



УДК 577.323.3

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА
1-(2,6-ДИДЕЗОКСИ- α -L-ТНКСО-ГЕКСОФУРАНОЗИЛ)-
ТИМИНА (5'-С-МЕТИЛТИМИДИНА)Джавадова Г. М., Гурская Г. В.*, Падюкова Н. Ш.,
Михайлов С. Н.Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта
Академии наук СССР, Москва

Установлена молекулярная и кристаллическая структура «полного» аналога дезоксирибонуклеозида — 1-(2,6-дидезокси- α -L-липсо-гексофуранозил)тимина (5' Me-Thd). Пространственная группа кристаллов — $P2_12_1$, параметры элементарной ячейки: $a = 5,532(1)$, $b = 14,081(2)$, $c = 15,758(2)$ Å, $V = 1227,5$ Å³, $Z = 4$. Структура решена прямым методом и уточнена методом наименьших квадратов до $R = 2,7\%$.

Обнаружена конформационная идентичность молекул 5' Me-Thd с ранее исследованными молекулами рибонуклеозидов — 1-(6-дезокси- β -D-аллофуранозил)цитозина и 1-(6-дезокси- α -L-талофуранозил)цитозина. В этих трех соединениях реализована *анти*-конформация вокруг гликозидной связи, C2'-*эндо*-C3'-*экзо*-изгиб сахара и *gosh*⁺-конформация относительно экзоциклической C4' — C5'-связи. Это свидетельствует об относительной жесткости строения молекул 5'-С-метилпиримидиннуклеозидов и возможной предпочтительности найденных в кристаллах конформаций и для раствора.

Основные конформационные параметры молекулы 5' Me-Thd имеют следующие значения: $\chi = -129,8^\circ$, $\varphi_{OO} = -61,1^\circ$, $\varphi_{CO} = 58,3^\circ$, $P = 169,9^\circ$, $\psi_m = 36,4^\circ$.

Настоящая работа продолжает серию рентгенографических исследований функционально компетентных аналогов нуклеозидов, сохраняющих все функциональные группы природных соединений, их конфигурацию и расстояние между ними [1—5]. Ранее нами была установлена конформационная идентичность 5'-С-метилцитидинов *D-алло*- и *L-тало*-ряда [1, 4] (5' Me-*a*Cyd и 5' Me-*t*Cyd). Следует отметить, что ферменты биосинтеза нуклеиновых кислот дискриминируют диастереомеры 5'-С-метилнуклеозидов и их фосфорных эфиров. Это обуславливает их широкое применение для изучения специфичности и механизма действия этих ферментов [6—10].

В данном сообщении рассматривается структура 5'-С-метилзамещенного дезоксирибонуклеозида, а именно 1-(2,6-дидезокси- α -L-липсо-гексофуранозил)тимина (5'-С-метилтимидин, 5' Me-Thd), конфигурация при атоме C5' которого аналогична конфигурации в 5' Me-*t*Cyd. Строение молекулы 5' Me-Thd и использованная нумерация атомов приведены на рис. 1. Длины валентных связей и величины валентных углов представлены в табл. 1. Точность определения (σ) длин связей между атомами С, N, O составляет $\sim 0,003$ — $0,005$ Å, валентных углов — $0,2$ — $0,3^\circ$.

Длины связей и значения валентных углов тиминового основания исследуемого аналога хорошо согласуются с соответствующими значениями этих величин в структурах природного тимидина [11] и 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (AZT) [12]. Однако надо отметить экзоциклические валентные углы C2—N1—C1' и C6—N1—C1', которые близки по величинам к аналогичным углам в молекуле AZT-1 [12], но отличаются от углов в молекулах AZT-2 [12] и природного тимидина [11]. Различие составляет $1,8$ и $1,7^\circ$ соответственно. Это связано с тем, что величины гликозидных торсионных углов (C2—N1—C1'—O4') в 5' Me-Thd ($-129,8^\circ$) и AZT-1 ($-125,4^\circ$) [12] несколько отличаются от значений этих углов в молекулах AZT-2 ($-172,0^\circ$) [12] и природного тимидина ($-139,4^\circ$) [11].

