



УДК 547.854.4'455.542:539.26

© 1992 г. А. В. Бочкарев, М. В. Ясько, А. С. Жданов,
И. И. Федоров*, Г. В. ГурскаяМОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА
3'-МЕТИЛАМИНО-
2',3'-ДИДЕЗОКСИРИБОЗИЛТИМИНА –
ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ИНГИБИТОРА ВИЧ

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва;

* Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва

Методом рентгеноструктурного анализа исследована молекулярная и кристаллическая структура потенциального ингибитора ВИЧ 3'-метиламино-2',3'-дидезоксирибозилтимина $ddT(3'NHMe)$. Пространственная группа кристаллов $P2_12_12_1$, параметры элементарной ячейки: a 5,132(1); b 13,718(1); c 16,947(2) Å; V 1193,2 Å³; Z 4. Структура расшифрована прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов до R 4,8%. Молекула $ddT(3'NHMe)$ характеризуется анти-конформацией вокруг N-гликозидной связи ($\chi(O4'-C1'-N1-C2) = -106,7^\circ$), C3'-эндо-C4'-экзо-конформацией фуранозного цикла ($P = 28,8^\circ$, $\psi_m = 31,5^\circ$) и *gash-gash*-конформацией относительно экзациклической C4'-C5'-связи ($\phi(C3'-C4'-C5'-O5') = -45,8^\circ$). Проведено сравнение структуры $ddT(3'NHMe)$ со структурами молекул 3'-амино-3'-дезокситимидина [$ddT(3'NH_3^+)$], 3'-азидо-3'-дезокситимидина [$ddT(3'N_3)$] и природного тимидина (dT).

Настоящая работа, продолжающая серию проводимых нами [1–5] рентгеноструктурных исследований нуклеозидов, модифицированных по сахарному остатку, посвящена изучению пространственного строения недавно синтезированного [6] потенциального ингибитора ВИЧ – 3'-метиламино-2',3'-дидезоксирибозилтимина [$ddT(3'NHMe)$].

Это соединение – наиболее простая модификация 3'-амино-3'-дезокситимидина [$ddT(3'NH_2)$], 5'-трифосфат которого является хорошо известным и высокоактивным терминатором синтеза ДНК, катализируемого различными ДНК-полимеразами. Введение в молекулу 5'-трифосфата 3'-N-метильной группы приводит, как показали предварительные биохимические испытания [6], к существенному повышению селективности обратных транскриптаз ретровирусов к 5'-трифосфату $ddT(3'NHMe)$ при общем понижении субстратных его свойств по сравнению с 5'-трифосфатом $ddT(3'NH_2)$. Поэтому сравнение пространственного строения молекул $ddT(3'NHMe)$ и $ddT(3'NH_2)$ представляло большой интерес. Оно позволило установить, связано ли повышение субстратной специфичности $ddT(3'NHMe)$ с изменениями конформационных параметров молекулы и основности аминогруппы при переходе от первичной ко вторичной или же определяется преимущественно присутствием объемной метильной группы, замещающей атом водорода 3'-аминогруппы.

Полученные данные о структуре молекулы $ddT(3'NHMe)$ представлены на рис. 1 и в табл. 1. Точность определения (σ) длин связей между неводородными атомами составляет 0,006–0,008 Å, валентных углов – 0,4–0,5°.

Длины связей и значения валентных углов тиминового основания согласуются с соответствующими значениями в структурах природного тимидина dT [7], $ddT(3'N_3)$ (молекулы А и В) [1], $ddT(3'NH_2) \cdot HCl$ [2] и др.

