

## Structure Cristalline et Conformation Moléculaire du Chlorure de l'Ester Méthylique de Tosyl-L-arginine

PAR YVETTE BARRANS ET MICHEL COTRAIT

Laboratoire de Cristallographie et de Physique Cristalline, associé au CNRS, Université de Bordeaux I, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France

(Reçu le 11 février 1976, accepté le 20 février 1976)

Tosyl-L-arginine methyl ester chloride, a substrate for trypsin, is orthorhombic, space group  $P2_12_1$ , with  $a=8.084$ ,  $b=23.579$ ,  $c=9.812$  Å and four molecules in the unit cell. The structure has been solved by direct methods and refined until  $R=0.05$ . The conformation of the arginine residue is roughly comparable with one of the two forms in the asymmetric unit of the structure of hydrated L-arginine hydrobromide, but the whole cation is unusually folded: it coils itself in a turn so that the tosyl group is placed above the guanidinium group, with the methyl ester group set outside. The cohesion is achieved by hydrogen bonds between the anion and three out of the four nitrogen atoms of the cations. The hydrophobic methyl ester and tosyl groups are involved in van der Waals bonds.

### Introduction

L'ester méthylique de la tosyl-L-arginine (TAME) est, avec l'ester éthylique de la benzoyl-L-arginine (BAEE), un substrat synthétique de la trypsine. Cette enzyme convertit la caséine en protéoses, en hydrolysant spécifiquement dans la chaîne polypeptidique les liaisons C(=O)-NH dont le groupe carbonyle est fourni par l'arginine ou la lysine. Un groupement acide aspartique de l'enzyme, interagissant avec le groupe guanidinium du substrat orienterait favorablement la molécule dont la liaison à lyser viendrait alors en position requise par rapport au site actif enzymatique comprenant sérine, histidine et asparagine, non directement liées mais voisines dans l'espace.

TAME et BAEE sont utilisés pour mesurer l'activité des solutions de trypsine, l'hydrolyse rompant dans ce cas la liaison ester C(=O)-OCH<sub>3</sub> ou C(=O)-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.

Dans ce travail nous présentons la détermination et l'analyse de la structure du chlorure de TAME désigné ci-après par TAME Cl.

### Partie expérimentale

Un cristal issu directement de la substance reçue des laboratoires Fluka a été utilisé au début de cette étude, mais il était de mauvaise qualité et nous n'avons pu affiner totalement la structure avec les données qu'il nous avait fournies (voir *Détermination de la structure*).

Après plusieurs essais de cristallisation, nous avons obtenu de jolies baguettes transparentes, parfois maclées, à partir d'une solution dans le mélange eau-éthanol (1:1) avec diffusion initiale de vapeur d'éther isopropylique. Un prisme taillé (0,16 × 0,20 × 0,25 mm) nous a fourni les données expérimentales du Tableau 1.

Les intensités diffractées ont été collectées à température ambiante sur diffractomètre automatique Siemens à quatre cercles dans les conditions suivantes:

Tableau 1. Données expérimentales de TAME Cl

[C <sub>14</sub> H <sub>23</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S] <sup>+</sup> .Cl <sup>-</sup>	$M=378,5$
Groupe spatial $P2_12_1$	
Quatre molécules par maille	
$a$	$=8,084$ (3) Å
$b$	$=23,579$ (6)
$c$	$=9,812$ (4)
$V$	$=1870,3$ Å <sup>3</sup>
$d_{th}$	$=1,34$ g cm <sup>-3</sup>
1580 réflexions mesurées dans $\frac{1}{2}$ espace (dont 1402 réflexions non nulles)	

radiation  $K\alpha$  du cuivre ( $\lambda=1,5418$  Å), angle de Bragg limité à 60°, balayage des réflexions en  $2\theta$  selon la méthode des cinq points, contrôle de la réflexion de référence 532 toutes les cinquante mesures. Aucune correction d'absorption n'a été appliquée.

Les calculs ont été menés sur ordinateur CII IRIS 80 au Centre de Calcul de l'Université de Bordeaux I avec les programmes de méthodes directes *MULTAN* du laboratoire et d'affinement dérivé du programme d'Ahmed.

### Détermination de la structure

Avec les données du premier cristal et après évaluation des facteurs d'échelle et d'agitation thermique moyenne par la méthode de Wilson ( $K=0,93$  et  $B=5,8$  Å<sup>2</sup>), l'ensemble des 143 réflexions de facteur normalisé  $|E| > 1,5$  a conduit aux réflexions et phases de départ indiquées dans le Tableau 2. Huit des seize solutions obtenues ont été écartées par suite de l'inversion de phase des réflexions 480 et 606 ou 480 seule. La solution classée en tête des huit solutions restantes d'après les figures de mérite a donné pour affinées:  $\varphi(223)=92$ ,  $\varphi(265)=261$ ,  $\varphi(604)=360$  et  $\varphi(150)=90^\circ$ .