* Корреспонденцию просим адресовать Г. В. Гурской.

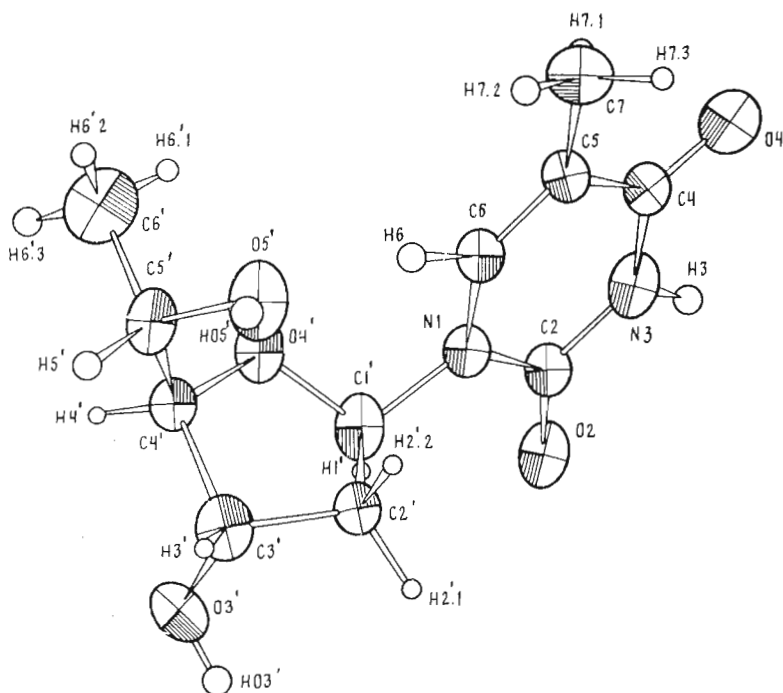


Рис. 1. Молекула 5'-Me-Thd. Атомы O, N, C изображены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью, атомы H — сферами, радиусы которых пропорциональны их изотропным тепловым параметрам

Но при этом величины χ для всех четырех молекул попадают в основной интервал значений углов χ ($-172^\circ \leq \chi \leq -82^\circ$), установленный на основании структурных данных 138 аналогов уридина из Кембриджского кристаллографического банка данных [13].

Приведенные выше значения углов χ соответствуют *анти*-ориентации плоскостей тиминовых оснований и дезоксирибозных циклов. Кроме того, в молекулах 5'-Me-Thd и AZT-1 [12] с близкими по величине углами χ *анти*-конформация дополнительно стабилизируется внутримолекулярными водородными связями типа C6-H...O5'. Напомним, что в исследованных нами диастереомерах 5'-Me-*a*Cyd и 5'-Me-*t*Cyd [1, 4] реализована также *анти*-конформация относительно гликозидной связи с углами χ , соответственно равными $-122,0$ и $-119,0^\circ$.

В структуре 5'-Me-Thd пиримидиновое основание приблизительно плоское (плоскость 1, табл. 2). Однако отклонения атомов от плоскости 1 имеют более высокие значения, чем у природного тимидина [11]. Наибольшие отклонения наблюдаются для атома N1, связанного с атомом C1' остатка сахара, и атома C4, ковалентно связанного с атомом O4, участвующим в межмолекулярных водородных связях. Значительно отклонены также экзоциклические атомы. Более совершенную плоскость образуют атомы C2, N3, C5, C6 (плоскость 2, табл. 2). Атомы N1 и C4 располагаются по одну сторону от этой плоскости.

Замена водорода у атома C5' на метильную группу в 5'-Me-Thd приводит к изменению конформации дезоксирибозного цикла в пределах *S*-популяции. В исследуемом аналоге конформация сахара — 2T_3 , (C2'-*эндо*-C3'-*экзо*), в природном тимидине — 3T_2 [11]. Здесь же отметим, что введение метильных заместителей в 5'-Me-*a*Cyd и 5'-Me-*t*Cyd [1, 4] также сопровождается изменением конформации рибозы. Она оказывается идентичной конформации дезоксирибозного фрагмента в 5'-Me-Thd и отличается от 3T_2 -конформации рибозы природного цитидина [14].

