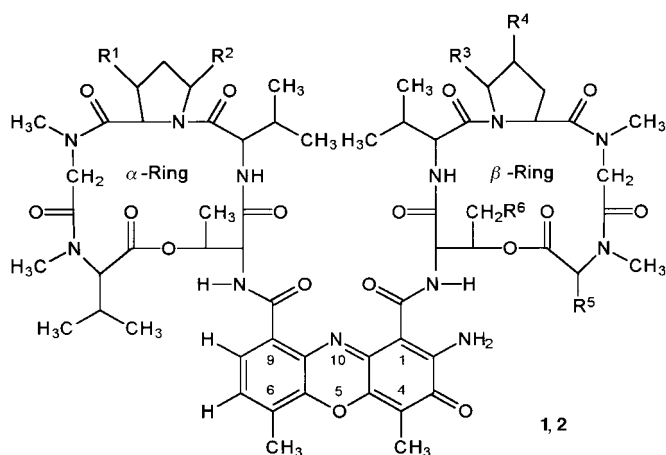


## Kristallstrukturen von Actinomycin D und Actinomycin Z<sub>3</sub>\*\*

Martina Schäfer, George M. Sheldrick,\* Isabel Bahner und Helmut Lackner\*

In memoriam Hans Brockmann

Actinomycine sind antibiotisch und cytostatisch hochwirksame, aus *Streptomyces*-Kulturen isolierte Chromopeptide, von denen es über 30 native und zahlreiche synthetische Varianten gibt.<sup>[1]</sup> Alle enthalten den gleichen Chromophor, ein 2-Aminophenoxazin-3-on-System, das säureamidartig mit zwei identischen oder verschiedenartigen Pentapeptidlacton-(Depsipeptid)-Ringern verknüpft ist (*iso*- bzw. *aniso*-Actinomycine). Am besten untersucht wurde Actinomycin D (= C<sub>1</sub>) **1** (Schema 1), das trotz seiner hohen Toxizität unter anderem zur Therapie von seltenen Krebsarten (z.B. Wilms-Tumor) eingesetzt wird. Besonders unter molekularbiologischen Aspekten interessiert der Wirkmechanismus der Actinomycine.



Schema 1. Actinomycin D (= C<sub>1</sub>) **1**: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = H, R<sup>4</sup> = H, R<sup>5</sup> = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sup>6</sup> = H; Actinomycin Z<sub>3</sub> **2**: R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>3</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> = O, R<sup>5</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>6</sup> = Cl.

Dieser beruht, wie schon 1968<sup>[2]</sup> diskutiert und später NMR-spektroskopisch<sup>[3]</sup> sowie durch Röntgenstrukturdaten von Actinomycin/Deoxyguanosin<sup>[4]</sup> und DNA-Oktamer-Komplexen<sup>[5, 6]</sup> verifiziert, auf einem Einschub (Intercalation) der Chromophoreinheit zwischen zwei Guanin/Cytosin(GC)-Basenpaare der doppelsträngig-helikalen DNA. Die beiden Depsipeptidringe liegen dann in der kleinen Furche der DNA und bilden je zwei Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den NH- und CO-Gruppen der Threonine und den benach-

barten Stickstoffatomen der Guaninbasen; hinzu kommen zwei H-Bindungen seitens der 2-Aminogruppe zu einem Phosphatsauerstoffatom der DNA. Die hydrophoben Aminosäuren beider Depsipeptidringe (Pro, Sar, MeVal) legen sich beidseitig zur Einschubstelle des Chromophors auf die GC-Basenpaare, wobei als deren Nachbarn wiederum hydrophobe Adenin/Thymin-Paare stabilisierend wirken.<sup>[7]</sup> Diese Aminosäure/DNA-Wechselwirkungen schützen die essentiellen H-Bindungen gegen Konkurrenzreaktionen mit umgebenden Wassermolekülen. Durch das intercalierte Actinomycin wird die räumliche Struktur der DNA leicht verzerrt, was zu einer Behinderung der DNA-abhängigen RNA-Synthese und der DNA-Replikation führt; ein intercaliertes Molekül auf 1000 Basenpaare führt bereits zu einer deutlichen Wirkung.<sup>[2]</sup> Die Aktivität des Antibiotikums reagiert äußerst sensibel auf chemische Strukturveränderungen; so erlischt sie z.B. nach Öffnung eines Depsipeptidringes oder beim Ersatz der Methyl- durch eine *tert*-Butyl- oder CF<sub>3</sub>-Gruppe im Chromophor.<sup>[8]</sup>

