



УДК 547.854.4'455.542 : 539.26

© 1991 г.

А. В. Бочкарев, Г. В. Гурская, А. С. Жданов,
Э. М. Казьмина *, Н. И. Федоров *

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА 1-(3'-С-МЕТИЛ-2'-ДЕЗОКСИРИБОФУРАНОЗИЛ)ТИМИНА

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта АН СССР, Москва;
* Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва

Методом рентгеноструктурного анализа исследована молекулярная и кристаллическая структура «функционально компетентного» аналога тимидина — 3'-С-метилтимидина (3'-Me-Thd). Пространственная группа кристаллов $P2_1$, параметры элементарной ячейки: a 5,100(1), b 12,489(2), c 9,202(1) Å; β 98,47°(1); V 579,7 Å³; Z 2. Структура расшифрована прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов до $R = 2,3\%$. Установлено, что молекула 3'-Me-Thd характеризуется анти-конформацией вокруг N-гликозидной связи ($\chi(O4'-C1'-N1-C2) = -116,6^\circ$), C2'-эндо-C1'-экзо-конформацией фуранового цикла ($P = 157,5^\circ$, $\psi_m = 38,0^\circ$) и гош-гош-конформацией относительно экзациклической C4'-C5'-связи ($\phi(C3'-C4'-C5'-O5') = 50,1^\circ$). Близость конформаций молекул 3'-Me-Thd и 3'-Me-Cyd свидетельствует о конформационной жесткости молекул 3'-Me-пиримидинов, не зависящей от типа оснований и сахара.

Настоящая работа является продолжением проводимых в ИМБ АН СССР систематических исследований пространственных структур молекул функционально компетентных аналогов нуклеозидов методом рентгеноструктурного анализа [1—4]. Изучение конформационных свойств недавно синтезированного 1-(3'-С-метил-2'-дезоксирибофуранозил)тимидина (3'-Me-Thd) [5, 6] представляет особый интерес в связи с тем, что трифосфаты этого соединения, несмотря на сохранение всех функциональных групп, характерных для природных нуклеотидов, не являются субстратом биосинтеза ДНК [7, 8].

Установлено, что длины связей и значения валентных углов нуклеинового основания в молекуле 3'-Me-Thd (рис. 1, табл. 1) хорошо согласуются с соответствующими параметрами природного тимидина (Thd) [9]. Пиримидиновое основание близко к плоскому. Наибольшее отклонение от среднеквадратичной плоскости, проведенной через все атомы основания (плоскость 1, табл. 2), наблюдается для атомов N3 и O4, вовлеченных в образование межмолекулярных водородных связей. Атомы, не участвующие в их образовании, практически лежат в одной плоскости (плоскость 2, табл. 2).

Замещение протона при атоме C3' дезоксирибозного фрагмента Thd на метильную группу в 3'-Me-Thd сопровождается изменениями в длинах валентных связей и размерах валентных углов в окружении этого атома. Так, связи C3'-C4' и C3'-O3' удлинены, а связь C4'-O4' укорочена приблизительно на $3\sigma-4\sigma$. В пределах $2-5^\circ$ увеличены валентные углы C4'-C3'-O3', C3'-C4'-O4', C3'-C4'-C5' и C4'-C5'-O5'; углы O4'-C4'-C5', C2'-C1'-O4' уменьшены на $1,0-1,5^\circ$.

Изменение геометрии фуранового цикла сопровождается изменением его конформации. Фазовый угол псевдотвращения (P) в 3'-Me-Thd равен $157,5^\circ$, максимальная амплитуда псевдотвращения $\psi_m = 38,0^\circ$. Это соответствует конформации сахара C2'-эндо-C1'-экзо(²T). Углеродные атомы C2' и C1' отклонены от плоскости, проведенной через атомы C3', C4', O4', на 0,521 и 0,063 Å соответственно (плоскость 3, табл. 2).