Les sections de Fourier-Bragg correspondantes faites avec les facteurs normalisés ont indiqué les

positions de dix-sept atomes sur vingt-quatre. Les atomes C(18) à C(23) du groupement tolyl et N(12) du groupement guanidinium ont été placés sur sec-

tions-différence après quatre cycles d'affinement. L'affinement des paramètres des vingt-quatre atomes, bloqué à la valeur 0,19 du facteur  $R$  avec les données du premier cristal (longueurs et angles de liaisons aberrants), s'est poursuivi normalement avec les données du deuxième cristal. A partir du stade  $R=0,09$ , nous avons introduit les atomes d'hydrogène et les coefficients d'agitation thermique anisotrope sur les autres atomes. Treize atomes d'hydrogène ont été placés directement en position théorique;\* d'après les sections-différence, nous avons localisé les autres atomes H fixés sur N(11) et N(12) du groupe guanidinium et un atome H de chaque groupement méthyl [sur C(13) et C(23)], les quatre derniers étant placés en position

Tableau 2. Réflexions formant l'ensemble de départ

	$h\ k\ l$	$ E $	$\varphi$
Origine	2 2 3	1,60	45°
	2 3 0	2,22	360
	3 9 0	2,75	90
Relation $\Sigma_1$	4 8 0	1,66	360
	6 0 6	3,38	180
Symboles	2 6 5	1,95	
	6 0 4	4,01	
	1 5 0	2,96	

Tableau 3. Coordonnées atomiques ( $\times 10^4$ ) et coefficients d'agitation thermique ( $B_{ij} \times 10^4$ )

	$x$	$y$	$z$	$B_{11}$	$B_{22}$	$B_{33}$	$B_{12}$	$B_{13}$	$B_{23}$
N(1)	5108 (6)	6191 (2)	7591 (5)	153 (7)	25 (1)	138 (6)	-4 (5)	-4 (13)	15 (5)
C(2)	3357 (7)	6345 (2)	7488 (6)	170 (10)	21 (1)	123 (7)	11 (6)	1 (18)	2 (5)
C(3)	2568 (7)	6297 (2)	8881 (6)	172 (10)	20 (1)	116 (7)	8 (6)	7 (14)	3 (5)
O(4)	2895 (6)	5944 (2)	9706 (5)	258 (5)	37 (1)	143 (6)	50 (6)	46 (13)	42 (5)
O(5)	1403 (6)	6670 (2)	9057 (5)	256 (9)	26 (1)	183 (6)	35 (6)	108 (14)	6 (4)
C(6)	2449 (7)	5966 (3)	6476 (6)	149 (9)	24 (1)	123 (7)	6 (6)	-12 (15)	-8 (5)
C(7)	3058 (7)	6008 (3)	5016 (6)	167 (10)	23 (1)	124 (7)	7 (6)	-7 (13)	-7 (5)
C(8)	2508 (7)	5519 (3)	4134 (7)	144 (9)	30 (2)	148 (8)	-10 (7)	-15 (16)	-24 (6)
N(9)	3251 (6)	5521 (2)	2788 (5)	154 (8)	31 (1)	123 (6)	24 (6)	-31 (13)	-22 (5)
C(10)	4777 (8)	5319 (2)	2502 (6)	184 (10)	23 (1)	113 (7)	-7 (6)	-34 (16)	-8 (5)
N(11)	5670 (6)	5076 (2)	3454 (6)	175 (8)	33 (1)	137 (6)	19 (6)	-9 (15)	17 (5)
N(12)	5324 (7)	5341 (2)	1238 (5)	210 (10)	33 (1)	125 (7)	26 (6)	4 (14)	-8 (5)
C(13)	465 (12)	6629 (3)	10321 (9)	327 (18)	34 (2)	208 (12)	19 (12)	178 (27)	-9 (9)
S(14)	6591 (2)	6635 (1)	7361 (2)	193 (3)	38 (0)	124 (2)	-53 (2)	-23 (5)	-10 (2)
O(15)	6147 (8)	7140 (2)	8058 (5)	409 (14)	39 (1)	150 (6)	-103 (8)	85 (16)	-54 (5)
O(16)	8077 (6)	6336 (3)	7724 (6)	156 (8)	72 (2)	189 (8)	-36 (7)	-81 (14)	28 (7)
C(17)	6659 (8)	6791 (3)	5622 (7)	167 (10)	27 (1)	157 (8)	-42 (7)	15 (17)	-15 (6)
C(18)	5788 (9)	7236 (3)	5080 (7)	249 (13)	25 (1)	156 (9)	-13 (8)	98 (21)	-15 (6)
C(19)	5635 (10)	7294 (3)	3692 (7)	266 (14)	21 (1)	182 (1)	-6 (8)	61 (23)	19 (6)
C(20)	6330 (9)	6914 (3)	2806 (7)	250 (13)	22 (1)	152 (9)	-18 (7)	33 (19)	0 (5)
C(21)	7331 (8)	6487 (3)	3367 (8)	216 (12)	23 (1)	161 (9)	-18 (7)	98 (20)	-15 (6)
C(22)	7463 (8)	6424 (3)	4741 (7)	178 (11)	27 (1)	154 (9)	-8 (7)	22 (17)	5 (6)
C(23)	6089 (12)	6952 (4)	1299 (8)	386 (21)	37 (2)	154 (10)	-17 (12)	82 (25)	14 (7)
C(24)	5733 (2)	4886 (1)	6723 (2)	170 (2)	26 (0)	143 (2)	26 (2)	8 (4)	19 (1)