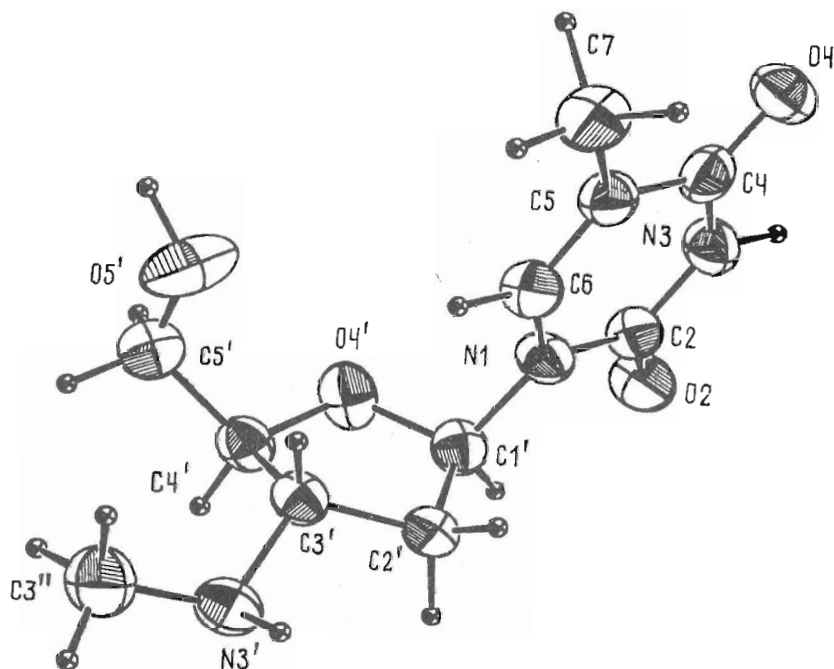


Рис. 1. Строение молекулы $ddT(3'NHMe)$. Атомы O, N и C изображены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью, атомы H — сферами произвольного радиуса. Рисунок выполнен с помощью программы ORTEP

В исследуемом 3'-N-Me-аналоге гликозидный торсионный угол $\chi(C2-N1-C1'-O4') = -106,7^\circ$, что соответствует *анти*-конформации. Следует подчеркнуть, что в структуре $ddT(3'NH_2) \cdot HCl$ угол $\chi = -167^\circ$. Гораздо более близкое значение χ (-125°) наблюдается в молекуле A $ddT(3'N_3)$. Именно в этом случае отмечено наиболее полное совпадение в длинах связей и значениях валентных углов.

Замена OH-группы у атома $C3'$ природного тимидина на $NHCH_3$ -группу приводит к существенному изменению конформации дезоксирибозного цикла. Для природного тимидина характерна $C3'$ -*экзо*- $C2'$ -*эндо*-конформация сахара с фазовым углом псевдовращения $P = 187,5^\circ$ (так называемая *S*-популяция, $P = 135-225^\circ$). В аналоге $ddT(3'NHMe)$ соответствующие параметры следующие: конформация сахара — $C3'$ -*эндо*- $C4'$ -*экзо* (*T*), фазовый угол псевдовращения $P = 28,8^\circ$ (так называемая *N*-популяция, $P = -45-45^\circ$) и максимальная амплитуда псевдовращения $\Phi_m = 31,5^\circ$. Здесь атомы $C3'$ и $C4'$ выведены из плоскости, проходящей через атомы $O4'$, $C1'$ и $C2'$, соответственно на 0,36 и 0,14 Å. Соединение $ddT(3'NH_2) \cdot HCl$ имеет близкое к $ddT(3'NHMe)$ значение фазового угла псевдовращения — $P = 3,8^\circ$ ($C3'$ -*эндо*- $C2'$ -*экзо*-изгиб сахара, т. е. также *N*-популяция). Атомы $C3'$ и $C2'$ выведены из плоскости атомов $C1'$, $O4'$ и $C4'$ на 0,36 и 0,24 Å. В $ddT(3'N_3)$ угол псевдовращения P равен 173 и 212° для A- и B-молекул соответственно. Интересно, что 3'-дезокситимидин [8] имеет наиболее близкую к $ddT(3'NHMe)$ конформацию сахарного цикла, а именно $C3'$ -*эндо*- $C2'$ -*экзо*-изгиб фуранозы и $P = 12,9^\circ$.

У фуранозного цикла $ddT(3'NHMe)$ по сравнению с $ddT(3'NH_2^+)$ наблюдается укорочение связи $C2'-C3'$ и удлинение связи $C1'-C2'$, хотя и то и другое лежит в пределах 3σ. Это сопровождается увеличением угла $C1'-C2'-C3'$ на $3,4^\circ$. Величина экзоциклического угла $O4'-C4'-C3'$ в

Таблица 1

Длины валентных связей (А) * и размеры валентных углов (град) в молекуле ddT(3'NHMe)