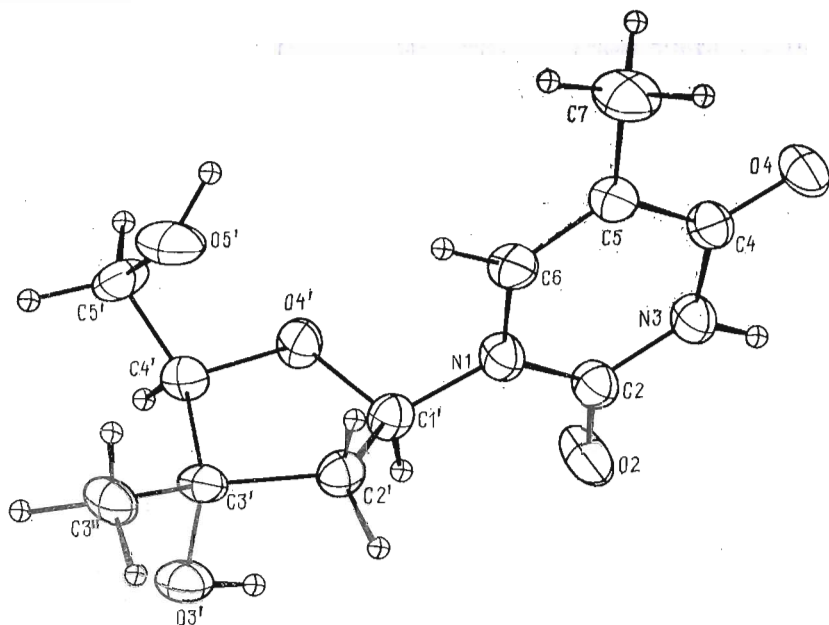


Рис. 1. Строение молекул 3'-Me-Thd. Атомы O, N, C изображены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью, атомы H — сферами произвольного радиуса. Рисунок выполнен с помощью программы ORTEP

Если же пренебречь относительно малым отклонением атома C1' по сравнению с отклонением атома C2' и провести среднеквадратичную плоскость через оставшиеся атомы фуранозного цикла (плоскость 4, табл. 2), то в пределах этой точности конформация описывается как C2'-эндо(²E). Конформация углеводного цикла в природном Thd [7] другая — C3'-экзо-C2'-эндо(₃T²). В ней атомы C3', C2' выведены из плоскости атомов C1', C4', O4' на 0,42 и 0,18 Å соответственно. Фазовый угол псевдовращения P равен 187,5°, а максимальная амплитуда псевдовращения $\psi_m = 38,2^\circ$.

Конформация молекулы 3'-Me-Thd относительно экзоциклической C4'—C5'-связи — *gosh*⁺, торсионные углы φ_{OO} (O5'—C5'—C4'—O4') и φ_{CO} (O5'—C5'—C4'—C3') соответственно равны —71,1 и 50,1°. Эти же углы в природном Thd составляют 51,5 и 172,8°, что соответствует *транс*-конформации.

Ориентация нуклеинового основания относительно углеводного цикла в молекуле 3'-Me-Thd такая же, как в Thd, и соответствует *анти*-конформации относительно N-гликозидной связи. Однако наблюдается некоторое различие в величинах торсионных углов χ (O4'—C1'—N1—C2): в 3'-Me-Thd он равен —116,6°, а в Thd — —139,4°.

Представляет интерес сравнение конформационных свойств исследуемого 3'-Me-Thd с соответствующими свойствами описанных в литературе 3'-C-метилрибонуклеозидов. Так, в молекуле 1-(3'-C-метил-β-D-рибофуранозил)цитозина (3'-Me-Cyd) [1] основные торсионные углы имеют следующие значения: $\chi = -130,9^\circ$, $\varphi_{OO} = -57,7^\circ$, $\varphi_{CO} = 61,7^\circ$, $P = 167,0^\circ$, $\psi_m = 37,8^\circ$. Значение фазового угла псевдовращения соответствует конформации сахара C2'-эндо-C3'-экзо(²T₃). Отклонение атомов C2', C3' от плоскости атомов C1', C4', O4' составляет 0,496 и 0,107 Å. Если, по аналогии с 3'-Me-Thd, пренебречь существенно меньшим отклонением атома C3' по сравнению с атомом C2', то приблизительно конформацию сахара можно описать как C2'-эндо (²E).