Seit etwa 1960 liefen Bemühungen, die Kristallstruktur eines unkomplexierten Actinomycins zu entschlüsseln. Bachmann und Müller<sup>[9]</sup> konnten von Actinomycin C<sub>3</sub><sup>[10]</sup> eine rhomboedrische sowie zwei monokline Kristallformen erhalten, die aber vermutlich über eine pseudo-zweizählige Achse verzwilligt waren. Palmer et al.<sup>[11]</sup> fanden eine weitere, vermeintlich monokline Kristallform mit einer ebensolchen Verzwilligung; ein Strukturmodell konnte nicht abgeleitet werden. Die erste echte Kristallstrukturaufklärung an Actinomycin D gelang 1988.<sup>[12]</sup> Ginell et al. fanden die gleiche Kristallform wie vorher Palmer et al., konnten die Struktur aber in der Raumgruppe P1 lösen. Allerdings war das Modell wegen der sehr schwachen Daten (maximale Auflösung 1.1 Å) sowie der Verzwilligung nur als starre Gruppe zu einem R-Wert von 14 % zu verfeinern.

Wir konnten nun erstmals unverzwilligte, bis zu atomarer Auflösung streuende Einkristalle zweier Actinomycine, dem Actinomycin D **1** und dem erst vor kurzem von Shiguematsu et al.<sup>[13]</sup> in der Konstitution aufgeklärten Actinomycin Z<sub>3</sub> **2**, erhalten. Von besonderem Interesse sind hierbei die Konformationen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Depsipeptidringe im unkomplexierten Zustand, ihre intramolekularen Wechselwirkungen sowie die Packung der Actinomycin-Moleküle im Kristallgitter einschließlich ihrer hydrophoben und hydrophilen Wechselwirkungen zueinander und zu Lösungsmittelmolekülen.

Actinomycin D **1** ließ sich aus Essigsäureethylester/Methanol in Form orange-roter Einkristalle in der triklinen Raumgruppe P1 kristallisieren.<sup>[14]</sup> In der Elementarzelle von **1**, nachfolgend mit **1\*** bezeichnet, liegen drei unabhängige Moleküle (A, B und C) neben einem Methanol- und sieben Essigsäureethylester-Molekülen vor. In Abbildung 1 ist exemplarisch das Molekül C in drei Ansichten gezeigt. Die Geometrie von A, B und C ist nahezu identisch, wobei A und B mit einer mittleren quadratischen Abweichung von nur 0.29 Å besser aufeinander passen als A und C (0.71 Å) sowie B und C (0.78 Å). Jedes Molekül ist annähernd C<sub>2</sub>-symmetrisch, die pseudo-zweizählige Achse verläuft durch die Verbindungslinie zwischen O5 und N10. Lediglich die asymmetrische Substitution an C2 und C3 des Chromophors verhindert das Vorliegen einer echten zweizähligen Achse.

[\*] Prof. G. M. Sheldrick, Dr. M. Schäfer  
Institut für Anorganische Chemie der Universität  
Tammannstraße 4, D-37077 Göttingen  
Fax: (+49) 551-392582  
E-mail: gsheldr@shelx.uni-ac.gwdg.de  
Prof. Dr. H. Lackner, Dipl.-Chem. I. Bahner  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Tammannstraße 2, D-37077 Göttingen  
Fax: (+49) 551-399660

