



УДК 547.792(2+4):548.73

СТРУКТУРА И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ АНАЛОГОВ РИБАВИРИНА

I. МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА
1-(2-ГИДРОКСИЭТОКСИМЕТИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-КАРБОКСАМИДА *

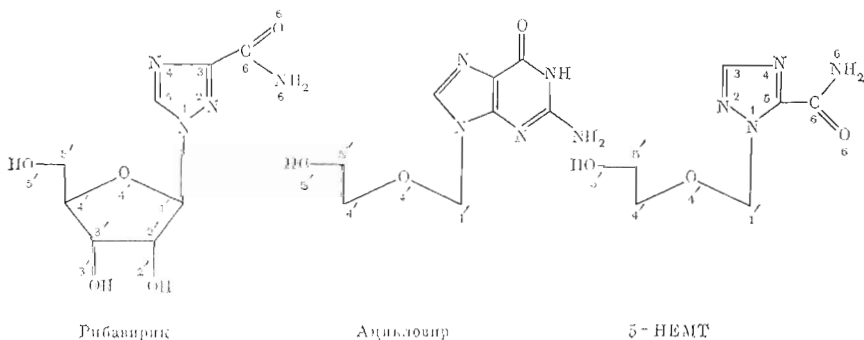
Цапкина Е. Н., Гурская Г. В., Цилевич Т. Л.,
Завгородний С. Г. *, Готтлик В. П., Флорентьев В. Л.

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;
* Всесоюзный научно-исследовательский институт биотехнологии
Министерства медицинской и микробиологической промышленности, Москва

Рентгенографически определена молекулярная и кристаллическая структура противовирусного агента 1-(2-гидроксиэтоксиметил)-1,2,4-триазол-5-карбоксамида. Пространственная группа кристаллов — $P2_1/c$, параметры элементарной ячейки: $a=4,381(1)$, $b=18,679(8)$, $c=10,776(2)$ Å; $\beta=107,40(2)^\circ$; $Z=4$. Структура решена прямым методом и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов до $R=4,9\%$. Карбоксамидная группа повернута на 180° по сравнению с соответствующей группой рибавирина, что сопровождается образованием внутримолекулярной водородной связи $C1'-N1'$. 1...Об. Торсионный угол $O5'-C5'-C4'-O4'$ равен $73,9^\circ$ и соответствует *gash*-ротамеру. В молекуле обнаружена *trans*-конформация относительно связи $O4'-C4'$ и типичная для ряда исследованных ациклических аналогов нуклеозидов приближительная перпендикулярность связи $C1'-O4'$ к плоскости аликона.

В последние годы среди ациклических аналогов нуклеозидов обнаружены высокоэффективные противовирусные агенты, ряд которых уже широко используется в клинической практике [1, 2]. С целью поиска новых противовирусных препаратов нами синтезирована серия ациклических аналогов рибавирина [3, 4] и проведено рентгеноструктурное исследование тереохимических особенностей синтезированных соединений.

Настоящее сообщение посвящено рентгенографическому определению пространственного строения и способа связывания в кристалле молекул 1-(2-гидроксиэтоксиметил)-1,2,4-триазол-5-карбоксамида (5-НЕМТ). Это соединение является антивирусным агентом, подавляющим репродукцию вируса простого герпеса и обладающим значительно меньшим цитотоксическим действием, чем рибавирин [3]. Рентгеноструктурное исследование 5-НЕМТ представляется особенно интересным, поскольку он является одновременно аналогом двух противовирусных агентов — рибавирина [5] и ацикловира [6].



* Корреспонденцию просим адресовать Г. В. Гурской.

Изменение места присоединения карбоксамидной группы в 5-НЕМТ по сравнению с рибавирином приводит к ее повороту на 180° и, следовательно, к другой ориентации относительно связи N1-N2 триазольного цикла.

Модель структуры 5-НЕМТ получена прямым методом и уточнена полноэлектронным методом наименьших квадратов до $R=4,9\%$. Окончательные координаты атомов структуры и их стандартные отклонения приведены в табл. 1. Рассчитанные по этим координатам длины связей и величины валентных углов между неводородными атомами приведены на рис. 1, геометрия ковалентных связей для атомов Н дана в табл. 2. Используемая в работе (рис. 1) нумерация атомов принята для удобства сравнения аналогичной нуклеозидной.