Из сравнения этих данных с результатами, полученными в настоящем исследовании, видна близость основных конформационных углов 3'-Me-Thd и 3'-Me-Cyd, что может свидетельствовать о существовании общих принципов организации молекул 3'-метилированных пириимидиновых нуклеозидов (3'-Me-Pyd), которые не зависят от природы сахара и нуклеинового основания. К ним следует отнести: 1) характерное *эндо*-расположение C2'-

Длины валентных связей и размеры валентных углов в молекуле 3'-Me-Thd *

Связь	Длина, Å	Связь	Длина, Å
N1—C2	1,384(3)	C1'—C2'	1,523(3)
N1—C6	1,385(3)	C1'—O4'	1,427(2)
C2—O2	1,215(3)	C2'—C3'	1,527(3)
C2—N3	1,375(3)	C3'—O3'	1,444(3)
N3—C4	1,380(3)	C3'—C3''	1,520(3)
C4—O4	1,228(3)	C3'—C4'	1,553(3)
C4—C5	1,449(3)	C4'—O4'	1,442(2)
C5—C7	1,498(3)	C4'—C5'	1,509(3)
C5—C6	1,342(3)	C5'—O5'	1,431(3)
C1'—N1	1,456(2)		
C5'—H5'1	1,02(3)	C1'—H1'	1,00(3)
C5'—H5'2	0,93(3)	C2'—H2'1	0,97(3)
O5'—HO5'	0,92(3)	C2'—H2'2	0,97(3)
N3—H3	0,87(3)	O3'—HO3'	0,93(3)
C7—H71	1,01(3)	C3'—H3'1	0,99(3)
C7—H72	0,98(3)	C3'—H3'2	1,05(3)
C7—H73	1,00(3)	C3'—H3'3	0,98(3)
C6—H6	1,00(3)	C4'—H4'	0,92(3)
Угол	град	Угол	град
N1—C2—O2	123,7(2)	O4'—C1'—N1	108,3(1)
N1—C2—N3	114,3(2)	C2'—C1'—O4'	105,0(2)
O2—C2—N3	121,9(2)	C1'—C2'—C3'	102,3(2)
C2—N3—C4	127,5(2)	C2'—C3'—O3'	110,8(2)
N3—C4—O4	119,8(2)	C2'—C3'—C3''	115,2(2)
N3—C4—C5	115,3(2)	C2'—C3'—C4'	102,1(2)
O4—C4—C5	124,8(2)	O3'—C3'—C3''	104,5(2)
C4—C5—C7	118,7(2)	O3'—C3'—C4'	109,3(2)
C4—C5—C6	117,8(2)	C3'—C3'—C4'	114,9(2)
C7—C5—C6	123,5(2)	C3'—C4'—O4'	106,5(1)
N1—C6—C5	123,9(2)	C3'—C4'—C5'	117,7(2)
C1'—N1—C2	118,1(2)	O4'—C4'—C5'	108,9(2)
C1'—N1—C6	120,7(2)	C1'—O4'—C4'	109,9(1)
C2—N1—C6	121,1(2)	C4'—C5'—O5'	112,8(2)
C2'—C1'—C1	115,2(2)		
Угол	град	Угол	град
C5'—C4'—H4'	109(2)	C2'—C1'—H1'	113(2)
C4'—C5'—H5'1	108(2)	O4'—C1'—H1'	107(2)
C4'—C5'—H5'2	108(2)	N1—C1'—H1'	109(2)
O5'—C5'—H5'1	110(1)	C1'—C2'—H2'1	112(2)
O5'—C5'—H5'2	111(2)	C1'—C2'—H2'2	108(2)
H5'1—C5'—H5'2	108(2)	C3'—C2'—H2'1	111(2)
C5'—O5'—HO5'	112(2)	C3'—C2'—H2'2	111(1)
C2—N3—H3	118(2)	H2'1—C2'—H2'2	112(2)
C4—N3—H3	115(2)	C3'—O3'—HO3'	106(2)
C5—C7—H71	111(2)	C3'—C3'—H3'2	107(2)
C5—C7—H72	112(2)	C3'—C3'—H3'1	113(2)
C5—C7—H73	109(2)	C3'—C3'—H3'3	113(2)
H71—C7—H72	109(2)	H3'2—C3'—H3'1	107(2)
H71—C7—H73	107(2)	H3'2—C3'—H3'3	111(2)
H72—C7—H73	108(3)	H3'1—C3'—H3'3	105(2)
N1—C6—H6	116(2)	C3'—C4'—H4'	108(2)
C5—C6—H6	120(2)	O4'—C4'—H4'	106(2)