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

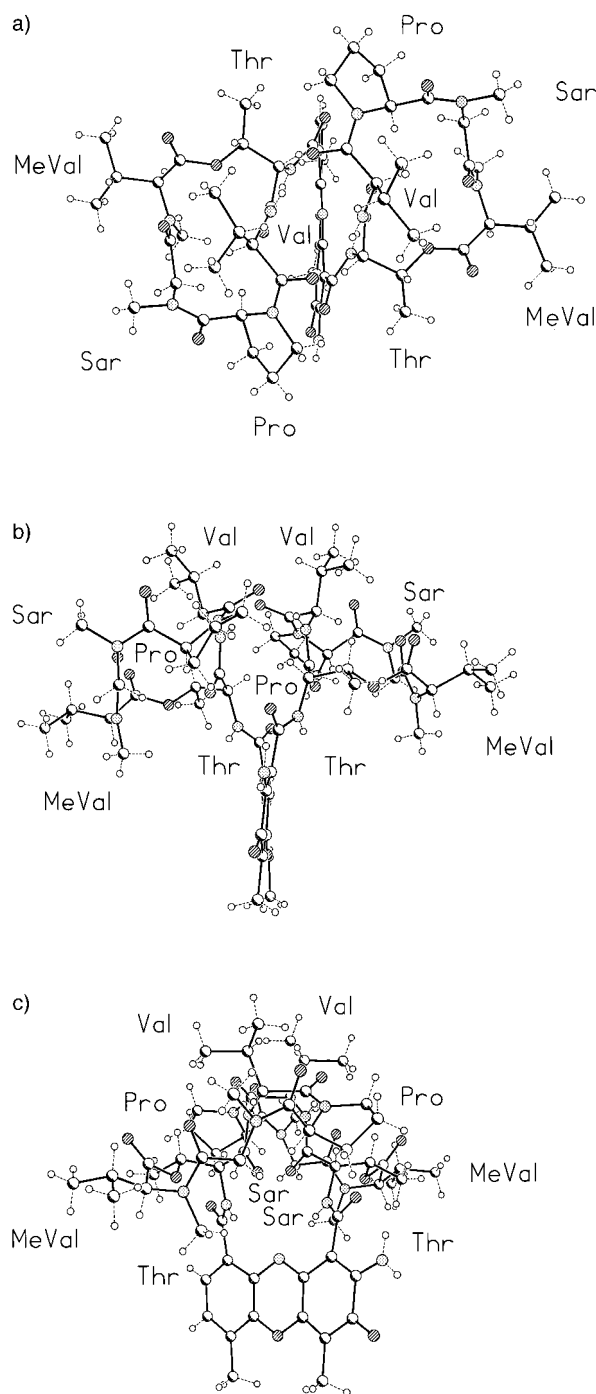


Abb. 1. Dreidimensionale Struktur von **1** (Molekül C in der Elementarzelle **1\***). a) Aufsicht: Der  $\beta$ -Depsipeptidring befindet sich rechts im Bild, der  $\alpha$ -Ring links; die 2-Aminogruppe des unterhalb der Peptide liegenden Chromophors steht nach unten. b) Seitenansicht: Der  $\beta$ -Ring liegt wieder rechts; die 2-Aminogruppe ragt nach vorn. Unten am flachen, sich später zwischen die GC-Basenpaare der DNA einschiebenden Chromophor erkennt man die für die Komplexstabilität wichtigen Methylgruppen. c) Vorderansicht: Der Chromophor (unten) wird durch die voluminösen, konformativ steifen Peptidringe leicht in sich verdreht (siehe auch b). – Thr = L-Threonin, Val = D-Valin, Pro = L-Prolin, Sar = Sarkosin, MeVal = N-Methyl-L-valin. Die gepunkteten Atome sind die N-, die schraffierten die O-Atome.

In jedem Molekül werden zwei antiparallele H-Brücken zwischen dem Amidstickstoffatom des  $\alpha$ -seitigen und dem Carbonylsauerstoffatom des  $\beta$ -seitigen D-Valins sowie umge-

kehrt gebildet (Tabelle 1). Diese H-Brücken stabilisieren die hier vorliegende „A“-Konformation<sup>[15]</sup> der Depsipeptidringe und sind somit im Einklang mit allen bislang beobachteten Konformationen im Festkörper<sup>[4–6, 16]</sup> und in Lösung.<sup>[17]</sup> Die Superposition der sechs Depsipeptidringe von A–C ergibt eine mittlere quadratische Abweichung von nur 0.29 Å.

Tabelle 1. Abstände [Å] in einigen wichtigen intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen in **1\*** und **2\***.

	A	B	C	D	E
N(Val <sub><math>\beta</math></sub> )-O(Val <sub><math>\alpha</math></sub> )	2.91	2.93	2.93	3.00	2.90
N(Val <sub><math>\alpha</math></sub> )-O(Val <sub><math>\beta</math></sub> )	2.87	2.87	2.86	2.88	2.91
N2-O(C1-CO)	2.74	2.77	2.62	2.68	2.68
N(Thr <sub><math>\beta</math></sub> )-N10	–	–	2.76	2.81	2.81
N(Thr <sub><math>\alpha</math></sub> )-N10	–	–	2.83	2.96	2.94

Die Moleküle A und B bilden über eine pseudo-zweizählige Achse ein Dimer. Die Chromophore sind dabei parallel gestaffelt zueinander angeordnet; der kürzeste Abstand beträgt 3.43 Å (Abb. 2). Die Amidstickstoff- und Carbonylsauerstoffatome des Threonins im  $\alpha$ -Depsipeptidring von A und B bilden je zwei antiparallele H-Bindungen zu O3 bzw. N2 des Chromophors vom jeweils anderen Molekül (N(Thr <sub>$\alpha$</sub> )-O3 3.07 bzw. 3.13 Å; N2-O(Thr <sub>$\alpha$</sub> ) 2.94 bzw. 2.96 Å). Da diese