В терминах псевдowращения [15] изгиб дезоксирибозного цикла 5'-Me-Thd описывается фазовым углом псевдowращения (*P*), равным $169,9^\circ$. Максимальная амплитуда псевдowращения ψ_m равна $36,4^\circ$. Атомы C2' и

Длины связей и размеры валентных углов в молекуле 5'-Me-Thd *

Связи	Длина, Å	Связи	Длина, Å
N1—C2	1,376(3)	C1'—C2'	1,512(3)
C2—N3	1,373(3)	C2'—C3'	1,520(3)
C2—O2	1,217(2)	C3'—C4'	1,528(3)
N3—C4	1,378(3)	C3'—O3'	1,418(3)
C4—O4	1,226(3)	C4'—O4'	1,449(3)
C4—C5	1,446(3)	O4'—C1'	1,430(2)
C5—C6	1,339(3)	C4'—C5'	1,518(3)
C5—C7	1,502(3)	C5'—O5'	1,431(3)
C6—N1	1,386(3)	C5'—C6'	1,512(4)
N1—C1'	1,461(3)		
Валентные углы	град	Валентные углы	град
C2—N1—C6	121,6(2)	N1—C1'—C2'	115,6(2)
C2—N1—C1'	118,4(2)	N1—C1'—O4'	107,5(2)
C6—N1—C1'	119,9(2)	O4'—C1'—C2'	106,2(2)
N1—C2—N3	114,3(2)	C1'—C2'—C3'	101,4(2)
N1—C2—O2	123,8(2)	C2'—C3'—C4'	103,5(2)
N3—C2—O2	121,9(2)	C2'—C3'—O3'	111,5(2)
C2—N3—C4	127,2(2)	C4'—C3'—O3'	106,5(2)
N3—C4—C5	115,6(2)	C3'—C4'—O4'	105,1(2)
N3—C4—O4	118,5(2)	C3'—C4'—C5'	115,7(2)
C5—C4—O4	126,0(2)	O4'—C4'—C5'	110,6(2)
C4—C5—C6	118,0(2)	C4'—O4'—C1'	110,1(2)
C4—C5—C7	118,7(2)	C4'—C5'—O5'	109,3(2)
C6—C5—C7	123,3(2)	C4'—C5'—C6'	111,6(2)
C5—C6—N1	123,1(2)	O5'—C5'—C6'	110,1(2)
Связи	Длина, Å	Связи	Длина, Å
N3—HN3	0,94(3)	C3'—H3'	1,00(2)
C7—H7.1	1,04(3)	O3'—HO3'	0,89(3)
C7—H7.2	1,08(3)	C4'—H4'	1,04(2)
C7—H7.3	0,96(3)	C5'—H5'	1,04(3)
C6—H6	1,06(2)	O5'—HO5'	0,97(4)
C1'—H1'	1,00(2)	C6'—H6'.1	1,05(4)
C2'—H2'.1	1,09(2)	C6'—H6'.2	1,05(4)
C2'—H2'.2	0,99(2)	C6'—H6'.3	0,98(4)
Валентные углы	град	Валентные углы	град
C2—N3—HN3	115(2)	C2'—C3'—H3'	112(1)
C4—N3—HN3	118(2)	C4'—C3'—H3'	111(1)
C5—C7—H7.1	109(2)	O3'—C3'—H3'	112(1)
C5—C7—H7.2	110(2)	C3'—O3'—HO3'	112(2)
C5—C7—H7.3	112(2)	C3'—C4'—H4'	111(1)
H7.1—C7—H7.2	103(2)	O4'—C4'—H4'	106(1)
H7.1—C7—H7.3	109(2)	C5'—C4'—H4'	108(1)
H7.2—C7—H7.3	113(2)	C4'—C5'—H5'	107(1)
C5—C6—H6	125(1)	O5'—C5'—H5'	110(2)
N1—C6—H6	112(1)	C6'—C5'—H5'	109(2)
N1—C1'—H1'	105(1)	C5'—O5'—HO5'	111(2)
C2'—C1'—H1'	112(1)	C5'—C6'—H6'.1	103(2)
O4'—C1'—H1'	110(1)	C5'—C6'—H6'.2	109(1)
C1'—C2'—H2'.1	115(1)	C5'—C6'—H6'.3	106(2)
C1'—C2'—H2'.2	108(1)	H6'.1—C6'—H6'.2	112(3)
C3'—C2'—H2'.1	117(1)	H6'.1—C6'—H6'.3	113(3)
C3'—C2'—H2'.2	110(1)	H6'.2—C6'—H6'.3	113(3)
H2'.1—C2'—C2'.2	106(2)		