* В скобках дано стандартное отклонение.

атомов фуранозных циклов, выводящее основание в экваториальное положение, что приводит к уменьшению возможных пространственных затруднений между атомами нуклеиновых оснований и атомами сравнительно объемной метильной группы в C3'-положении; 2) типичную *анти*-конформацию вокруг гликозидной связи и *gosh*⁺-конформацию относительно экзо-

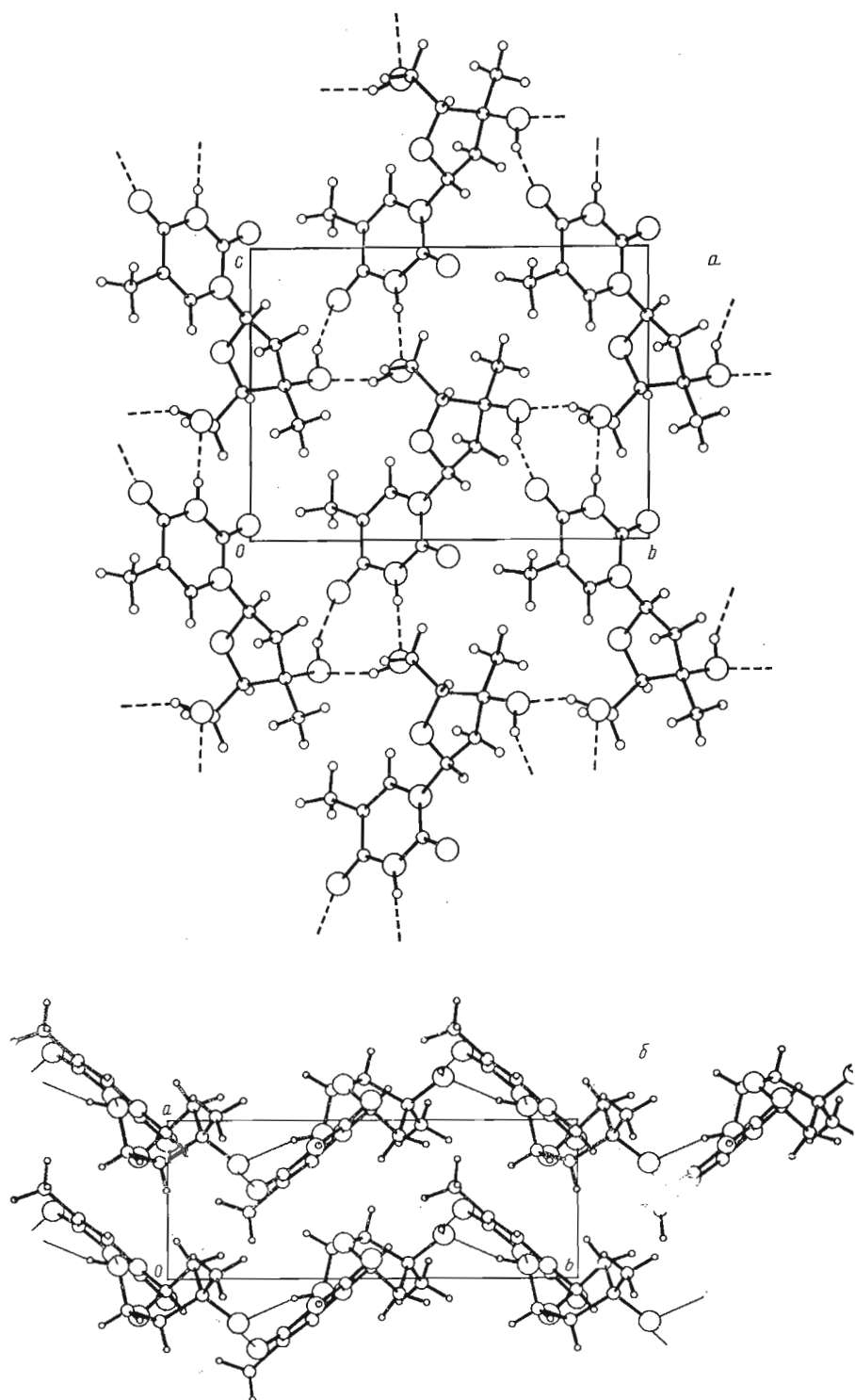


Рис. 2. Упаковка молекул в кристалле 3'-Me-Thd: *a* — вид вдоль оси *a*; *b* — вид вдоль оси *c*. Штриховыми линиями показаны водородные связи. Рисунки выполнены с помощью программы PLUTO

циклической C4' — C5'-связи; 3) переход от вторичной гидроксильной группы к третичной гидроксильной группе в 3'-Me-нуклеозидах, приводящий к удлинению C3'—O3'-связей, а следовательно, и к изменению их реакционной способности, что может влиять на активность 3'-Me-нуклеозидов в биохимических превращениях.

Таблица 2

Коэффициенты среднеквадратичных плоскостей $Ax + By + Cz + D = 0$, проведенных через атомы, отмеченные звездочкой, и отклонения атомов (Å) от этих плоскостей

Атомы	Плоскость 1	Плоскость 2	Атомы	Плоскость 3	Плоскость 4
N1	0,015 *	0,005 *	C1'	-0,063	-0,009 *
C2	-0,003 *	-0,009 *	C2'	0,521	0,570
O2	0,011 *	0,002 *	C3'	0,000 *	0,008 *
