biochim. et biophys. acta, 1970, v. 221, p. 182—195.
19. Ramakrishnan C., Prasad N. Int. J. Prot. Res., 1971, v. 11, № 4, p. 209—231.
20. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. Abbreviations and Symbols for Description of Conformation of Polypeptide Chains.—Pure Appl. Chem., 1974, v. 40, p. 293—308.
21. Попов Е. М., Липкинд Г. М., Плетнев В. З., Архипова С. Ф. Химия природн. соедин., 1971, № 2, с. 184—191.
22. Попов Е. М., Липкинд Г. М. Молекулярн. биология, 1971, т. 5, вып. 4, с. 624—636.
23. 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, № 10, с. 2310—2311.
24. Lewis P. N., Motany F. A., Scheraga H. A. Biochim. et biophys. acta, 1973, v. 303, p. 211—229.
25. North A. C. T., Phillips D. C., Mathews F. S. Acta crystallogr., 1968, v. A24, part 3, p. 351—359.
26. Crystallographic Computing Techniques / Ed. Ahmed F. R. Copenhagen: Munksgaard, 1976.
27. Langs D. A., De Titta G. T. Acta crystallogr., 1975, v. A31, part 3S, p. 16.
28. De Titta G. T., Edmonds J. W., Langs D. A., Hauptman H. Acta crystallogr., 1975, v. A31, part 4, p. 472—479.
29. Abrahams S. C., Keve E. T. Acta crystallogr., 1971, v. A27, part 2, p. 157—165.
30. Stout G. H., Jensen L. H. X-ray Structure Determination. London: Macmillan, 1969, p. 457.

Поступила в редакцию
17.VIII.1981

CRYSTAL AND MOLECULAR STRUCTURE OF CYCLIC DODECADEPSIPEPTIDE

cyclo [-Val-Hyi-D-Val-D-Hyi-(D-Val-Hyi-Val-D-Hyi)₂]-2C₃H₆O

PLETNEV V. Z., POPOVICH V. A., YURKOVA E. V.,
VAN ROEY P., SMITH G. D., DUAX W. L.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow; Medical Foundation of Buffalo, Buffalo*

The crystal structure of synthetic analog of *meso*-valinomycin — *cyclo*[-Val-Hyi-D-Val-D-Hyi-(D-Val-Hyi-Val-D-Hyi)₂], crystallized with two acetone molecules, has been solved by X-ray direct methods. The triclinic crystals belong to the *P*1 space group, the number of the molecules in the unit cell *Z*1, cell dimensions are *a* 10,701, *b* 11,016, *c* 18,458 Å, α 83,786°, β 66,415°, γ 87,826°. The standard (*R*) and weighted (*R_w*) factors after the structure refinement on atoms C, N, O taking into account the contribution from atoms H are 0.081 and 0.109, respectively. The molecule adopts an elongated conformation with two β -bends stabilized by two strong 4→1 and one weak 5→1 hydrogen bonds. The carbonyls and the side chains are oriented arbitrarily towards the cyclic frame of the molecule. In contrary to *meso*-Hyi-valinomycin the free form of the analog studied is characterized by the absence of specific binding site for the metal ions.