Tableau 3 (suite)

	$x$	$y$	$z$	$B$
H(31)	5379 (87)	5763 (26)	7691 (66)	7,2
H(32)	3267 (67)	6786 (20)	7170 (50)	4,4
H(33)	1132 (59)	3059 (20)	6515 (51)	3,9
H(34)	2662 (61)	5524 (21)	6765 (55)	4,3
H(35)	4403 (66)	6019 (20)	5020 (53)	4,4
H(36)	2605 (60)	6413 (19)	4608 (53)	4,1
H(37)	1160 (68)	5535 (23)	4053 (55)	5,0
H(38)	2841 (64)	5131 (21)	4665 (54)	4,6
H(39)	2740 (63)	5695 (20)	1908 (53)	4,2
H(40)	6887 (89)	5195 (27)	3272 (73)	7,9
H(41)	5294 (81)	4928 (25)	4404 (65)	6,6
H(42)	4908 (75)	5619 (23)	497 (61)	5,9
H(43)	6427 (90)	5124 (28)	1079 (68)	7,6
H(51)	39 (78)	6194 (23)	10440 (62)	6,0
H(52)	-539 (87)	6932 (25)	10229 (70)	7,3
H(53)	1244 (70)	6751 (22)	11172 (55)	5,1
H(61)	4813 (82)	7054 (26)	1062 (63)	6,7
H(62)	6575 (84)	6574 (26)	793 (61)	6,6
H(63)	6861 (86)	7289 (26)	872 (62)	7,0
H(71)	7889 (64)	6184 (22)	2687 (50)	4,4
H(72)	8267 (69)	6091 (22)	5141 (54)	4,9
H(78)	5200 (84)	7533 (25)	5739 (58)	6,4
H(79)	4903 (80)	7622 (24)	3254 (63)	6,2

théorique; un affinement limité des positions et des coefficients d'agitation thermique isotrope des atomes d'hydrogène a montré une bonne stabilisation de ces paramètres, mais les distances A-H ont été finalement ramenées aux longueurs théoriques et les coordonnées correspondantes bloquées dans les derniers cycles de calcul.

Vers la fin de l'affinement, un calcul de  $F_c$  avec dispersion anormale pour les atomes de chlore et de soufre a été fait en limitant l'angle de Bragg à 30°. Le facteur  $R$  pour 335 réflexions des quadrants  $hkl$  et  $h\bar{k}l$  a donné

	$hkl$	$h\bar{k}l$
forme D	6,76	7,58
forme L	6,24	6,79.

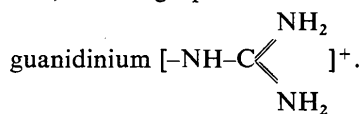
La configuration absolue du cation est donc bien L.

\* En tenant compte des valeurs obtenues par diffraction neutronique et électronique qui permet de localiser le proton:  $C_{sp3}\text{-H}$ : 1,09;  $C_{sp2}\text{-H}$ : 1,07;  $N_{sp2}\text{-H}$ : 1,04 Å.

## Analyse des résultats

La valeur finale du facteur  $R$  est égale à 0,05.\* Paramètres atomiques, longueurs et angles de liaisons sont consignés dans les Tableaux 3 et 4. Les Figs. 1 et 2 montrent la numérotation des atomes et deux projections de la structure.

La molécule est sous la forme ionique TAME<sup>+</sup> Cl<sup>-</sup>, la charge positive étant localisée sur le groupe



\* La liste des facteurs de structure a été déposée au dépôt d'archives de la British Library Lending Division (Supplementary Publication No. SUP 31712: 17 pp., 1 microfiche). On peut en obtenir des copies en s'adressant à: The Executive Secretary, International Union of Crystallography, 13 White Friars, Chester CH1 1NZ, Angleterre.