N3	-0,042 *	-0,039	C3''	0,772	0,761 *
C4	-0,002 *	0,006 *	C4'	0,000 *	-0,014 *
O4	0,032 *	0,048	O4'	0,000 *	0,015 *
C5	-0,008 *	-0,005 *	C5'	1,127	1,084
C6	0,006 *	0,001 *	N1'	0,653	0,734
C7	-0,009 *	-0,001 *			
Коэффици- енты			Коэффици- енты		
A	-3,706	-3,694	A	4,326	4,380
B	-8,102	-8,153	B	-6,003	-5,912
C	-1,070	-1,034	C	-3,174	-2,946
D	3,284	3,262	D	-4,854	-4,796

Таблица 3

Геометрические параметры межмолекулярных водородных связей

Атом — донор (Д)	Атом — акцептор (А) *	Расстояние		Угол, град Д — Н...А
		Д — А	Н... А	
O3'	O4 (2 - x; y + 0,5; - z)	2,800(2)	1,94(3)	153(3)
O5'	O3 (2 - x; y - 0,5; - z; - 1)	2,737(2)	1,88(3)	154(3)
N3	O5 (x; y; z + 1)	2,918(2)	2,05(3)	173(3)

* В скобках приведены связывающие операции симметрии-трансляции.

Следует также отметить, что, согласно физико-химическим исследованиям некоторых 3'-С-метилированных пиримидиннуклеозидов в растворе [5, 6], предпочтительными являются *анти*-конформация основания относительно углеводного цикла, *S*-конформер фуранозы и *gait'*-ротамер вокруг экзоциклической C4'—C5'-связи. Это совпадает с данными рентгеноструктурных исследований и позволяет говорить об относительной конформационной жесткости молекул пиримидиннуклеозидов, содержащих в 3'-положении объемный метильный заместитель.

