



УДК 547.857.7'422:548.737+615.33

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ПРОТИВОВИРУСНОГО АГЕНТА
(*S*)-9-(2,3-ДИОКСИПРОПИЛ)АДЕНИНА

*Гурская Г. В., Джавадова Г. М., Васильев Д. Г.,
Цилевич Т. Л., Завгородний С. Г., Флорентьев В. Л.*

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Установлена молекулярная и кристаллическая структура противовирусного агента (*S*)-9-(2,3-диоксипропил)аденина. Пространственная группа кристаллов — $P2_1$, параметры элементарной ячейки: a 5,546(1), b 8,381(1), c 10,119(1) Å, β 91,979(9)°; Z 2. Структура решена прямым методом и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов до R 4,2%. В молекуле соединения все неводородные атомы сосредоточены в двух плоскостях, первую из которых образуют атомы пуринового остатка и атомы N(6) и C(1'), а вторую — атомы C(2'), C(3'), O(2') и O(3'); угол между плоскостями равен 54,3°. Проведено сравнение конформации молекулы в кристалле с теоретически рассчитанными и конформацией в растворе.

Ранее на основании анализа ферментативных реакций в терминах теории переходного состояния было предсказано наличие биологической активности в ряду аналогов нуклеозидов, отличающихся от природных нуклеозидов большими конформационными возможностями [1]. В качестве перспективных были рассмотрены аналоги нуклеозидов, несущие вместо остатка рибозы ациклические оксиалкильные заместители, имитирующие тот или иной фрагмент углеводного цикла. Действительно, в последующие годы был получен ряд подобных соединений, обладающих высокой биологической активностью. Отметим здесь такие противовирусные препараты, как «ациклогуанозин» (9-(2-оксиэтоксиметил)гуанин) [2], B1OLF-62 (9-[2-окси-1-(оксиметил)этоксиметил]гуанин) [3], и, наконец, (*S*)-изомер 9-(2,3-диоксипропил)аденина (ДНРА) [4, 5]. Первые два из названных соединений обладают избирательной активностью, в то время как последнее проявляет широкий спектр антивирусной активности [5]. Изучение пространственного строения этих соединений представляет несомненный интерес для выявления основных структурных закономерностей, обуславливающих их биологическую активность.

Настоящее сообщение посвящено рентгеноструктурному исследованию молекулярной и кристаллической структуры (*S*)-энантиомера 9-(2,3-диоксипропил)аденина ((*S*)-ДНРА). В табл. 1 представлены координаты атомов структуры, полученные после уточнения методом наименьших квадратов, и соответствующие $R = 4,2\%$. Рассчитанные по этим координатам длины связей и величины валентных углов между атомами O, N, C (тяжелыми атомами) в молекуле (*S*)-ДНРА приведены на рис. 1. Точность определения (σ) длин связей составляет $\sim 0,003$ Å, валентных углов — $\sim 0,3^\circ$. На рис. 1 приведена также использованная в работе нумерация атомов и показана ориентация эллипсоидов тепловых колебаний тяжелых атомов.

Из сравнения длин связей и величин валентных углов в адениновом цикле (*S*)-ДНРА с соответствующими значениями в структуре природного аденозина [6] видно, что большинство из них в пределах точности определения совпадают. Исключение составляют связь C(8)—N(9), которая удлинена на 6σ , и валентные углы C(6)—C(5)—C(4) и N(7)—C(8)—N(9), первый из которых увеличен на 3σ , а второй уменьшен на 2σ . Следствием изменения названных углов является увеличение на 3σ экзоциклического угла C(6)—C(5)—N(7).

Относительные координаты атомов ($\times 10^4$ для С, N, O, $\times 10^3$ для H) в структуре ДНРА