Связь	Расстояние, Å	Связь	Расстояние, Å
N1-C2	1,378(6)	C1'-C2'	1,539(7)
N1-C6	1,393(6)	C1'-O4'	1,416(6)
N1-C1'	1,462(6)	C2'-C3'	1,507(7)
C2-N3	1,374(6)	C3'-C4'	1,529(8)
C2-O2	1,211(6)	C3'-N3'	1,481(6)
N3-C4	1,385(7)	C4'-O4'	1,438(6)
C4-C5	1,436(7)	C4'-C5'	1,506(8)
C4-O4	1,237(6)	C5'-O5'	1,403(8)
C5-C6	1,340(7)	N3'-C3''	1,469(7)
C5-C7	1,501(8)		
Угол	Град	Угол	Град
C2-N1-C6	120,0(4)	N1-C1'-C2'	113,9(4)
C2-N1-C1'	119,8(4)	N1-C1'-O4'	108,2(4)
C6-N1-C1'	120,0(4)	C2'-C1'-O4'	105,9(4)
N1-C2-N3	115,6(4)	C1'-C2'-C3'	105,2(4)
N1-C2-O2	122,5(4)	C2'-C3'-C4'	102,9(4)
N3-C2-O2	121,8(4)	C2'-C3'-N3'	109,7(4)
C2-N3-C4	126,2(4)	C4'-C3'-N3'	113,0(4)
N3-C4-C5	116,2(4)	C3'-C4'-O4'	104,8(4)
N3-C4-O4	118,5(4)	C3'-C4'-C5'	116,5(5)
C5-C4-O4	125,3(5)	O4'-C4'-C5'	107,0(4)
C4-C5-C6	117,7(5)	C1'-O4'-C4'	111,5(4)
C4-C5-C7	119,7(4)	C4'-C5'-O5'	110,7(5)
C6-C5-C7	122,6(4)	C3'-N3'-C3''	113,6(4)
N1-C6-C5	124,2(4)		

* В скобках приведены среднеквадратичные отклонения.

Таблица 2

Геометрические параметры межмолекулярных водородных связей в структуре ddT(3'NHMe)

Атом — донор (Д)	Атом — акцептор (А)	Расстояние, Å		Угол, град Д—Н...А
		Д—А	Н...А	
N3	N3'(0,5-x; -y; 0,5+z) *	2,836(6)	1,86	157
O5'	O4(0,5+x; 0,5-y; -1-z)	2,868(5)	1,92	159
N3'	O4(-0,5-x; -y; -0,5+z)	3,157(6)	2,29	141

* В скобках даны связывающие операции симметрии.

ddT(3'NHMe) уменьшена по сравнению с соответствующей величиной в ddT(3'NH₂) на 3,6°.

Конформация исследуемого аналога относительно экзоциклической связи C4'-C5' — *gosh*⁺, φ_{co}(C3'-C4'-C5'-O5')=45,8°. Сходная конформация наблюдается в молекуле ddT(3'NH₃⁺), у которой φ_{co}=57°, и в молекуле А ddT(3'N₃), где φ_{co}=50,8°. В природном тимидине (dT) и в молекуле В ddT(3'N₃) имеет место *транс*-конформация экзоциклической связи со значениями угла φ_{co}, соответственно равными 172,8 и 173,5°.