Tableau 4. Longueurs et angles de liaisons

	Distance	Sigma		Sigma
N(1)—C(2)	1,465 Å	0,008 Å		
C(2)—C(3)	1,506	0,008		
C(3)—O(4)	1,187	0,008		
C(3)—O(5)	1,312	0,008		
O(5)—C(13)	1,457	0,010		
C(2)—C(6)	1,524	0,008		
C(6)—C(7)	1,519	0,009		
C(7)—C(8)	1,509	0,009		
C(8)—N(9)	1,451	0,008		
N(9)—C(10)	1,352	0,008		
C(10)—N(11)	1,312	0,008		
C(10)—N(12)	1,317	0,008		
N(1)—S(14)	1,605	0,005		
S(14)—O(15)	1,410	0,006		
S(14)—O(16)	1,432	0,006		
S(14)—C(17)	1,766	0,007		
C(18)—C(17)	1,371	0,009		
C(18)—C(19)	1,374	0,010		
C(19)—C(20)	1,379	0,010		
C(20)—C(21)	1,391	0,010		
C(21)—C(22)	1,361	0,011		
C(22)—C(17)	1,385	0,009		
C(20)—C(23)	1,493	0,011		
N(1)—H(31)	1,04	N(12)—H(43)	1,04	
C(2)—H(32)	1,09	C(13)—H(51)	1,09	
C(6)—H(33)	1,09	C(13)—H(52)	1,09	
C(6)—H(34)	1,09	C(13)—H(53)	1,09	
C(7)—H(35)	1,09	C(18)—H(78)	1,07	
C(7)—H(36)	1,09	C(19)—H(79)	1,07	
C(8)—H(37)	1,09	C(21)—H(71)	1,07	
C(8)—H(38)	1,09	C(22)—H(72)	1,07	
N(9)—H(39)	1,04	C(23)—H(61)	1,09	
N(11)—H(40)	1,04	C(23)—H(62)	1,09	
N(11)—H(41)	1,04	C(23)—H(63)	1,09	
N(12)—H(42)	1,04			
$\sigma(\text{C-H, N-H}) \approx 0,06 \text{ \AA}$ .				
	Angle	Sigma		
N(1)—C(2)—C(3)	108,48°	0,46°		
C(2)—C(3)—O(4)	125,85	0,55		
C(2)—C(3)—O(5)	111,71	0,49		
O(4)—C(3)—O(5)	122,20	0,56		
C(3)—O(5)—C(13)	116,55	0,54		
N(1)—C(2)—C(6)	111,39	0,47		
C(3)—C(2)—C(6)	110,39	0,47		

Tableau 4 (suite)

C(2)—C(6)—C(7)	114,81	0,49
C(6)—C(7)—C(8)	113,28	0,50
C(7)—C(8)—N(9)	113,47	0,52
C(8)—N(9)—C(10)	124,47	0,52
N(9)—C(10)—N(11)	120,52	0,55
N(9)—C(10)—N(12)	119,18	0,55
N(11)—C(10)—N(12)	120,19	0,57
C(2)—N(1)—S(14)	123,46	0,41
N(1)—S(14)—O(15)	107,43	0,31
N(1)—S(14)—O(16)	106,03	0,32
N(1)—S(14)—C(17)	106,54	0,29
O(15)—S(14)—O(16)	121,20	0,36
O(15)—S(14)—C(17)	106,98	0,33
O(16)—S(14)—C(17)	107,83	0,34
S(14)—C(17)—C(18)	121,51	0,51
S(14)—C(17)—C(22)	119,60	0,50
C(18)—C(17)—C(22)	118,51	0,61
C(17)—C(18)—C(19)	120,42	0,64
C(18)—C(19)—C(20)	121,46	0,65
C(19)—C(20)—C(21)	117,46	0,63
C(19)—C(20)—C(23)	121,40	0,66
C(21)—C(20)—C(23)	121,11	0,65
C(20)—C(21)—C(22)	120,99	0,64
C(21)—C(22)—C(17)	120,90	0,63
H(31)—N(1)—S(14)	119,2	3,6
H(31)—N(1)—C(2)	116,9	3,6
H(32)—C(2)—N(1)	108,7	2,7
H(32)—C(2)—C(6)	110,2	2,7
H(32)—C(2)—C(3)	107,5	2,7
H(33)—C(6)—C(2)	109,3	2,5
H(33)—C(6)—C(7)	109,6	2,5
H(33)—C(6)—H(34)	109,7	3,7
H(34)—C(6)—C(2)	108,3	2,7
H(34)—C(6)—C(7)	104,8	2,7
H(35)—C(7)—C(6)	108,7	2,7
H(35)—C(7)—C(3)	108,3	2,7
H(35)—C(7)—H(36)	108,4	3,1
H(36)—C(7)—C(6)	107,0	2,5
H(36)—C(7)—C(8)	110,8	2,5
H(37)—C(8)—C(7)	108,0	2,8
H(37)—C(8)—N(9)	110,3	2,8
H(37)—C(8)—H(38)	108,0	3,9
H(38)—C(8)—C(7)	107,1	2,7
H(38)—C(8)—N(9)	109,6	2,7
C(8)—N(9)—H(39)	126,2	2,8
C(10)—N(9)—H(39)	109,2	2,8
C(10)—N(11)—H(40)	106,2	3,8
C(10)—N(11)—H(41)	128,5	3,4
H(40)—N(11)—H(41)	121,3	5,1
C(10)—N(12)—H(42)	125,2	3,2
C(10)—N(12)—H(43)	114,1	3,7
H(42)—N(12)—H(43)	118,9	4,9
O(5)—C(13)—H(51)	108,6	3,1
O(5)—C(13)—H(52)	105,9	3,5
O(5)—C(13)—H(53)	109,5	2,9
H(51)—C(13)—H(52)	113,1	4,7
H(51)—C(13)—H(53)	110,5	4,2
H(52)—C(13)—H(53)	108,8	4,5
C(17)—C(18)—H(78)	119,8	3,3
C(19)—C(18)—H(78)	119,7	3,3
C(18)—C(19)—H(79)	121,4	3,3
C(20)—C(19)—H(79)	117,0	3,3
C(20)—C(21)—H(71)	118,1	2,7
C(22)—C(21)—H(71)	120,6	2,7
C(21)—C(22)—H(72)	118,7	2,6
C(17)—C(22)—H(72)	120,2	2,6
C(20)—C(23)—H(61)	111,3	3,4
C(20)—C(23)—H(62)	110,2	3,4
C(20)—C(23)—H(63)	109,7	3,4
H(61)—C(23)—H(62)	115,1	4,7
H(61)—C(23)—H(63)	107,4	4,8
H(62)—C(23)—H(63)	102,3	4,7