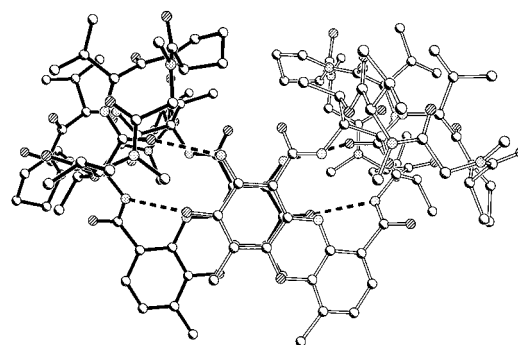


Abb. 2. Das Dimer aus den Molekülen A und B in **1\***. A ist mit schwarzen, B mit nicht ausgefüllt gezeichneten Bindungen gezeigt. Die zweizählige Achse verläuft senkrecht zwischen den gestaffelt angeordneten und sich mit den chinoiden Ringen überlappenden Chromophorsystemen. Die gestrichelt gezeichneten Bindungen entsprechen den H-Brücken.

Gruppen im **1**/DNA-Komplex jedoch Bindungspartner für die GC-Basenpaare sind, ist die obige Dimerisierung sicherlich nur in freiem Actinomycin D stabil.<sup>[18]</sup> Das Molekül C tendiert nicht zur Dimerisierung, sondern es tritt lediglich eine schwache Wechselwirkung zwischen der 2-Aminogruppe des Chromophors und dem Carbonylsauerstoffatom des  $\beta$ -seitigen Prolins vom Molekül B einer benachbarten asymmetrischen Einheit auf (N2-O(Pro <sub>$\beta$</sub> ) 3.03 Å). Diese CO-Gruppe bildet auch eine H-Brücke zum Methanolmolekül (O(Me)-O(Pro <sub>$\beta$</sub> ) 2.83 Å). Die in der Zelle verteilten Essigsäureethylester-einheiten gehen keine Wechselwirkungen ein.

Actinomycin Z<sub>3</sub> **2** wurde kürzlich als wichtige Komponente des Actinomycin-Z-Gemisches rein isoliert und in der Aminosäuresequenz der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Depsipeptidketten aufgeklärt.<sup>[13]</sup> Es ist, neben dem dabei gleichfalls strukturell charakterisierten Actinomycin Z<sub>5</sub>, das erste native chlorhal-

tige Actinomycin und enthält das sehr seltene 4-Chlor-L-threonin (ClThr) statt L-Threonin im  $\beta$ -Depsipeptidring. Weiterhin findet man *N*-Methyl-L-alanin (MeAla) und *cis*-5-Methyl-4-oxo-L-prolin (MOPro) statt *N*-Methyl-L-valin bzw. L-Prolin im  $\beta$ -Ring sowie *trans*-3-Hydroxy-*cis*-5-methyl-L-prolin (HMPro) statt L-Prolin im  $\alpha$ -Ring.

Aus Benzol kristallisierte **2** in roten, röntgentauglichen Einkristallen der Raumgruppe  $P2_12_12_1$ . Anders als bei **1** befinden sich nur zwei unabhängige Moleküle (D und E) in der asymmetrischen Einheit,<sup>[14]</sup> die nachfolgend mit **2\*** bezeichnet wird. Weiterhin konnten ein Wasser- und zwanzig Benzolmoleküle in der Differenz-Fourier-Synthese lokalisiert werden; damit beträgt der Lösungsmittelanteil in dieser Struktur 37,4 % (**1\***: 14,7 %). Abbildung 3 zeigt die dreidimensionale Struktur des Moleküls D in **2\***.