В кристаллической структуре 3'-Me-Thd реализован принцип насыщения водородных связей, т. е. в Н-связи вовлечены все атомы водорода, потенциально способные их образовывать (табл. 3). При этом каждая молекула 3'-Me-Thd оказывается включенной в шесть межмолекулярных водородных связей. В трех из них она выступает в качестве донора, а в трех других — акцептором. В результате молекулы 3'-Me-Thd, связанные друг с другом сеткой водородных связей, образуют бесконечные гофрированные слои, параллельные плоскости (bc) (рис. 2а). Объединение слоев в трехмерный кристалл осуществляется за счет сил Ван-дер-Ваальса (рис. 2б).

Экспериментальная часть

Синтез 3'-Me-Thd проведен по методике [5, 6]. Использованные для рентгеноструктурного анализа кристаллы получены из насыщенного раствора 3'-Me-Thd в метаноле. Пространственная группа кристаллов $P2_1$, параметры элементарной ячейки: a 5,100 (1), b 12,489(2), c 9,202(1) Å, β 98,47 (1)°; V 579,7 Å³; Z 2. Параметры ячейки и интенсивности 1347 отражений измерены на четырехлучевом дифрактометре CAD-4F (Enraf Nonius, Голландия; ω/θ -сканирование, $\text{CuK}\alpha$ -излучение, графитовый монохроматор).

Относительные координаты атомов ($\times 10^4$ для неводородных атомов, $\times 10^3$ для H) и их тепловые параметры в структуре 3'-Me-Thd)

Атом	x	y	z	$B_{\text{экв}}$ (изо)
N1	10 784(3)	-730(2)	-1272(2)	2,17(3)
C2	10 271(5)	-663(2)	160(2)	2,51(4)
O2	8 728(4)	-28(2)	567(2)	4,24(4)
N3	11 671(4)	-138(2)	1109(2)	2,61(4)
C4	13 383(4)	-2169(2)	775(2)	2,17(4)
O4	14 374(3)	-2791(1)	1735(2)	2,98(3)
C5	13 871(4)	-2185(2)	-737(2)	2,19(4)
C7	15 771(5)	-2994(2)	-1179(3)	3,14(5)
C6	12 555(4)	-1477(2)	-1672(2)	2,21(4)
C1'	9 275(4)	-43	-2371(2)	2,01(4)
C2'	10 933(4)	646(2)	-3255(2)	2,16(4)
C3'	9 003(4)	864(2)	-4657(2)	1,75(4)
O3'	7 248(3)	1738(1)	-4441(2)	2,44(3)
C3''	10 277(5)	1195(2)	-5980(2)	2,40(4)
C4'	7 392(4)	-195(2)	-4851(2)	1,81(4)
O4'	7 723(3)	-707(1)	-3430(1)	2,46(3)
C5'	8 074(5)	-986(2)	-5976(2)	2,53(4)
O5'	10 851(3)	-1211(1)	-5827(2)	2,94(3)
HN3	1 158(5)	-131(2)	204(3)	2,1(6)
H71	1 591(5)	-292(3)	-226(3)	2,2(7)
H72	1 755(6)	-293(3)	-61(3)	3,6(8)
H73	1 510(6)	-373(2)	-102(3)	2,1(7)
H6	1 280(6)	-148(2)	-273(3)	2,1(7)
H1'	800(5)	39(2)	-189(3)	2,1(6)
H2'1	1 150(6)	131(2)	-275(3)	2,1(6)
H2'2	1 242(5)	22(2)	-346(3)	2,1(6)
HO3'	690(6)	168(3)	-348(3)	2,4(7)
H3'1	890(6)	136(2)	-692(3)	2,1(7)
H3'2	1 125(5)	187(2)	-571(3)	2,1(6)
H3'3	1 144(5)	64(3)	-629(3)	2,3(7)
H4'	562(6)	-2(3)	-507(3)	2,3(7)
H5'1	744(5)	-68(2)	-700(3)	2,1(6)
H5'2	712(6)	-161(2)	-588(3)	2,2(6)
HO5'	1 122(6)	-190(2)	-550(3)	2,4(7)