При сравнении длин связей и величин валентных углов в триазольном кольце молекулы 5-НЕМТ со значениями соответствующих величин в молекуле рибавирина [5] видно, что большинство из них в пределах $\sigma-3\sigma$ совпадают. Исключение составляют связь C3-N4, укороченная в

Таблица 1

Относительные координаты ($\times 10^4$ для С, N, O и $\times 10^3$ для Н) атомов в структуре 5-НЕМТ*

Атом	x/a	y/b	z/c	Атом	x/a	y/b	z/c
N1	-208(4)	1554(1)	2336(1)	O5'	4355(4)	1623(1)	7397(1)
N2	1168(4)	1994(1)	1660(1)	HN6.1	-201(15)	-30(3)	87(6)
C3	1359(5)	1589(1)	689(2)	HN6.2	-295(12)	-81(3)	177(5)
N4	225(4)	922(1)	693(1)	H3	231(10)	177(2)	1(4)
C5	-751(4)	910(1)	1745(2)	Н1'.1	-264(11)	150(3)	367(4)
O6	-3287(4)	334(1)	3126(1)	Н1'.2	-156(10)	234(2)	332(4)
C6	-2227(4)	280(1)	2199(2)	Н4'.1	407(11)	88(3)	463(5)
N6	-2282(4)	-307(1)	1531(2)	Н4'.2	133(11)	88(3)	532(4)
C1'	-805(5)	1829(1)	3528(2)	Н5'.1	737(11)	170(3)	628(5)
O4'	1972(3)	1857(1)	4558(1)	Н5'.2	697(10)	88(2)	685(4)
C4'	3053(5)	1484(1)	5176(2)	НО5'	319(13)	210(3)	708(5)
C5'	5593(5)	1338(1)	6410(2)				

* В скобках здесь и в других таблицах приведены стандартные отклонения.

Таблица 2

Длины связей и величины валентных углов в молекуле 5-НЕМТ для ковалентных связей с атомами водорода

Связь	Длина связи, Å	Связь	Длина связи, Å
C3-N3	1,00(5)	C4'-Н4'.1	1,01(5)
N6-HN6.1	0,76(7)	C4'-Н4'.2	0,99(5)
N6-HN6.2	1,04(6)	C5'-Н5'.1	1,07(5)
C1'-Н1'.1	1,06(5)	C5'-Н5'.2	1,07(4)
C1'-Н1'.2	1,01(4)	O5'-НО5'	1,03(6)

Угол	Величина угла, град	Угол	Величина угла, град
N2-C3-N3	122(2)	O4'-C4'-H4'.2	114(2)
N4-C3-N3	123(2)	C5'-C4'-H4'.1	107(2)
C6-N6-HN6.1	121(4)	C5'-C4'-H4'.2	112(2)
C6-N6-HN6.2	126(3)	Н4'.1-C4'-H4'.2	105(4)
HN6.1-N6-HN6.2	113(5)	C4'-C5'-H5'.1	113(2)
N1-C1'-H1'.1	105(3)	C4'-C5'-H5'.2	114(2)
N1-C1'-H1'.2	105(2)	O5'-C5'-H5'.1	108(3)
O4'-C1'-H1'.1	116(2)	O5'-C5'-H5'.2	105(3)
O4'-C1'-H1'.2	107(2)	Н5'.1-C5'-H5'.2	103(3)
Н1'.1-C1'-H1'.2	112(4)	C5'-O5'-НО5'	110(3)
O4'-C4'-H4'.1	111(3)		