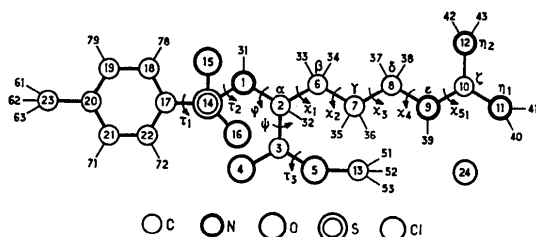


Fig. 1. Schéma de la molécule, numérotation des atomes, angles de torsion.

Les longueurs et angles de liaisons ne diffèrent pas significativement ( $\Delta < 2,3\sigma$ ) des valeurs habituelles (avec quelques réserves pour les angles incluant les atomes d'hydrogène).

Nous remarquerons d'après la somme des angles de liaisons des atomes N(1), N(9), N(11) et N(12), respectivement égale à 359,6, 359,5, 356,2 et 358,5°, que les deux premiers atomes sont de type  $sp^2$  alors que les deux derniers appartenant au groupement chargé ont un léger caractère  $sp^3$ .

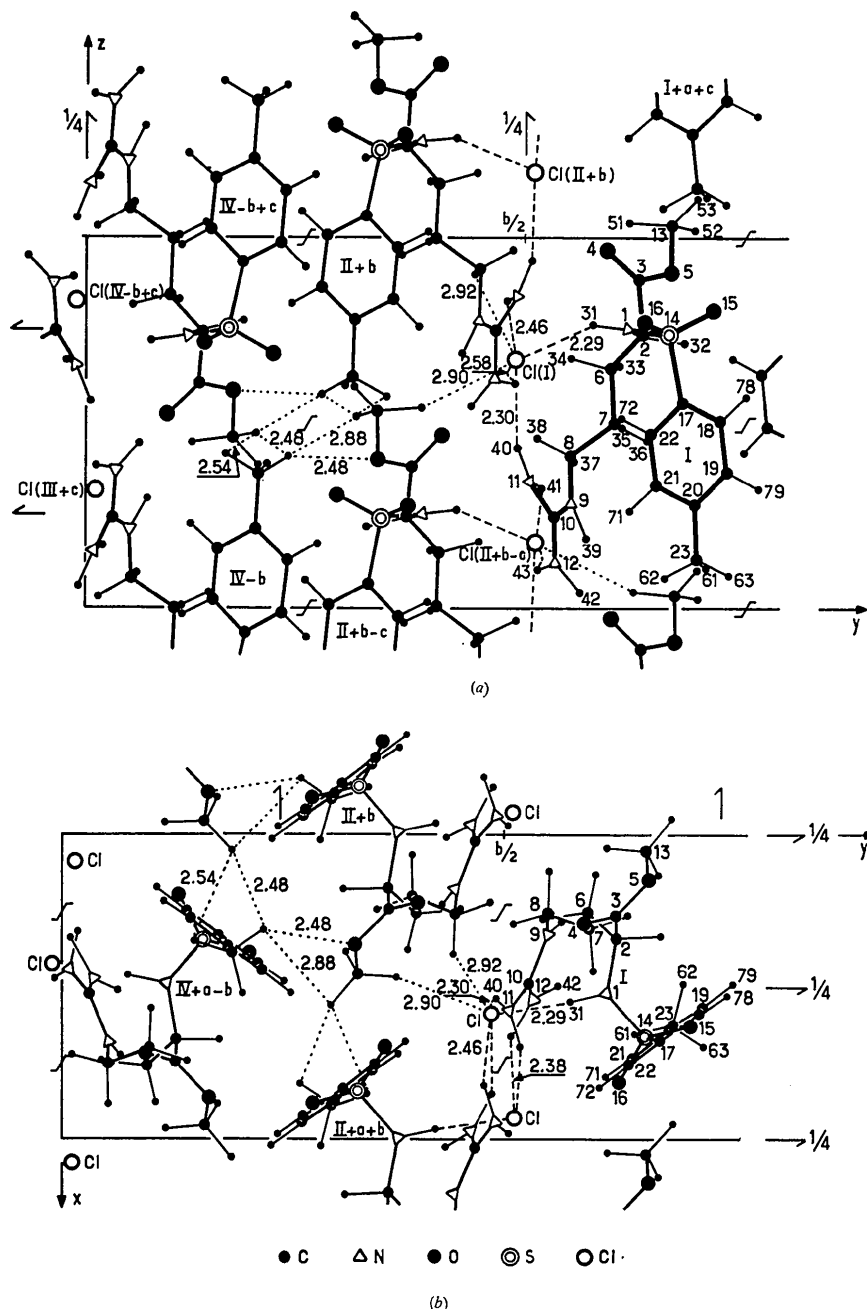


Fig. 2. Projections de la structure (a) parallèlement à l'axe x, (b) parallèlement à l'axe z.