* В скобках приведены стандартные отклонения (\pm).

Отклонения атомов (\AA) и коэффициенты среднеквадратичных плоскостей вида $AX + BY + CZ = D$, проведенных через атомы, отмеченные звездочкой

Атом	Плоскость 1	Плоскость 2	Плоскость 3	Атом	Плоскость 1	Плоскость 2	Плоскость 3
N1	0,027 *	0,043		C1'	0,165	0,185	0,000 *
C2	-0,018 *	-0,004 *		C2'			0,446
N3	-0,007 *	0,004 *		C3'			-0,139
C4	0,022 *	0,030		C4'			0,000 *
C5	-0,014 *	-0,004 *		O4'			0,000 *
C6	-0,010 *	0,004 *		C5'			1,229
O2	-0,078	-0,062		A	-3,328	-3,326	4,211
O4	0,060	0,064		B	8,196	8,224	-5,855
C7	-0,052	0,044		C	8,622	8,592	7,841
				D	8,735	8,744	4,580

C3' располагаются по разные стороны от плоскости атомов C1', O4', C4' на расстояниях 0,446 и 0,139 \AA (плоскость 3, табл. 2).

Аналогичные значения параметров псевдповращения рибозы обнаружены в структуре 5'Me-tCyd ($P = 169,9^\circ$ и $\psi_m = 36,2^\circ$) и очень близкие величины — в структуре 5'Me-aCyd ($P = 171,5^\circ$ $\psi_m = 35,6^\circ$) [4].

Таким образом, введение метильного заместителя в 5'-положение пиримидиновых нуклеозидов приводит в кристаллах к определенной конформации фуранозного цикла, а именно C2'-эндо-C3'-экзо, независимо от природы сахара. Очень вероятно, что эта конформация фуранозы вообще энергетически наиболее выгодна для молекул 5'-С-метилпиримидин-нуклеозидов.

В исследуемом аналоге 5'Me-Thd, как и в соединениях 5'Me-aCyd и 5'Me-tCyd, изменение конформации углеводного остатка по сравнению