В скобках приведены стандартные отклонения

Атом	x/a	y/b	z/c	Атом	x/a	y/b	z/c
N(1)	7304(5)	2856(4)	9375(3)	C(3')	609(5)	-426(5)	3903(3)
C(2)	5345(6)	3209(4)	8613(3)	O(3')	-1403(4)	-1376(4)	4229(2)
N(3)	3985(5)	2250(4)	7845(3)	H(2)	466	436	873
C(4)	4813(5)	737(4)	7904(3)	H(N6,1)	1043	-10	1032
C(5)	6789(6)	195(4)	8629(3)	H(N6,2)	1096	159	1056
C(6)	8096(6)	1324(4)	9415(3)	H(8)	516	-292	714
N(6)	10001(6)	947(0)	10185(3)	H(1',4)	68	-138	656
N(7)	7124(5)	-1432(4)	8433(3)	H(1',2)	92	49	635
C(8)	5359(6)	-1832(4)	7601(3)	H(2')	329	-191	473
N(9)	3864(5)	-568(4)	7243(2)	H(O2')	587	-9	465
C(1')	1857(5)	-568(4)	6285(3)	H(3',1)	118	-59	294
C(2')	2705(5)	-763(4)	4885(3)	H(3',2)	16	81	397
O(2')	4551(4)	365(3)	4634(2)	H(O3')	-194	-181	349

Таблица 2

Уравнения наилучших плоскостей, проведенных через атомы, отмеченные звездочками, и отклонения атомов от этих плоскостей

Атомы	Отклонение, Å	Атомы	Отклонение, Å
-------	---------------	-------	---------------

Плоскость 1 $-3,439x - 1,606y + 7,909z = 4,459$

N(1)*	0,015	N(7)*	0,010
C(2)*	0,001	C(8)*	-0,004
N(3)*	-0,014	N(9)*	-0,032
C(4)*	-0,018	N(6)*	-0,005
C(5)*	0,001	C(1')*	0,036
C(6)*	0,010	C(2')	1,404

Плоскость 2 $-2,106x + 5,689y + 6,489z = 2,210$

C(2')*	0,044	O(3')*	-0,047
O(2')*	-0,046	C(1')	-1,154
C(3')*	0,048		

Таблица 3

Геометрические характеристики водородных связей

Атом-донор (Д)	Атом-акцептор (А)	Расстояние, Å		Угол Д—Н...А, град
		Д—А	Н—А	
N(6)	N(7)	3,028	2,20	169,2
N(6)	N(1)	3,016	2,14	159,1
O(2')	O(3')	2,719	1,92	164,1
O(3')	N(3)	2,752	1,90	162,9

Длина экзоциклической связи С(6)—N(6) близка к длине соответствующей связи в аденозине, однако прилегающие к ней валентные углы несколько различаются. Угол N(6)—C(6)—C(4) меньше аналогичного угла в молекуле аденозина на 1° , а угол N(6)—C(6)—N(1) соответственно больше. Аналогичное перераспределение величин валентных углов имеет место в структурах 9-[3-(3-индолил)пропил]аденина [7] и 1-[2-(аденин-9-ил)этил]-3-карбамоилпиримидиния [8].

Следует обратить внимание также на укорочение в пределах 4σ псевдогликозидной связи и более симметричную ориентацию ее относительно аденинового цикла по сравнению с аденозином. Разница между экзоциклическими углами C(8)—N(9)—C(1') и C(4)—N(9)—C(1') в (S)-ДНРА составляет $1,2^\circ$, в то время как в аденозине она равна $5,7^\circ$ [6]. Аналогич-

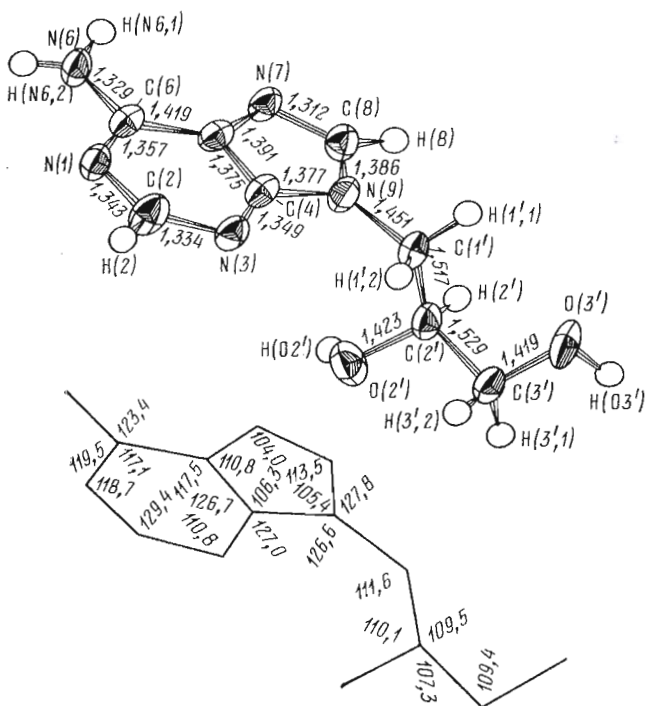


Рис. 1. Строение молекулы (*S*)-ДНРА. Атомы О, N, С изображены эллипсоидами тепловых колебаний с 50%-ной вероятностью