*Conformation cationique*

Elle peut être entièrement décrite à partir des équations et des angles dièdres des divers plans définis par trois atomes ou plus, avec éventuellement les écarts au plan de certains atomes. Nous considérerons seulement les trois groupements plans (phényl, ester et guanidinium) et les angles de torsion du cation, en y ajoutant cependant quelques proximités intracationiques. Equations et écarts, valeurs angulaires et proximités sont données dans le Tableau 5 que nous commenterons brièvement.

## Groupements plans:

– Plan phényl  $P(1)$ : Nous constatons que les atomes C(23) et surtout S(14) s'écartent d'un même côté du noyau aromatique ( $d = -0,13$  et  $-0,30$  Å). Dans la tosyl-L-prolyl hydroxyproline hydratée (Sabesan & Venkatesan, 1971), les écarts aux plans sont plus faibles, respectivement 0,05 et 0,16 Å, et ils se réduisent à 0,04 et 0,07 Å dans un dérivé de la phénanthridine (Cameron, Freer, Doyle & Wright, 1974). Le groupement tosyl de TAME Cl paraît donc très déformé, mais nous n'en avons aucune explication valable.

– Plan ester  $P(2)$ : l'atome C(13) du groupement méthyl est légèrement en dehors du plan  $P(2)$  et du même côté que l'atome O(4) par rapport à la liaison C(3)–O(5), à une distance de  $-0,10$  Å.

– Plan guanidinium  $P(3)$ : L'atome C(8) est pratiquement contenu dans le plan  $P(3)$ , mais les atomes d'hydrogène fixés sur les atomes d'azote terminaux ne s'y trouvent pas; de toutes façons, il y aurait empêchement stérique pour les atomes H(40) et H(43) qui sont déjà très proches ( $d = 2,19$  Å).

## Angles de torsion et proximités intracationiques:

Le cation (TAME)<sup>+</sup> est très flexible. La Fig. 3 montre la conformation qu'il a adoptée. Deux constatations s'imposent:

– La chaîne latérale de l'arginine n'est pas plane: si les atomes C(3), C(8) et N(9) s'écartent relativement peu du plan  $P(4)$  formé par C(2)–C(6)–C(7), la torsion  $\chi_4$  autour de la liaison C(8)–N(9) rejette nettement le groupe guanidinium hors de ce plan.

– Les torsions  $\tau_2$  et  $\tau_5$  autour des liaisons S(14)–N(1) et N(1)–C(2) confèrent au cation une conformation assez compacte sans contacts de van der Waals [voir Tableau 5(d)]. La chaîne cationique s'enroule en mimant un tour d'hélice déformée par aplatissement latéral, de pas voisin de 4,2 Å: le groupement tolyl se projette sur le groupement guanidinium et le groupement ester méthylique s'oriente en position déagée vers l'extérieur. Par contre, les angles  $\varphi$  et  $\psi$  ne sont pas comparables à ceux des différentes hélices polypeptidiques.

Plusieurs conformations cristallines de l'arginine (Arg), hydratée ou sous forme de sel, sont connues. Nous avons comparé nos résultats relatifs au radical Arg avec les valeurs réunies par Aoki, Nagano & Iitaka (1971), qui décrivent sept cations et une molé-

cule; dans cet ensemble il y a six conformations différentes. Celle présente dans le TAME Cl se rapproche tout au plus de celle du cation Arg<sup>+</sup> dans l'halogénure

Tableau 5. *Conformation du cation (TAME)<sup>+</sup>*(a) Equations normalisées des plans moyens  $P(1)$ ,  $P(2)$ ,  $P(3)$ ,  $P(4)$ 

$$\begin{aligned} P(1) & 0,8132x + 0,5819y - 0,0095z - 13,6686 = 0 \\ P(2) & 0,6787x + 0,6240y + 0,3872z - 14,0312 = 0 \\ P(3) & 0,4092x + 0,8895y + 0,2035z - 13,2150 = 0 \\ P(4) & -0,6569x + 0,7334y - 0,1747z - 7,9071 = 0 \end{aligned}$$

(b) Ecarts des atomes à ces plans (Å)

Les atomes sans astérisque définissent le plan.