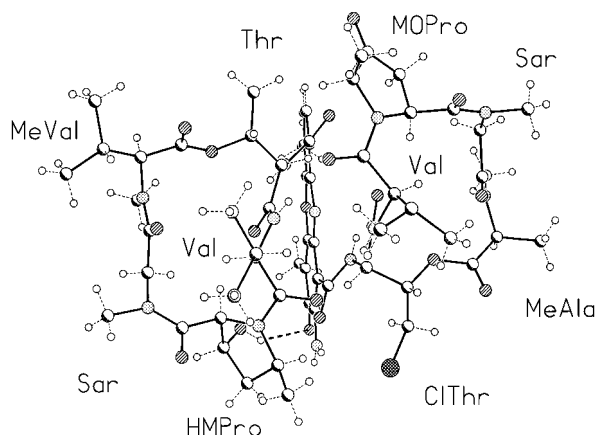


Abb. 3. Dreidimensionale Struktur von **2** in der Elementarzelle **2\***. Die hier gezeigte Darstellung mit dem rechts liegenden  $\beta$ -Depsipeptidring entspricht der in Abb. 2a. Die dickgestrichelte Bindung (unten) markiert die zusätzliche H-Brücke vom 3-O(HMPro)-Atom zur 1-CO-Gruppe am Chromophor. – MeAla = *N*-Methyl-L-alanin, MOPro = *cis*-5-Methyl-4-oxo-L-prolin, HMPro = *trans*-3-Hydroxy-*cis*-5-methyl-L-prolin, ClThr = 4-Chlor-L-threonin.

Zwar ist **2** ebenfalls pseudo- $C_2$ -symmetrisch mit der Verbindungslinie O5...N10; diese wird jedoch durch die nun in den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Depsipeptidringen unterschiedlichen Aminosäuren viel stärker als bei **1** gestört. Beide D-Valinreste in **2** bilden analog zu **1** die wechselseitigen H-Brücken, die auch hier die „A“-Konformation der Depsipeptidringe stabilisieren (Tabelle 1). Zusätzlich findet man eine intramolekulare H-Brücke zwischen der Hydroxygruppe des Hydroxymethylprolins ( $\alpha$ -Ring) und dem 1-Carbonylsauerstoffatom des Chromophors (Abb. 3; O(HMPro) <sub>$\alpha$</sub> ...O(1-CO) jeweils 2,82 Å in D und E). Die vier Depsipeptidringe in **2\*** sind mit einer mittleren quadratischen Abweichung von 0,33 Å wiederum fast identisch und ihre Konformationen stimmen auch nahezu mit denen der sechs Depsipeptidringe aus **1\*** überein (0,32 Å; Abb. 4).

Die unabhängigen Moleküle D und E in **2\*** sind mit einer größten mittleren quadratischen Abweichung von nur 0,24 Å gleichfalls nahezu identisch. Ihre Superposition auf das Molekül A aus **1\*** zeigt, daß die Gesamtkonformationen der beiden Actinomycine **Z**<sub>3</sub> und D einander ähnlich sind (Abweichung 0,56 bzw. 0,50 Å). Eine Dimerisierung wie in **1\*** war

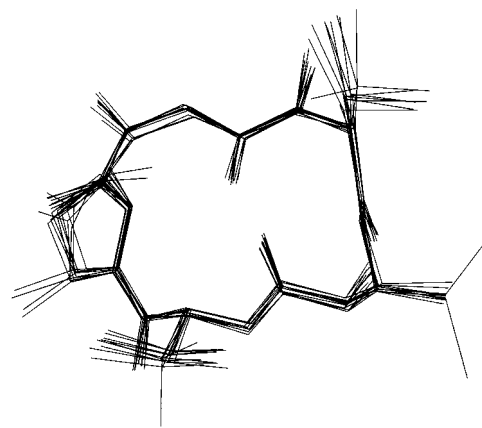


Abb. 4. Kleinste-Fehlerquadrate-Anpassung aller zehn Depsipeptidringe von **1\*** und **2\*** übereinander.

in **2\*** jedoch nicht nachweisbar. Die Moleküle D und E bilden entlang der kristallographischen  $a$ -Achse eine Kettenstruktur, die durch intermolekulare H-Brücken stabilisiert wird. Das in der Differenz-Fourier-Synthese lokalisierte Wassermolekül bildet zum Carbonylsauerstoffatom des Chlorthreonins und zum 9-Carbonylsauerstoffatom des Chromophors in D zwei H-Bindungen (O(H<sub>2</sub>O)-O(ClThr) 2,86, O(H<sub>2</sub>O)-O(9-C) 2,99 Å).