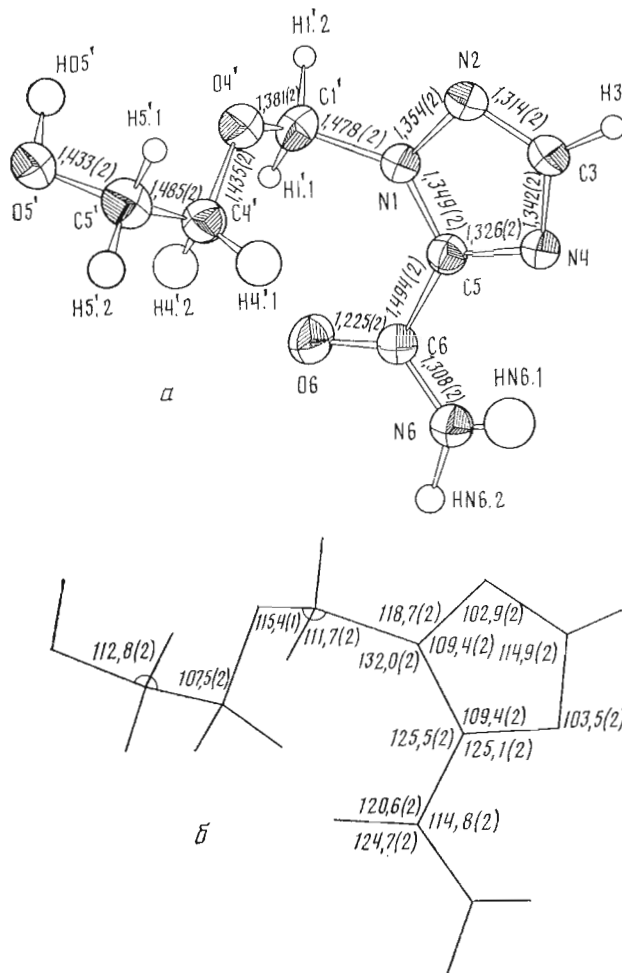


Рис. 1. Строение молекулы 5-НЕМТ с указанием межатомных расстояний, Å (а) и валентных углов, град (б). Атомы О, N, С изображены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью, атомы Н — сферами, радиусы которых пропорциональны их изотропным температурным факторам

5-НЕМТ примерно на 5σ , и валентные углы C3–N4–C5 и N4–C5–N1, первый из которых увеличен на 7σ , а второй уменьшен на 4σ . Вышеуказанная деформация триазольного цикла сопровождается увеличением примерно на 10σ экзоциклических углов N4–C5–C6 и N1–C5–C6 по сравнению с экзоциклическими углами при атоме C3 в рибавирине. Однако сумма всех валентных углов при этих атомах остается постоянной (360°).

В карбоксамидной группе длины связей близки к соответствующим значениям в молекуле рибавирина. То же самое можно сказать и о валентных углах, за исключением угла C5–C6–N6, который уменьшен на $\sim 5\sigma$ по сравнению с углом C3–C6–N6 рибавирина. Подобное искажение углов в карбоксамидной группе, по-видимому, вызвано действующей в кристалле 5-НЕМТ системой водородных связей. Так, если в структуре рибавирина в образовании водородных связей участвует лишь один из двух атомов водорода N6H₂-группы, то в структуре 5-НЕМТ реализован принцип насыщения водородных связей.

Длина псевдогликозидной связи N1–C1' попадает в интервал значений, наблюдаемых в структурах рибавирина [5] и ацикловира [6]. Ориентация псевдогликозидной связи относительно основания менее симметрична, чем в ацикловира. Разница между экзоциклическими углами для 5-НЕМТ равна $13,3^\circ$ и приближается к величине, наблюдаемой в ри-

бавирине (11,9°), но значительно отличается от среднего значения этой величины, имеющего место в структуре ацикловира (1,5°).

Геометрия ациклического заместителя, имитирующего часть углеводного цикла, в пределах σ -3 σ согласуется с данными, полученными для структуры ацикловира. Исключение составляют валентные углы C1'-O4'-C4' и O4'-C4'-C5'. Первый из них больше на ~10 σ , а второй меньше на 7 σ аналогичных углов в оксиэтоксиметильной группе ацикловира. Деформация названных углов может быть вызвана упаковочными факторами, присутствием в структуре 5-НЕМТ укороченных контактов O4'...C3 (3,190 Å).

К конформационным особенностям 5-НЕМТ можно отнести существование в молекуле двух плоских группировок атомов (табл. 3), отличную от рибавирина ориентацию карбоксамидной группы относительно N1-N2-связи триазольного цикла и наличие внутримолекулярной водородной связи.