ное выравнивание величин экзоциклических углов при атоме N(9) наблюдается в структурах ряда других аналогов, содержащих, так же как и (*S*)-ДНРА, фрагменты алифатической углеводородной цепи, непосредственно связанные с N(9)-атомом [7–9]. Геометрия пропильного остатка хорошо согласуется с данными, полученными для структур 9-[3-(3-индол-лил)пропил]аденина [7] и 3-(аденин-9-ил)пропионамида [9]. Длины связей в оксигруппах различаются в пределах σ и близки к обычным ординарным С–О-связям [10].

Конформация молекул (*S*)-ДНРА такова, что все тяжелые атомы молекулы оказались сосредоточенными в двух плоскостях. Первую плоскую группировку составляют атомы пуринового цикла и атомы N(6) и C(1'), вторую – атомы C(2'), C(3') и атомы кислорода оксигрупп. В табл. 2 приведены уравнения соответствующих среднеквадратичных плоскостей и отклонения атомов от них. Среднее значение отклонений атомов от первой плоскости составляет $\sim 0,013$ Å, от второй – $0,046$ Å. Угол между плоскостями равен $54,3^\circ$.

На рис. 2 показана укладка молекул (*S*)-ДНРА в кристаллическую структуру. Каждая молекула (*S*)-ДНРА в кристалле выступает одновременно как в роли донора, так и в роли акцептора четырех водородных связей. При этом в образовании водородных связей участвуют все атомы кислорода и азота, потенциально способные их образовывать, т. е. в структуре реализован принцип насыщения водородных связей. В результате молекулы (*S*)-ДНРА в кристалле оказываются прочно соединенными друг с другом трехмерной сеткой водородных связей, длины которых варьируют от 2,719 до 3,028 Å. Геометрические параметры водородных связей приведены в табл. 3. Кроме того, в структуре имеются укороченные (3,262 Å) расстояния между атомами C(8) и O(2') молекул, симметрично связанных двойными винтовыми осями, проходящими через центры ячеек. Угол C(8)–H(8) ... O(2') равен $153,5^\circ$, расстояние между атомами H(8) и O(2') составляет 2,31 Å, что может свидетельствовать о наличии в структуре слабых водородных связей типа С–Н ... О [11].