$$\begin{aligned} P(1) & C(17) -0,02; C(18) 0,01; C(19) 0,01; C(20) -0,02; \\ & C(21) 0,02; C(22) 0,00; C(23) -0,13^*; S(14) -0,30^*; \\ & O(15) 0,09^*; O(16) 0,26^*. \end{aligned}$$

$$P(2) \quad C(3) 0,02; C(2) 0,00; O(4) 0,00; O(5) 0,00; N(1) 0,76^*; \\ C(13) -0,10^*.$$

$$P(3) \quad N(9) 0,00; C(10) 0,02; N(11) 0,00; N(12) 0,00; \\ H(42) 0,29^*; C(8) 0,01^*; C(7) 1,40^*; H(40) 0,61^*; \\ H(41) -0,25^*; H(43) -0,12^*.$$

$$P(4) \quad C(2) 0,00; C(6) 0,00; C(7) 0,00; C(3) 0,08^*; \\ C(8) -0,40^*; N(9) -0,56^*; C(10) -1,67^*; \\ N(11) -2,73^*; N(12) -1,71^*.$$

(c) Angles de torsion (°) autour de la liaison centrale

Observation de B vers C, rotation pour amener A sur D sens trigonométrique = sens négatif.

$\tau_1$	C(18)–C(17)–S(14)–N(1)	+ 91,13
$\tau_2$	C(17)–S(14)–N(1)–C(2)	– 72,06
$\varphi$	S(14)–N(1)–C(2)–C(3)	– 112,22
$\psi$	N(1)–C(2)–C(3)–O(5)	+ 142,57
$\tau_3$	C(2)–C(3)–O(5)–C(13)	+ 174,45
$\tau_4$	C(6)–C(2)–C(3)–O(5)	– 89,89
$\tau_5$	S(14)–N(1)–C(2)–C(6)	+ 126,06
$\chi_1$	N(1)–C(2)–C(6)–C(7)	– 62,90
$\chi_2$	C(2)–C(6)–C(7)–C(8)	+ 163,14
$\chi_3$	C(6)–C(7)–C(8)–N(9)	– 172,82
$\chi_4$	C(7)–C(8)–N(9)–C(10)	+ 81,92
$\chi_5$	C(8)–N(9)–C(10)–N(11)	+ 3,49

(d) Proximités intracationiques les plus courtes (Å)

N(12)···H(62)	3,10	H(42)···H(62)	2,64
N(12)···H(71)	3,20		
N(11)···H(71)	3,26	H(40)···H(71)	2,53
C(10)···H(71)	3,24	H(40)···H(72)	3,01
H(35)···C(1)	2,62		
H(35)···S(14)	3,25		
H(35)···C(17)	2,64		
H(35)···C(22)	2,66		
H(35)···C(18)	3,08		

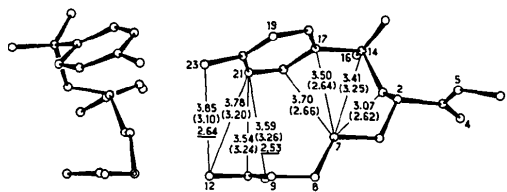


Fig. 3. Conformation moléculaire. Projection de la molécule sur le plan perpendiculaire à la liaison C(8)–N(9) et proximités intracationiques les plus courtes [voir Tableau 5(d)].

(Cl<sup>-</sup> ou Br<sup>-</sup>) hydraté, les écarts allant de 1 à 18° suivant les angles de torsion.

Pour le groupement guanidinium (ou guanidyle), il y a deux positions moyennes, l'une peu écartée et l'autre très écartée de la chaîne C<sub>α</sub> à N<sub>ε</sub> ( $|\chi_4|$  voisin de 170 ou compris entre 81 et 113°).

### Cohésion

L'agencement des molécules présente deux sortes de zones, l'une hydrophile où apparaissent les liaisons hydrogène, l'autre hydrophobe ne présentant que des contacts ou liaisons de van der Waals. Les proximités interatomiques les plus intéressantes sont indiquées sur la Fig. 2 et dans le Tableau 6:

- Zone hydrophile: le long des axes hélicoïdaux perpendiculaires au plan *xOy* en  $(\frac{1}{4}, 0)$  et  $(\frac{3}{4}, \frac{1}{2})$ , les anions Cl<sup>-</sup> relie les groupements guanidinium selon un enchaînement étroit ( $d \text{ Cl} \cdots \text{H} \sim 2,4 \text{ \AA}$ ) tout en formant par ailleurs des ponts latéraux avec les groupements NH peptidiques des mêmes molécules ( $d \text{ Cl} \cdots \text{H} = 2,3 \text{ \AA}$ ). Le groupe N<sub>ε</sub>-H de la chaîne Arg n'intervient pas. On relève aussi deux proximités à la limite du contact entre anion Cl<sup>-</sup> et atomes H de groupements méthyle ou méthylène ( $d \text{ Cl} \cdots \text{H} = 2,9 \text{ \AA}$ ).