Первую плоскую группировку образуют атомы кольца триазола и атомы C6 и C1', вторую — атомы C5, C6, O6 и N6. Угол между плоскостями 1 и 2 составляет 5,6°. Заметим, что в одной из полиморфных форм рибавирина карбоксамидная группа лежит в плоскости основания, а в другой — под углом 15°. Кроме того, в молекуле 5-НЕМТ карбоксамидная группа повернута на 180° по сравнению с рибавирином и, следовательно, иначе ориентирована относительно связи N1-N2. Это в свою очередь создало благоприятные стерические возможности для образования внутримолекулярной водородной связи C1'-N1'...O6 (табл. 4).

Переходя к анализу конформации ациклического фрагмента углеводного цикла, прежде всего отметим, что здесь реализована конформация, характерная для молекул А и В в структуре ацикловира [6]. Напомним, что при сравнении конформации молекул из centrosимметричных кристаллических структур во внимание принимаются прежде всего абсолютные значения торсионных углов, так как в элементарной ячейке присутствуют одновременно два типа конформеров с равными по величине и противоположными по знакам торсионными углами. Знаки торсионных углов,

Таблица 3

Уравнения среднеквадратичных плоскостей, проведенных через атомы, отмеченные звездочками, и отклонения атомов от них

Атом	Отклонение, Å	Атом	Отклонение, Å
Плоскость 1: $-3,413x + 5,783y - 3,095z = 0,242$			
N1*	-0,004	C6*	0,001
N2*	0,002	N6	0,115
C3*	0,000	O6	-0,105
N4*	0,000	C1'*	0,002
C5*	0,000	O4'	1,252
Плоскость 2: $3,252x - 4,789y + 3,973z = 0,014$			
C5*	0,001	N6*	0,001
C6*	-0,002	O6*	0,001

Таблица 4

Геометрические параметры водородных связей

Атом-донор (Д)	Атом-акцептор (А)	Расстояние, Å		Угол Д...А, град
		Д...А	Н...А	
N6 (x, y, z)	N4 ($\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$)	3,028	2,36	147
N6 (x, y, z)	O5' ($\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}+1$)	2,971	1,96	165
O5' (x, y, z)	N2 ($x, y^{-1/3}, z+1/2$)	2,931	1,90	175
C1' (x, y, z)	O6 (x, y, z)	2,981	2,25	124