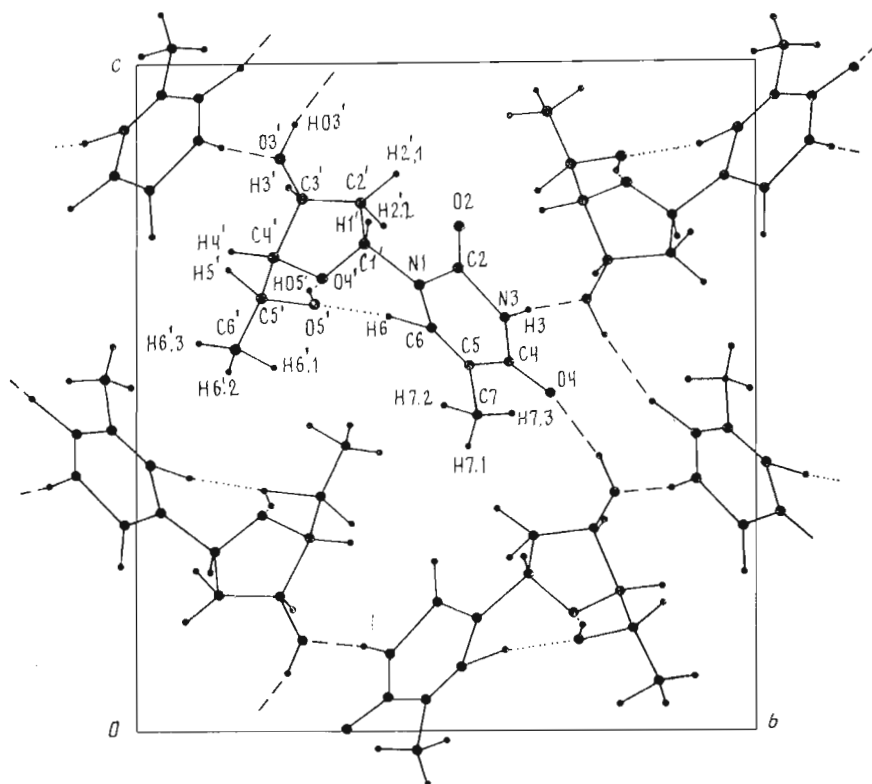


Рис. 2. Проекция структуры 5'Me-Thd вдоль оси a . Штриховые линии — межмолекулярные водородные связи, пунктирные — внутримолекулярные

Геометрические параметры водородных связей

Атом-донор (Д)	Атом-акцептор (А)	Расстояние, Å		Угол, град Д—Н...А
		Д—А	Н—А	
N3 (x, y, z)	O3' ($1-x; 0,5+y, 1,5-z$)	2,822	1,89	172
O3' (x, y, z)	O4 ($0,5-x; 1-y; 0,5+z$)	2,704	1,81	177
O5' (x, y, z)	O4' ($x-1, y, z$)	2,806	1,85	166
C6 (x, y, z)	O5' (x, y, z)	3,295	2,25	165

с природными нуклеозидами влечет за собой уменьшение эндоциклического угла $C1'-C2'-C3'$ и возрастание соседнего угла $C2'-C3'-C4'$. Кроме того, в 5'Me-Thd имеет место увеличение углов $C4'-C5'-O5'$ и $C5'-C4'-C3'$ на $1,7$ и $2,4^\circ$ соответственно. Эти изменения углов могут быть связаны с различием конформаций молекул 5'Me-Thd и природного тимидина относительно экзоциклической связи $C4'-C5'$. Конформация нашего аналога — *gosh*⁺, углы φ_{OO} ($O4'-C4'-C5'-O5'$) и φ_{CO} ($C3'-C4'-C5'-O5'$) имеют значения $-61,1$ и $58,3^\circ$; в природном тимидине $\varphi_{OO} = 56,1^\circ$ и $\varphi_{CO} = 172,8^\circ$, что соответствует *транс*-конформации [11].

Аналогичную с 5'Me-Thd конформацию вокруг $C4'-C5'$ -связи имеют молекулы диастереомеров 5'Me-aCyd и 5'Me-tCyd [1, 2].

Остальные длины связей и величины валентных углов дезоксирибозного фрагмента изучаемого соединения обнаруживают согласованность в пределах $\sigma-3\sigma$ с данными работы [11, 12].

Итак, в структуре дезоксирибонуклеозида 5'Me-Thd реализуются одинаковые с рибонуклеозидами 5'Me-aCyd и 5'Me-tCyd конформации:

- 1) вокруг гликозидной связи (*анти*);
- 2) относительно экзоциклической связи $C4'-C5'$ (*gosh*⁺);
- 3) $C2'$ -эндо- $C3'$ -экзо-конформация фуранозного цикла.

На рис. 2 схематически изображена укладка молекул 5'Me-Thd в кристалл, в котором действует трехмерная сетка водородных связей. В Н-связи включены те атомы N и O тиминового основания, которые обычно участвуют в уотсон-криковских парах, и все атомы кислорода углеводного остатка. Кроме того, как отмечалось выше, в структуре имеется внутримолекулярная $C6-N \dots O5'$ -водородная связь. Геометрические параметры Н-связей приведены в табл. 3.