Экспериментальные данные были скорректированы на факторы Лорентца и поляризации. В структурном исследовании использованы интенсивности 1147 независимых рефлексов с $I > 3\sigma(I)$. Структура расшифрована прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для неводородных атомов. Координаты атомов водорода определены по разностным синтезам Фурье и уточнены в изотропном приближении. Окончательное значение фактора расхождения $R = 2,3\%$. Координаты атомов структуры представлены в табл. 4. Все расчеты проведены по комплексу программ SDP [10].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gurskaya G. V., Javadova G. M., Mikhailov S. N. // Cryst. Struct. Commun. 1982. V. 11. № 4/A. P. 1253—1258.
2. Gurskaya G. V., Zdanov A. S., Mikhailov S. N., Tsapkina E. N. // Cryst. Struct. Commun. 1982. V. 11. № 4/A. P. 1245—1262.
3. Цапкина Е. Н., Джавадова Т. Н., Гурская Г. В., Бейгельман А. Н., Михайлов С. Н., Линдеман С. В. // Кристаллография. 1988. Т. 33. № 6. С. 1415—1420.
4. Джавадова Г. М., Гурская Г. В., Горелик Е. Ш., Михайлов С. Н. // Кристаллография. 1988. Т. 33. № 6. С. 1408—1414.
5. Бейгельман Л. Н., Карнейский М. Я., Михайлов С. Н. // Биоорганич. химия. 1981. Т. 7. № 11. С. 1701—1710.
6. Казьмина Э. М. Аналогии нуклеиновых оснований, нуклеотидов и нуклеозидов (синтез, биологическая активность, фармакокинетика). Дис. ... д-ра фармацевт. наук. М.: Моск. мед. академия им. Сеченова, 1990. С. 21.
7. Fedorov I. I., Bezchinsky Y. E., Novicov N. A., Kazmina E. M., Fomitcheva M. V., Mikhailov S. N. // Collect. Czech. Chem. Commun. 1990. V. 55. VIII Symp. on the Chemistry of Nucleic Acid Components. Special Issue. № 1. P. 25—28.

8. Федоров И. И., Безчинский Я. Э., Новиков П. А., Казьмина Э. М., Розенберг С. Г., Михайлов С. Н. // Биоорг. химия. 1990. Т. 16. № 7. С. 997—999.
9. Young B. V., Tollin P., Wilson H. R. // Acta cryst. 1969. V. B25. № 2. P. 1423 — 1432.
10. Frenz B. A. // Enraf-Nonius SDP-Plus Structure Determination Package Version 3.0 Enraf-Nonius, Delft, The Netherlands, 1985.

Поступила в редакцию
31.I.1991

A. V. BOCHKAREV, G. V. GURSKAYA, A. S. ZDANOV, E. M. KAZMINA *,
I. I. FEDOROV *

MOLECULAR AND CRYSTAL STRUCTURE OF 1-(3'-C-METHYL-2'-DEOXYRIBOFURANOSYL)THYMINE

V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow;
*I. M. Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow

The structure of 3'-C-methylthymidine (3'-Me-Thd), a «functionally competent» analogue of thymidine, was determined by X-ray analysis. The space group is $P2_1$. Cell dimensions are: $a = 5.100(1)$, $b = 12.489(2)$, $c = 9.202(1)$ Å; $\beta = 98.47(1)^\circ$, $V = 579.7$ Å³, $Z = 2$. The structure was elucidated by direct methods and refined by the full-matrix least square method to $R = 2.3\%$. The molecule of 3'-Me-Thd has *anti*-conformation with respect to the glycosidic bond (χ ($O4'-C1'-N1-C2$) = -116.6°), C2'-*endo*-C1'-*exo* puckering of the sugar moiety and *gauche-gauche* conformation about exocyclic C4'-C5'-bond (ϕ ($C3'-C4'-C5'-O5'$) = 50.1°). Using comparative analysis of 3'-Me-Thd and 3'-Me-cytidine [1] it was concluded that 3'-Me-pyrimidines have «hard» conformation independent of the sugar and base types.