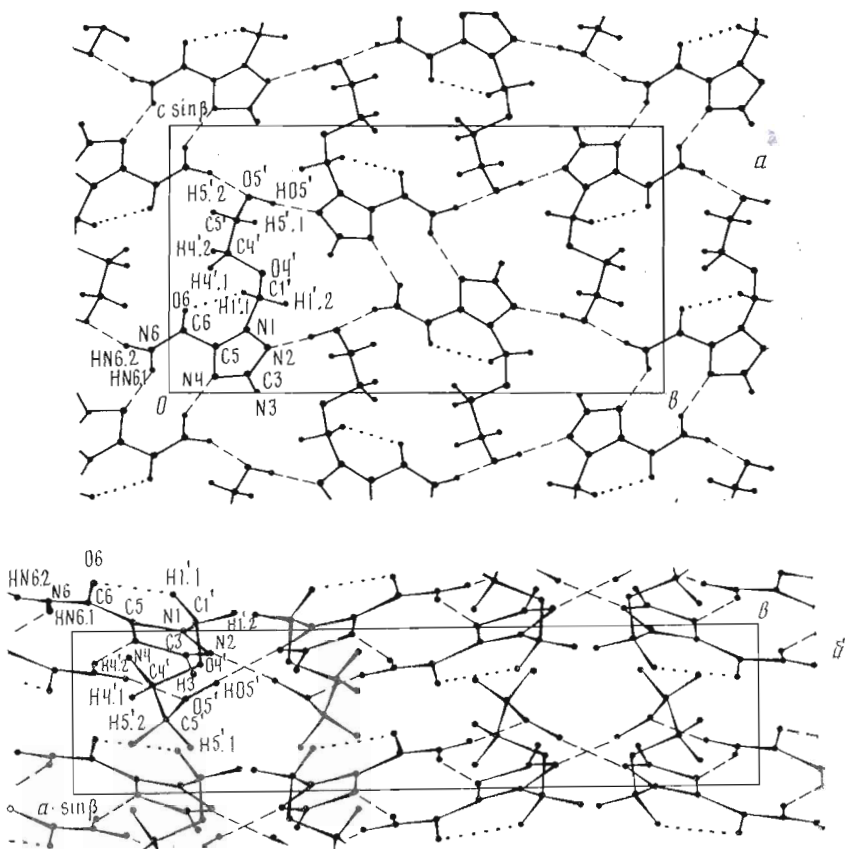


Рис. 2. Упаковка молекул 5-НЕМТ в кристаллической структуре. Вид вдоль осей a (a) и c (b). Межмолекулярные водородные связи изображены штриховыми линиями, внутримолекулярные — пунктирными

приведенные в настоящем сообщении, соответствуют конформеру, представленному на рис. 1. Торсионный угол $O5'-C5'-C4'-O4'$ в молекуле 5-НЕМТ равен $73,9^\circ$ и соответствует *gosh*-ротамеру. Эта конформация наиболее стабильна, чаще реализуется в кристаллических структурах и, по-видимому, более предпочтительна для раствора, чем *trans*-конформация, обнаруженная в молекуле С ацикловира [6]. Наблюдаемая в молекуле 5-НЕМТ *trans*-конформация относительно связи $O4'-C4'$ (угол $C1'-O4'-C4'-C5'$ равен $-167,9^\circ$) встречается во всех трех кристаллографически независимых молекулах ацикловира. В заключение отметим, что в молекуле 5-НЕМТ обнаружена типичная для ряда исследованных ациклопуклеозидов перпендикулярность $C1'-O4'$ -связи к агликону. Торсионные углы $N2-N1-C1'-O4'$ и $C5-N1-C1'-O4'$ приближаются к характерному значению $90 \pm 20^\circ$ [6, 7] и равны соответственно $-76,2$ и $103,0^\circ$.

На рис. 2 a, b показана упаковка молекул 5-НЕМТ в кристаллическую структуру. Каждая молекула 5-НЕМТ в кристалле выступает одновременно как в роли донора, так и в роли акцептора четырех водородных связей, одна из которых ($C1'-N1 \dots O6$) является внутримолекулярной. Геометрические параметры водородных связей приведены в табл. 4. Видно, что в образовании межмолекулярных водородных связей участвуют все атомы Н, валентно связанные с атомами О и N, и в этом смысле в структуре реализован принцип насыщения водородных связей. В результате молекулы 5-НЕМТ в кристалле оказываются объединенными $N-H \dots N$ -, $O-H \dots N$ - и $N-H \dots O$ -водородными связями в бесконечные гофрированные слои, параллельные плоскости ac (рис. 2а). Кроме того, в слоях обнаружены укороченные контакты между атомами $C3$ и $O4'$ молекул, симметрично связанных плоскостями скользящего отражения. Геометрия этих контактов следующая: расстояние $C3 \dots O4'$ составляет $3,190 \text{ \AA}$, угол $C3-N3 \dots O4'$ равен 117° , расстояние $N3 \dots O4'$ равно

2,61 Å. Последнее значение приближается к сумме ван-дер-ваальсовых радиусов атомов О и Н и превышает величину соответствующих расстояний в водородных связях. Укладка отдельных слоев в трехмерный кристалл осуществляется за счет сил Ван-дер-Ваальса (рис. 2б).

Экспериментальная часть

5-НЕМТ синтезирован по методу [3]. Кристаллы выращены из насыщенного раствора 5-НЕМТ в этаноле медленным испарением растворителя при $\sim 20^\circ\text{C}$. Кристаллы моноклинные, пространственная группа — $P2_1/c$, параметры элементарной ячейки: $a=4,381(1)$, $b=18,679(8)$, $c=10,776(2)$ Å, $\beta=107,40(2)^\circ$, $V=841,5(1)$ Å³, $Z=4$ (C₈H₁₀N₄O₃). Параметры элементарной ячейки и интенсивности 1225 независимых отражений измерены на четырехкружном автоматическом дифрактометре САД-4Г (Enraf-Nonius) ($\theta/2\theta$ -сканирование, МоК α -излучение, графитовый монохроматор). Экспериментальные данные скорректированы на факторы Лоренца и поляризации.