Kamitori und Takusagawa<sup>[6]</sup> konnten an dem von ihnen untersuchten Actinomycin/DNA-Komplex zeigen, daß sich die Depsipeptidringe je nach Breite der kleinen Furche in diese durch eine Drehung um die Bindungen C1-CO und C9-CO am Chromophor einpassen. Interessant ist somit ein Vergleich der entsprechenden Torsionswinkel C2-C1-CO-N(Thr) <sub>$\beta$</sub>  und C8-C9-CO-N(Thr) <sub>$\alpha$</sub>  (Tabelle 2). Man erkennt hier zwei Trends: Der Torsionswinkel am  $\beta$ -Ring ist größer als der am  $\alpha$ -Ring; vom freien Actinomycin (Moleküle C, D, E) über das Dimer (A, B) zum komplexierten Actinomycin (F, G) werden die Winkel kleiner.

Tabelle 2. Übersicht über die Torsionswinkel C2-C1-CO-N(Thr) <sub>$\beta$</sub>  und C8-C9-CO-N(Thr) <sub>$\alpha$</sub>  [°] in **1\*** bzw. **2\*** (Moleküle A–E) sowie im Actinomycin-Desoxyguanosinkomplex (F)<sup>[4]</sup> und im Actinomycin-DNA-Komplex (G).<sup>[5]</sup>

	A	B	C	D	E	F	G
$\alpha$ -Ring	131.8	115.1	141.2	128.4	130.7	101	89.7
$\beta$ -Ring	141.8	140.2	151.7	144.9	150.2	112	91.3

Im freien Actinomycin werden die Threoninstickstoffatome in Richtung auf die Chromophorebene aufeinander zu verschoben, so daß sie schwache intramolekulare Wechselwirkungen zu N10 des Chromophors eingehen (Tabelle 1). Im Dimer sind die N(Thr)-Atome weiter aus der Chromophorebene herausgedreht (131,8 bzw. 115,1°), die intramolekulare Absättigung entfällt,<sup>[19]</sup> und das  $\alpha$ -seitige Amidstickstoffatom kann bereits intermolekulare Wechselwirkungen eingehen. Im Actinomycin/DNA-Komplex (Torsionswinkel ca. 90°) ragen die Amidstickstoffatome ganz aus der Chromophorebene heraus und können nun die essentiellen H-Bindungen zum Guaninrest der DNA bilden. Die Drehbarkeit der konformativ in sich wenig flexiblen Depsipeptidringe um

die C1-CO- und die C9-CO-Achse ermöglicht es – zusammen mit der Drehbarkeit um die N-C-Bindungen der Threoninreste<sup>[20]</sup> – dem Actinomycin-Molekül somit, die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Depsipeptidgruppen derart zu orientieren, daß sie optimal in die kleine DNA-Furche eingepaßt werden können. Sind die Depsipeptidringe wie in *aniso*-Actinomycin Z<sub>3</sub> **2** strukturell stark verschieden, so dürfte die dadurch beträchtlich verstärkte Unsymmetrie des Gesamtmoleküls (Abb. 3) diesen Einpassungs- und Intercalationsprozeß erschweren. Schwächen dann noch hydrophile Aminosäurevarianten die wichtigen hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Depsipeptidringen und den Adenin/Thymin-Basenpaaren der DNA, dann wird der für Actinomycine des Z-Typs beobachtete Rückgang der biologischen Aktivität plausibel.

Für die erst jetzt erfolgreiche, präzise Kristallstrukturaufklärung von Actinomycinen spielt die Kombination mehrerer Faktoren eine entscheidende Rolle: Zunächst ist die Züchtung unverzwillingter Kristalle, die hier erstmals bei einem Actinomycin gelang, absolute Voraussetzung. Die Aufnahme hochauflösender Datensätze erfolgt dann durch die Anwendung tiefer Temperaturen, intensiver Röntgenstrahlen sowie die Nutzung eines Flächenzählers und führt zu sehr viel detaillierteren Einblicken in die dreidimensionalen Strukturen der Moleküle. Schließlich ermöglicht die Entwicklung neuer Ab-initio-Strukturlösungsmethoden, wie sie im Programm SHELXD<sup>[21]</sup> implementiert sind, überhaupt erst die Aufklärung von Gleichatomstrukturen mit mehr als ca. 200 unabhängigen Nichtwasserstoffatomen. Die vom Programm benötigte Rechenzeit für beide Strukturen betrug auf einem Pentium-Pro-Prozessor mehrere Stunden. Eine Strukturlösung von **1\*** mit 314 Nichtwasserstoffatomen in der asymmetrischen Einheit mit traditionellen Direkten Methoden wäre nicht möglich gewesen. Mit Strukturaufklärungen weiterer Actinomycine sowie anderer interessanter „großer Kleinmoleküle“ ist somit in der nächsten Zeit zu rechnen.