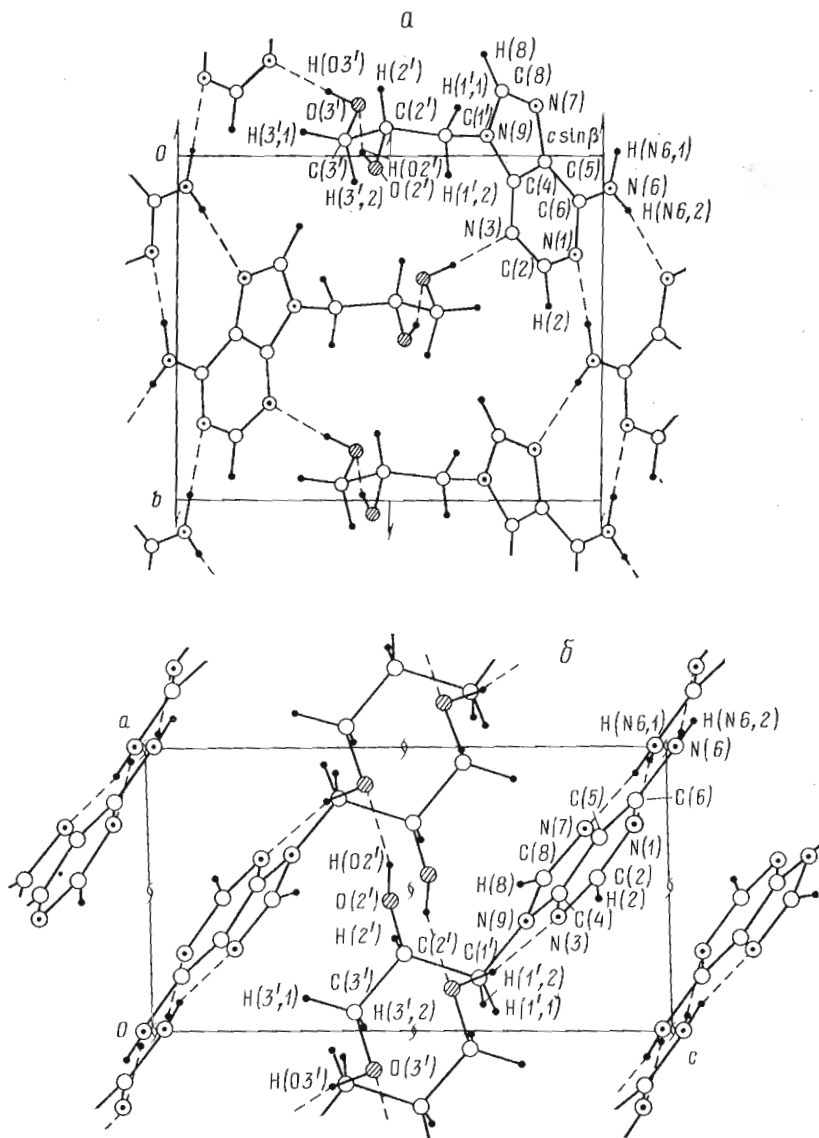


Рис. 2. Упаковка молекул (*S*)-ДНРА в кристаллической структуре. Вид вдоль осей *a* (а) и *b* (б). Водородные связи изображены пунктирными линиями

Дополнительная стабилизация кристаллической структуры (*S*)-ДНРА осуществляется за счет сил Ван-дер-Ваальса. Ярко выраженных стекингов-взаимодействий в структуре не обнаружено. Наблюдается только одно несколько заниженное (3,491 Å) по сравнению с суммой ван-дер-ваальсовых радиусов значение контактов между атомами C(2) и C(5) молекул, симметрично связанных двойными винтовыми осями, проходящими через середины осей *a* элементарных ячеек.

В заключение остановимся на сравнении конформации (*S*)-ДНРА, существующей в кристалле, с расчетными данными и с конформационными данными для раствора.

Основные двугранные углы, характеризующие конформацию молекулы (*S*)-ДНРА в кристаллической структуре, имеют следующие значения:

φ_1	C(8)—N(9)—C(1')—C(2')	—68,7°
φ_2	N(9)—C(1')—C(2')—C(3')	—168,8°
φ_3	N(9)—C(1')—C(2')—O(2')	—51,2°
φ_4	C(1')—C(2')—C(3')—O(3')	—52,7°
φ_5	O(2')—C(2')—C(3')—O(3')	—172,1°

Возможные идеализированные конформации диоксипропильной цепи (S)-ДНРА и соответствующие им конфигурации и конформации пентафуранозного цикла нуклеозидов*

Конформация	Двугранные углы, град				Геометрия пентафуранозного цикла	
	φ_2	φ_3	φ_4	φ_5	Конфигурация	Конформация
I	180	-60	-60	180	α -D-ксило, β -L-ара	C(3')-эндо
II	180	-60	180	60	β -D-ксило, α -L-ара	C(2')-эндо
					α -D-рибо, β -L-ликсо	C(3')-эндо
III	180	-60	60	-60	β -D-рибо, α -L-ликсо	C(2')-эндо
IV	60	180	-60	180	β -D-ксило, α -L-ара	C(3')-эндо
V	60	180	180	60	β -D-рибо, α -L-ксило	C(3')-эндо
VI	60	180	60	-60	Нет аналогий	
VII	-60	60	-60	180	»	
VIII	-60	60	180	60	α -D-ксило, β -L-ара	C(2')-эндо
IX	-60	60	60	-60	α -D-рибо, β -L-ликсо	C(2')-эндо

* Использованные обозначения двугранных углов см. в тексте статьи.