Структура расшифрована прямым методом и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для неводородных атомов. Позиционные параметры атомов водорода определены по серии разностных связей Фурье и уточнены методом наименьших квадратов в изотропном приближении. Окончательное значение фактора расходимости $R=4,9\%$ по 1485 рефлексам с $I \geq 3\sigma(I)$.

Все необходимые вычисления проведены по программе «Рентген-75» [8] на ЭВМ БЭСМ-6 в Вычислительном центре АН СССР. Рисунок молекулы выполнен по программе «ORTEP II», адаптированной к БЭСМ-6 [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Chu C. K., Culter S. J. // J. Heterocycl. Chem. 1986. V. 23. № 2. P. 289–319.
2. Martin J. C., Dvorak Ch. A., Smee D. F., Matthews T., Verheyden J. P. H. // J. Med. Chem. 1983. V. 26. № 5. P. 759–761.
3. Галегов Г. А., Линицкая Г. Л., Кройча Ю. Г., Цилевич Т. Л., Завгородний С. Г., Флорентьев В. Л. 1-(2-Оксиэтоксиметил)-1,2,4-триазол-5-карбоксаимид, обладающий активностью против вируса герпеса. А. с. 1124559 СССР // Б. И. 1986. № 25. С. 277.
4. Цилевич Т. Л., Завгородний С. Г., Маркс У., Ионова Л. В., Флорентьев В. Л. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 6. С. 819–827.
5. Prusiner P., Sundaralingam M. // Acta crystallogr. 1976. V. B32. № 2. P. 419–426.
6. Birnbaum G. I., Cygler M., Shugar D. // Can. J. Chem. 1984. V. 62. № 12. P. 2646–2651.
7. Гурская Г. В., Джавадова Г. М., Васильев Д. Г., Цилевич Т. Л., Завгородний С. Г., Флорентьев В. Л. // Биоорг. химия. 1984. Т. 10. № 10. С. 1414–1420.
8. Андрианов В. И., Сафина З. Ш., Тарнопольский Б. А. «Рентген-75». Автоматизированная система программ для расшифровки структур кристаллов. Черноголовка, 1975.
9. Шепелев Ю. Ф., Смолин Ю. И. Инструкция к программе рисования кристаллических структур. (Модификация ORTEP-II для БЭСМ-6). Л., 1979.

Поступила в редакцию

28.I.1988

После доработки

15.III.1988

STRUCTURE AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF RIBAVIRIN ANALOGUES. I. THE MOLECULAR AND CRYSTAL STRUCTURE OF 1-(2-HYDROXYETHOXYMETHYL)-1,2,4-TRIAZOLE-5-CARBOXAMIDE

TSAPKINA E. N., GURSKAYA G. V. *, TSILEVICH T. L., ZAVGORODNY S. G. *,
ГОТКИН В. Р., ФЛОРЕНТИЕВ В. Л.

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR:

** All-Union Research Institute of Biotechnology, Moscow*

The crystal and molecular structures of the antiviral compound 1-(2-hydroxyethoxy-methyl)-1,2,4-triazole-5-carboxamide has been determined by the X-ray diffraction method. The space group is $P2_1/c$, unit cell parameters $a=4,381(1)$, $b=18,679(8)$, $c=10,776(2)$ Å, $\beta=107,40(2)^\circ$, $Z=4$. The structure was solved by the direct method and refined by a full-matrix least-squares procedure to $R=4,9\%$. Two planar groups of atoms can be distinguished in the molecule. The first group involves the atoms of triazole ring, C6, and C1', the second one contains C5, C6, O6 and N6 atoms. The angle between these planes is $5,6^\circ$. The carboxyamide group is rotated by 180° in comparison with this group in ribavirin. That is why the intramolecular hydrogen bond C1'—H1'...O6 can form. Torsion angle O5'—C5'—C4'—O4' is $73,9^\circ$ and it corresponds to *gauche*-rotamer. The conformation about O4'—C4' bond is *trans*. The C1'—C4' bond is approximately perpendicular to the aglycone.