- Zone hydrophobe: entre les cycles aromatiques, il n'apparaît aucun contact. Par contre, il y a imbrication entre groupements méthyles des deux radicaux tosyl et ester méthylique le long des axes hélicoïdaux

perpendiculaires à *yOz* en  $(\frac{1}{4}, \frac{1}{2})$  et  $(0, \frac{3}{4})$ ; les distances H<sup>⋯</sup>H ( $d = 2,48$  et  $2,54 \text{ \AA}$ ) et H<sup>⋯</sup>O ( $d = 2,48 \text{ \AA}$ ) sont proches de celles de contacts de van der Waals.

Tableau 6. Proximités interatomiques (Å)

Coordonnées des molécules homologues:

(I)  $x, y, z$ ; (II)  $\frac{1}{2} - x, \bar{y}, \frac{1}{2} + z$ ; (III)  $\frac{1}{2} + x, \frac{1}{2} - y, \bar{z}$ ; (IV)  $\bar{x}, \frac{1}{2} + y, \frac{1}{2} - z$ ; (I<sub>i</sub>)  $I + a - c$ ; (II<sub>i</sub>)  $II + a + b$ ; (III<sub>i</sub>)  $III + b + c$ .

Cl <sup>⋯</sup> H(31)	2,29	Cl <sup>⋯</sup> N(1)	3,23
H(41)	2,30	N(11)	3,24
H(40, II <sub>i</sub> )	2,46	N(11, II <sub>i</sub> )	3,37
H(43, II <sub>i</sub> )	2,38	N(12, II <sub>i</sub> )	3,27
H(37, II + b)	2,92	C(8, II + b)	3,65
O(5)⋯H(63, III <sub>i</sub> - a)	2,48	O(5)⋯C(23, III <sub>i</sub> - a)	3,28
N(11)⋯Cl(II <sub>i</sub> - c)	3,37	H(40)⋯Cl(II <sub>i</sub> - c)	2,46
N(12)⋯Cl(II <sub>i</sub> - c)	3,27	H(43)⋯Cl(II <sub>i</sub> - c)	2,38
C(13)⋯Cl(II + b)	3,95	H(51)⋯Cl(II + b)	2,90
C(23)⋯O(5, III <sub>i</sub> )	3,28	H(63)⋯O(5, III <sub>i</sub> )	2,48
C(23)⋯C(13, III <sub>i</sub> )	3,74	H(63)⋯H(52, III <sub>i</sub> )	2,88
C(23)⋯C(13, I <sub>i</sub> )	3,74	H(63)⋯H(52, I <sub>i</sub> )	2,35
		H(62)⋯H(52, I <sub>i</sub> )	2,54

### Références

- AOKI, K., NAGANO, K. & IITAKA, Y. (1971). *Acta Cryst.* **B27**, 11-23.  
 CAMERON, A. F., FREER, A. A., DOYLE, P. & WRIGHT, N. C. A. (1974). *Acta Cryst.* **B30**, 1923-1927.  
 SABESAN, M. N. & VENKATESAN, K. (1971). *Acta Cryst.* **B27**, 1879-1883.

*Acta Cryst.* (1976). **B32**, 2351

## Molecular Structure, Symmetry and Conformation. XVI. The Crystal and Molecular Structure of (RS)-Abscisic Acid\*

By P. SWAMINATHAN, J. VIJAYALAKSHMI AND R. SRINIVASAN

*Department of Crystallography and Biophysics, University of Madras, Guindy Campus, Madras-600025, India*

(Received 10 November 1975; accepted 16 December 1975)

(RS)-Abscisic acid crystallizes in the monoclinic space group  $P2_1/c$  with  $a = 15.30$  (1),  $b = 6.87$  (1),  $c = 13.97$  (1) Å,  $\beta = 94.5$  (1)°,  $Z = 4$ . The structure was solved by the symbolic-addition procedure with visual X-ray intensities and refined to an  $R$  of 12%. The molecules form spirals along  $c$ . The parallel spiral chains are held together by van der Waals forces.

### Introduction

Abscisic acid is an unusual sesquiterpene showing exceptionally high optical activity. It promotes senescence and abscission of leaves and induces dormancy in buds and seeds. The X-ray analysis of (RS)-abscisic acid is reported here. This forms part of a programme of studies on the structure, symmetry and conformation of organic and bio-molecules.

### Experimental

Single crystals of (RS)-abscisic acid (synthetic substance supplied by Sigma Chemical Co.) were grown by slow evaporation from aqueous solution. Photographs showed that the crystals were monoclinic, space group  $P2_1/c$ . The density was determined by flotation in a mixture of benzene and bromoform.

### Crystal data

C<sub>15</sub>O<sub>4</sub>H<sub>20</sub>, monoclinic,  $a = 15.30$  (1),  $b = 6.87$  (1),  $c = 13.97$  (1) Å,  $\beta = 94.5$  (1)°; systematic absences  $0k0$ ,  $k = 2n + 1$ ;  $h0l$ ,  $l = 2n + 1$ ; space group  $P2_1/c$ ;  $Z = 4$ ,

\* Contribution No. 416 from the Department of Crystallography and Bio-Physics, University of Madras, Guindy Campus, Madras-600025, India.