Возникает естественный вопрос: насколько эти значения отражают конформационное поведение (S)-ДНРА в растворе?

Конформационные возможности молекулы (S)-ДНРА достаточно богаты. Даже если не рассматривать вращения вокруг псевдогликозидной N(9)-C(1')-связи, диоксипропильная цепь может принимать девять дискретных конформаций, причем семь из них могут имитировать α - и β -аномеры D-ксило-, D-рибо-, L-арабино- и L-ликсофуранозы, а две оставшиеся не имеют стереоаналогов в ряду пентафураноз (табл. 4).

При рассмотрении относительного расположения нуклеинового основания и алкильной цепи следует учитывать по крайней мере три конформации с $\varphi_1 \sim -60^\circ$, $\sim 0^\circ$ и $\sim 30^\circ$. Первая из них имитирует *анти*-, вторая — *высокую-анти*-, а третья — весьма редкую *низкую-анти*-конформацию нуклеозидов. Найденная в настоящей работе структура имеет конформацию типа I (табл. 4) алкильной цепи и соответствует *анти*-C(3')-эндо-конформации β -L-арабино- или α -D-ксилофуранозиладенина.

Проведенный ранее квантовохимическим методом конформационный расчет (S)-ДНРА [12] указывает на наличие четырех минимумов потенциальной энергии. Глобальному минимуму соответствует конформер типа IX с $\varphi_1 = 30^\circ$, далее в порядке повышения энергии следуют конформеры типа III, II и I (во всех случаях $\varphi_1 = 0^\circ$). Последний конформер превышает по энергии глобальный минимум лишь на 1,24 ккал/моль. Таким образом, кристаллической структуре соответствует наихудший по потенциальной энергии расчетный конформер.

Конформация (S)-ДНРА в водном растворе была изучена с помощью метода кругового дихроизма [13]. Хотя применимость этого метода в данном случае довольно ограничена (можно оценить лишь взаимное расположение в пространстве хирального центра и аденинового цикла), тем не менее полученные в этой работе результаты позволяют сделать ряд важных выводов. Во-первых, усредненная во времени конформация относительно N(9)-C(1')-связи соответствует значению φ_1 , близкому к -60° (*анти*-подобная конформация), что совпадает с рентгеноструктурными данными. Во-вторых, в растворе реализуются лишь те конформации, для которых значение φ_3 лежит в пределах от -60° до -180° .

Таким образом, конформеры типа VII-IX не участвуют в равновесии в заметных количествах, хотя именно структура IX отвечает глобальному минимуму конформационного расчета [12]. Этот факт еще раз указывает на неоднократно отмечавшуюся опасность использования различий менее 5 ккал/моль в потенциальной энергии, рассчитанной методами квантовой химии и атом-атомных потенциалов, для интерпретации конформационного поведения малых молекул. Из оставшихся шести типов (табл. 4) наи-

более вероятно присутствие в растворе *анти*-подобных конформеров ($\varphi_1 \sim -60$ и $\sim 0^\circ$) с конформацией диоксипропильного остатка типа I—III.

Возможно, что высокая биологическая активность (*S*)-ДНРА связана не с «закреплением» некоторой жесткой активной геометрии молекулы, а с высокой конформационной подвижностью, позволяющей молекуле с небольшими затратами энергии подстраиваться под геометрию переходного состояния ферментативной реакции.

Экспериментальная часть

(*S*)-ДНРА синтезировали по методике [4]. Использованные для рентгеновской съемки кристаллы (бесцветные прозрачные призмы размером $0,63 \times 0,23 \times 0,06$ мм) получали из насыщенного водного раствора соединения медленным испарением растворителя при $\sim 20^\circ$ С. Пространственная группа кристаллов — $P2_1$, параметры элементарной ячейки: a 5,546(1), b 8,381(1), c 10,119(1) Å, β 91,979(9)°, Z 2. Интенсивности рефлексов и параметры элементарной ячейки измеряли на автоматическом дифрактометре CAD-4F (Enraf-Nonius) с графитовым монохроматором (излучение $\text{Cu } K\alpha$). Съемку проводили методом $\theta/2\theta$ -сканирования в области углов рассеяния 2θ до 150° . Экспериментальные данные скорректированы на факторы Лорентца и поляризации, поглощение образца не учитывалось.