Экспериментальная часть

5'Me-Thd синтезирован по методике, использованной ранее для получения соответствующего уридинового аналога [16]. Кристаллы для рентгеновской съемки выращены охлаждением водного раствора соединения от комнатной температуры до 5°C . Пространственная группа кристаллов — $P2_12_12_1$, параметры элементарной ячейки: $a = 5,532(1)$; $b = 14,081(2)$; $c = 15,758(2)$ Å; $V = 1227, 5$ Å³; $Z = 4(\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5)$.

Параметры элементарной ячейки и интенсивности трехмерного набора отражений измерены на четырехкружном автоматическом дифрактометре САД-4F (ω/θ -сканирование, $\text{MoK}\alpha$ -излучение, графитовый монохроматор). Экспериментальные данные скорректированы на факторы Лорентца и поляризации, поглощение образца не учитывали.

В структурном исследовании использованы интенсивности 1363 независимых рефлексов с $I \geq 2\sigma(I)$. Структура решена прямым методом по программе «SHELX-76» и уточнена полноматричным МНК в анизотропном приближении для неводородных атомов (для Н в изотропном). Положения атомов Н определены из разностного синтеза Фурье.

Окончательное значение фактора расходимости $R = 2,7\%$. Координаты атомов представлены в табл. 4.

Все необходимые вычисления проведены по программам «SHELX-76» и «Рентген-75». Рисунок 1 выполнен по программе «ORTEP», адаптированной к БЭСМ-6.

Относительные координаты атомов в структуре 5'Me-Thd
(для атомов C, N, O $\times 10^4$, для H $\times 10^3$)

АТОМ	x/a	y/b	z/c	АТОМ	x/a	y/b	z/c
N1	2653(3)	4592(1)	6759(1)	HN3	590(5)	637(2)	637(2)
C2	4473(4)	5240(1)	6898(1)	H7.1	-120(6)	618(2)	479(2)
N3	4644(4)	5935(1)	6290(1)	H7.2	-210(6)	506(2)	488(2)
C4	3192(4)	6050(2)	5587(1)	H7.3	26(6)	538(2)	424(2)
C5	1226(4)	5379(2)	5508(1)	H6	-34(5)	417(2)	61(2)
C6	1047(4)	4690(2)	6089(1)	H1'	405(4)	377(1)	764(1)
O2	5819(3)	5217(1)	7509(1)	H2'.1	49(4)	417(1)	847(1)
O4	3641(4)	6702(1)	5097(1)	H2'.2	-107(5)	400(2)	758(2)
C7	-506(6)	5488(2)	4780(2)	H3'	-171(4)	251(2)	818(2)
C1'	2489(4)	3768(1)	7319(1)	H4'	165(4)	163(2)	725(1)
C2'	314(5)	3744(1)	7900(1)	H5'	-253(5)	157(2)	688(2)
C3'	-12(4)	2682(2)	8029(1)	HO3'	158(7)	262(2)	912(2)
C4'	673(4)	2261(1)	7169(1)	HO5'	-445(7)	282(2)	651(2)
O4'	2318(3)	2942(1)	6794(1)	H6'.1	53(7)	218(2)	549(2)
O3'	1671(4)	2318(1)	8625(1)	H6'.2	45(8)	102(2)	587(2)
C5'	-1417(5)	2057(2)	6572(2)	H6'.3	-200(7)	152(2)	540(2)
O5'	-2724(3)	2917(1)	6419(1)				
C6'	-553(7)	1638(3)	5742(2)				