Eingegangen am 23. März 1998 [Z11626]

**Stichwörter:** Actinomycine • Antibiotica • Dimerisierungen • Strukturaufklärung

- [1] a) S. A. Waksman, H. B. Woodruff, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1940**, 45, 609–614; b) H. Brockmann, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* **1960**, 18, 1–54; *Angew. Chem.* **1960**, 72, 939–947; c) A. B. Mauger in *Topics in Antibiotic Chemistry*, Vol. 5 (Hrsg.: P. G. Sammes), Ellis Horwood, Chichester, **1980**, S. 224–306.
- [2] W. Müller, D. M. Crothers, *J. Mol. Biol.* **1968**, 35, 251–290.
- [3] a) D. J. Patel, *Biochemistry* **1974**, 13, 2396–2402; b) C. Lian, H. Robinson, A. H.-J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4154–4165; c) R. M. Wadkins, E. A. Jares-Erijman, R. Klement, A. Rüdiger, T. M. Jovin, *J. Mol. Biol.* **1996**, 262, 53–68.
- [4] S. C. Jain, H. M. Sobell, *J. Mol. Biol.* **1972**, 68, 1–20.
- [5] a) S. Kamitori, F. Takusagawa, *J. Mol. Biol.* **1992**, 225, 445–456; M. Shinomiya, W. Chu, R. G. Carlson, R. F. Weaver, F. Takusagawa, *Biochemistry* **1995**, 34, 8481–8491.
- [6] S. Kamitori, F. Takusagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4154–4165.
- [7] In Lit. [6] wurden drei Konformationen von DNA/Actinomycin-D-Komplexen beschrieben; die Depsipeptidringe passen sich der jeweiligen „Größe“ der kleinen Furche der DNA an.
- [8] a) H. Lackner, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 2476–2500; b) A. Giencke, H. Lackner, *Liebigs Ann. Chem.* **1990**, 569–579.
- [9] a) H. G. Bachmann, W. Müller, *Nature* **1964**, 201, 261–264; b) M. F. Perutz, *Nature* **1964**, 201, 814.
- [10] In Actinomycin C<sub>3</sub> sind die beiden D-Valin-Einheiten von Actinomycin D durch D-*allo*-Isoleucin ersetzt.
- [11] H. T. Palmer, R. A. Palmer, R. E. Dickerson, *Nature* **1964**, 202, 1052–1057.
- [12] S. Ginell, L. Lessinger, H. M. Berman, *Biopolymers* **1988**, 27, 843–864.
- [13] N. Shigematsu, L. K. Pannell, A. B. Mauger, I. Bahner, H. Lackner, *J. Nat. Prod.*, eingereicht.
- [14] a) Kristallographische Daten von **1\***:  $3\text{C}_{62}\text{H}_{86}\text{N}_{12}\text{O}_{16} + 7\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{OH}$ ,  $M_r = 4410$ , triklin, Raumgruppe  $P1$ ,  $a = 15.737(5)$ ,  $b = 15.887(5)$ ,  $c = 25.156(10)$  Å,  $\alpha = 85.93(1)$ ,  $\beta = 86.19(1)$ ,  $\gamma = 69.86(1)$ ,  $V = 5883.6(4)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 1$ ,  $\rho_{\text{ber.}} = 1.246 \text{ mg cm}^{-3}$ ,  $F(000) = 2364$ ,  $\lambda = 1.54178$  Å,  $T = 133$  K,  $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.76 \text{ mm}^{-1}$ , min./max. Transmission 0.7251/0.9276, Kristallabmessungen  $0.45 \times 0.45 \times 0.1 \text{ mm}^3$ ,  $2.72^\circ \leq 2\theta \leq 108.16^\circ$ , 65014 Daten, davon 14126 unabhängig ( $R_{\text{int}} = 0.0444$ , Friedel-Partner gemittelt), Verfeinerung: 2875 Parameter, 3689 Restraints,  $R1 = \Sigma |F_o - F_c| / \Sigma F_o = 0.0545$  ( $I > 2\sigma(I)$ ) und  $wR2 = [\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \Sigma wF_o^4]^{1/2} = 0.1477$  (sämtliche Daten); min./max. Restelektrodenichte  $-0.47/0.71 \text{ e Å}^{-3}$ .<sup>[14c]</sup> b) Kristallographische Daten von **2\***:  $2\text{C}_{62}\text{H}_{83}\text{N}_{12}\text{O}_{18}\text{Cl} + 20\text{C}_6\text{H}_6 + \text{H}_2\text{O}$ ,  $M_r = 4219.8$ , orthorhombisch, Raumgruppe  $P2_12_12_1$ ,  $a = 14.803(3)$ ,  $b = 24.780(5)$ ,  $c = 65.069(10)$  Å,  $V = 23865(8)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 4$ ,  $\rho_{\text{ber.