В работе использовали интенсивности 1010 независимых отражений, для которых $I \geq 3\sigma(I)$. Структура решена прямым методом и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов в приближении анизотропного теплового движения атомов. Положение атомов водорода определяли и уточняли по серии разностных синтезов электронной плотности. В расчеты методом наименьших квадратов атомы водорода вводились с фиксированными координатами и изотропными индивидуальными температурными факторами, равными значениям этих факторов для тяжелых атомов, с которыми они ковалентно связаны. Окончательное значение фактора R равно 4,2%.

Все необходимые вычисления проводили по программе «Рентген-75» [14] на ЭВМ БЭСМ-6 в Вычислительном центре АН СССР. Рисунок 1 выполнен по программе «ORTEP II», адаптированной к БЭСМ-6 [15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Крицын А. М., Михайлов С. Н., Флорентьев В. Л. Молекулярн. биология, 1975, т. 9, № 1, с. 121—124.
2. Schaeffer H. J., Beauchamp L., De Miranda P., Elion G. B., Bauer D. J., Collins P. Nature, 1978, v. 272, № 5654, p. 583—585.
3. Orlivie K. K., Cheriyan U. O., Radatus B. K., Smith K. O., Galloway K. S., Kennell W. L. Can. J. Chem., 1982, v. 60, № 15, p. 3005—3010.
4. Крицын А. М., Колобушкина Л. И., Михайлов С. Н., Флорентьев В. Л. Химия гетероцикл. соед., 1975, № 1, с. 125—131.
5. de Clercq E., Holy A. J. Med. Chem., 1979, v. 22, № 2, p. 510—513.
6. Lai T. F., Marsh R. E. Acta crystallogr., 1972, v. B28, № 7, p. 1982—1989.
7. Bunick G., Voet D. Acta crystallogr., 1982, v. B38, № 2, p. 575—580.
8. Ishida T., Miyamoto Y., Nakamura A., Inoue M. Acta crystallogr., 1982, v. B38, № 1, p. 192—195.
9. Takimoto M., Takenaka A., Sasade Y. Bull. Chem. Soc. Japan, 1981, v. 54, № 6, p. 1635—1639.
10. Kennard O., Watson D. G. Molecular structure and dimensions, 1972, v. A1, Netherlands.
11. Marsh R. E., Ramakumar S., Venkatesan K. Acta crystallogr., 1976, v. B32, № 1, p. 66—70.
12. Havlas Z., Hřebabecký H., Beránek J. Nucl. Acids Res., 1980, v. 8, № 24, p. 6233—6238.
13. Крицын А. М., Михайлов С. Н., Мишарин А. Ю., Падюкова Н. Ш., Флорентьев В. Л. Биоорг. химия, 1976, т. 2, № 10, с. 1338—1350.
14. Андрианов В. И., Сафина З. Ш., Гарнопольский Б. Л. «Рентген-75». Автоматизированная система программ для расшифровки структур кристаллов. Черноголовка, 1975.
15. Шенелев Ю. Ф., Смолин Ю. И. Инструкция к программе рисования кристаллических структур (Модификация ORTEP II для БЭСМ-6). Л., 1979.

Поступила в редакцию
10.II.1984

X-RAY STUDY OF ANTIVIRAL COMPOUND (*S*)-9-(2,3-DIHYDROXYPROPYL)
ADENINE

GURSKAYA G. V., DZHAVADOVA G. M., VASILIEV D. G.,
TSILEVICH T. L., ZAVGORODNY S. G., FLORENTIEV V. L.

*Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow*

The molecular and crystal structures of the antiviral compound, (*S*)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenine, was established. The space group is $P2_1$, unit-cell parameters a 5,546(1), b 8,381(1), c 10,119(1), β 91,979(9)°, Z 2. The structure was solved by the direct method and refined by a full-matrix least-squares procedure to R 4,2%. All non-hydrogen atoms of this compound are concentrated in two planes. The first one involves the atoms of the purine moiety and N(6) and C(1'), while the second one accommodates C(2'), C(3'), O(2') and O(3'). The angle between these planes is 54,3°. The conformation of the compound in crystal was compared with that deduced from theoretical analysis.