Авторы благодарят А. С. Жданова за помощь в проведении эксперимента и расчетов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gurskaya G. V., Zhdanov A. S., Mikhailov S. N., Tsapkina E. N. // Cryst. Struct. Commun. 1982. V. 11. № 4A. P. 1245—1252.
2. Gurskaya G. V., Javadova G. M., Mikhailov S. N. // Cryst. Struct. Commun. 1982. V. 11. № 4A. P. 1253—1258.
3. Gurskaya G. V., Javadova G. M., Zagorodny S. G., Tsilevich T. L., Gottikh B. P. // Cryst. Struct. Commun. 1982. V. 11. № 4A. P. 1259—1264.
4. Джавадова Г. М., Гурская Г. В., Горелик Е. Ш.-Б., Михайлов С. Н. // Кристаллография. 1988. Т. 33. № 6. С. 1408—1414.
5. Цапкина Е. Н., Джавадова Г. М., Гурская Г. В., Бейгельман Л. Н., Михайлов С. Н., Лундман С. В. // Кристаллография. 1988. Т. 33. № 6. С. 1415—1420.
6. Карпейский М. Я., Сенченко В. Н., Яковлев Г. И., Колбановская Е. Ю. // Биоорганич. химия. 1982. Т. 8. № 3. С. 386—395.
7. Яковлев Г. И., Бочаров А. Л., Моисеев Г. П., Михайлов С. Н. // Биоорганич. химия. 1985. Т. 11. № 2. С. 205—210.
8. Hai T. T., Picker D., Abo M., Hampton A. // J. Med. Chem. 1982. V. 25. № 7. P. 806—812.
9. Hai T. T., Abo M., Hampton A. // J. Med. Chem. 1982. V. 25. № 10. P. 1184—1188.
10. Айвазашвили В. А., Михайлов С. Н., Падыюкова Н. Ш., Бибилашвили Р. Ш., Карпейский М. Я. // Молекулярн. биология. 1987. Т. 21. № 4. С. 1080—1091.
11. Young D. W., Tollin P., Wilson H. R. // Acta crystallogr. 1969. V. B25. № 8. P. 1423—1432.
12. Гурская Г. В., Цапкина Е. Н., Скапцова Н. В., Краевский А. А., Лундман С. В., Стручков Ю. Т. // Докл. АН СССР. 1986. Т. 291. № 4. С. 854—859.
13. Roey P. V., Salerno J. M., Duax W. L., Chu C. K., Ahn M. K., Schinazi R. F. // J. Amer. Chem. Soc. 1988. V. 110. № 7. P. 2277—2282.
14. Furberg S., Peterson C. S., Romming C. // Acta crystallogr. 1965. V. 18. № 3. P. 313—320.
15. Nomenclature committee of JUB (NC—JUB) and JUPAC — JUB Joint commission Biochem. Nomenclature (JCBN). // Eur. J. Biochem. 1983. V. 131. № 1. P. 1—5.
16. Михайлов С. Н., Падыюкова Н. Ш., Иванов К. И. // Химия гетероцикл. соедин. 1989. № 3. С. 420—425.

Поступила в редакцию
7.XII.1988

THE MOLECULAR AND CRYSTAL STRUCTURE
OF 1-(2,6-DIDEOXY- α -L-LYXO-HEXOFURANOSYL)THYMINE

JAVADOVA G. M., GURSKAYA G. V., PADUKOVA N. Sh., MIKHAILOV S. N.

*V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

The molecular and crystal structure of 1-(2,6-dideoxy- α -L-lyxo-hexofuranosyl)-thymine (5'Me-Thd) was established. The space group is $P2_12_12_1$, unit cell parameters: $a = 5.532(1)$, $b = 14.081(2)$, $c = 15.758(2)$ Å, $V = 1227.5$ Å³, $Z = 4$. The structure was solved by the direct method and refined by a full-matrix least-squares procedure to $R = 2.7\%$. The conformation of 5'Me-Thd is almost identical to the conformation of earlier investigated 1-(6-deoxy- β -D-allofuranosyl)cytosine and 1-(6-deoxy- α -L-talofuranosyl)cytosine. In all these compounds the *anti*-conformation about N-glycosidic bond, C2'-*endo*-C3'-*exo* puckering of the sugar and *gauche-gauche* conformation about exocyclic C4'-C5' bond are realized. The main conformation parameters of 5'Me-Thd have the following values: $\chi = -129.8^\circ$, $\gamma = 58.3^\circ$, $P = 169.9^\circ$, $\psi_m = 36.4^\circ$.