}} = 1.174 \text{ mg cm}^{-3}$ ,  $F(000) = 9000$ ,  $\lambda = 1.54178$  Å,  $T = 173$  K,  $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.838 \text{ mm}^{-1}$ , min./max. Transmission 0.7304/0.7871, Kristallabmessungen  $0.4 \times 0.3 \times 0.3 \text{ mm}^3$ ,  $2.72^\circ \leq 2\theta \leq 108.16^\circ$ , 112696 Daten, davon 15653 unabhängig ( $R_{\text{int}} = 0.0602$ , Friedel-Partner gemittelt), Verfeinerung: 3024 Parameter, 5470 Restraints,  $R1 = \Sigma |F_o - F_c| / \Sigma F_o = 0.0666$  ( $I > 2\sigma(I)$ ) und  $wR2 = [\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \Sigma wF_o^4]^{1/2} = 0.1820$  (sämtliche Daten); min./max. Restelektrodenichte  $-0.343/0.357 \text{ e Å}^{-3}$ . Das Chloratom in Molekül E ist über zwei Positionen mit einem Besetzungsverhältnis von 0.85:0.15 fehlgeordnet. Vier der zwanzig Benzolmoleküle sind ebenfalls über zwei Positionen fehlgeordnet und verfeinerten auf Besetzungen von 0.55:0.45, 0.45:0.55, 0.57:0.43 bzw. 0.63:0.37.<sup>[14c]</sup> c) Die Intensitäten von **1\*** und **2\*** wurden auf einem Dreikreisdiffraktometer mit einem Multi-Wire-Proportional-Counter als Flächendetektor mit  $\varphi$ - und  $\omega$ -Scans an einem schockgekühlten Kristall im Öltropfen<sup>[22]</sup> gesammelt. Die Integration der Daten erfolgte mit dem Programm SAINT. Alle Daten wurden nach einem semiempirischen Verfahren für Absorption und andere systematische Fehler korrigiert. Die Strukturen wurden mit Direkten Methoden gelöst (SHELXD)<sup>[21]</sup> und nach dem Kleinstes-Fehlerquadrate-Verfahren gegen  $F^2$  verfeinert.<sup>[23]</sup> Alle Nichtwasserstoffatome konnten anisotrop verfeinert werden. Die Wasserstoffatome wurden geometrisch ideal positioniert und nach dem Reitermodell, in dem die Methylgruppen (außer Lösungsmittel) um ihre lokale Achse rotieren können, verfeinert. Alle Fehlordnungen konnten mit Abstands- und ADP-Restraints aufgelöst und anisotrop verfeinert werden. Die kristallographischen Daten der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden bei der Protein Data Bank (PDB), Brookhaven National Laboratory, unter den Nummern 1A7Y und 1A7Z hinterlegt.
- [15] In der „A“-Form liegen die Peptidbindungen vom L-Threonin- bis zum L-Methylvalinrest in den Konformationen *trans*, *cis*, *cis*, *trans* vor.<sup>[17]</sup>
- [16] E. Pohl, G. M. Sheldrick, S. Fischer, H. Lackner, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1994**, 50, 100–103.
- [17] H. Lackner, *Angew. Chem.* **1975**, 87, 400–411; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, 14, 375–386.
- [18] Aus NMR-Daten von wäßrigen Actinomycin-D-Lösungen wurde eine andere Art der Dimerisierung abgeleitet: Die Chromophoreinheiten überlappen hier stärker, es werden aber keine intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen gebildet.<sup>[24]</sup>
- [19] Die Abstände zwischen den Threoninstickstoffatomen und N10 (2.88 Å in A, 2.94 Å in B) liegen zwar im Bereich einer H-Bindung, dies gilt jedoch nicht für die N(Thr)-H(Thr)-N10-Winkel.
- [20] Die entsprechenden Torsionswinkel H-N(Thr)-C(Thr)-H liegen in allen fünf Molekülen im Bereich von 146.6° bis 155.2°.
- [21] G. M. Sheldrick, SHELXD, CCP4 Workshop, York, **1997**, 147–157.
- [22] T. Kottke, D. Stalke, *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, 26, 615–619.
- [23] G. M. Sheldrick, T. R. Schneider, *Methods Enzymol.* **1997**, 277, 319–343.