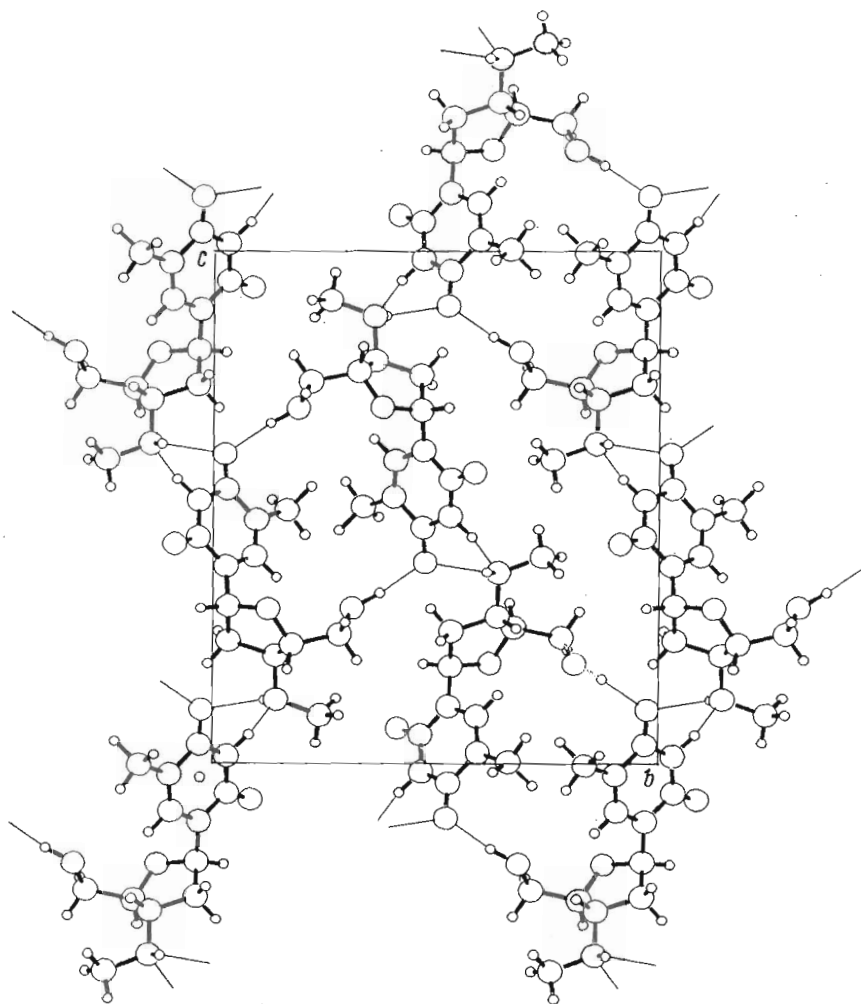


Рис. 2. Упаковка молекул в кристаллической структуре $ddT(3'NHMe)$. Проекция на плоскость bc . Тонкими линиями показаны межмолекулярные водородные связи. Рисунок выполнен с помощью программы PLUTO

В кристаллической структуре $ddT(3'NHMe)$ каждая молекула участвует в образовании шести водородных связей, выступая в трех из них в качестве донора и в трех — в качестве акцептора. Как и в структуре $ddT(3'NH_2) \cdot HCl$, атом $N3'$ вовлечен в образование водородных связей. Атом $O4$ также участвует в образовании двух межмолекулярных водородных связей, в то время как атом $O2$ в системе водородных связей вообще не задействован. Молекулы, связанные $N3-H \dots N3'$ -межмолекулярными водородными связями, образуют бесконечные цепи. Эти цепи, в свою очередь, соединены водородными связями $N3'-H \dots O4$ и $O5'-H \dots O4$ с четырьмя соседними (дважды в качестве донора и дважды в качестве акцептора), формируя трехмерную сетку водородных связей (рис. 2). Параметры межмолекулярных водородных связей представлены в табл. 2.

Таким образом, данные рентгеноструктурного анализа показывают, что 3'-амино- и 3'-метиламинопроизводные имеют сходную конформацию молекул: 1) относительно гликозидной связи — *анти*; 2) относительно экзотрициклической связи — *gash*⁺; 3) конформации фуранозных циклов, относя-

Относительные координаты атомов и их тепловые параметры в структуре ddT (3'NHMe)

АТОМ	x	y	z	B _{атм} (Å ²)
N1	0,1808(8)	0,0289(3)	0,3871(2)	3,02(8)
C2	0,281(1)	-0,0335(3)	0,4432(3)	2,9(1)
N3	0,160(1)	-0,0315(3)	0,5154(2)	3,51(9)
C4	-0,042(1)	0,0300(4)	0,5375(3)	3,4(1)
C5	-0,134(1)	0,0960(3)	0,4780(3)	3,2(1)
C6	-0,021(1)	0,0924(4)	0,4068(3)	3,3(1)
O2	0,4651(7)	-0,0863(3)	0,4302(2)	4,14(8)
O4	-0,1246(8)	0,0252(3)	0,6059(2)	4,17(8)
C7	-0,354(1)	0,1646(4)	0,4966(3)	4,0(1)
C1'	0,300(1)	0,0336(4)	0,3088(3)	3,2(1)
C2'	0,102(1)	0,0349(4)	0,2407(3)	3,4(1)
C3'	0,097(1)	0,1388(4)	0,2120(2)	2,9(1)
C4'	0,370(1)	0,1756(4)	0,2333(3)	3,1(1)
O4'	0,4399(7)	0,1222(3)	0,3031(2)	3,88(8)
C5'	0,393(1)	0,2823(4)	0,2530(3)	4,7(1)
O5'	0,1934(9)	0,3109(3)	0,3047(3)	6,3(1)
N3'	0,0457(9)	0,1408(3)	0,1260(2)	3,42(9)
C3''	-0,005(1)	0,2389(4)	0,0950(3)	4,7(1)
N3	0,2230	-0,0809	0,5563	4
H6	-0,0884	0,1408	0,3649	4
H71 *	-0,2871	0,2187	0,5429	4
H72	-0,5107	0,1307	0,5165	4
H73	-0,4042	0,2046	0,4482	4
H1'	0,4186	-0,0273	0,3038	4
H2'1	-0,0757	0,0118	0,2598	4
H2'2	0,1552	-0,0112	0,1962	4
H3'	-0,0501	0,1809	0,2356	4
H4'	0,4862	0,1662	0,1851	4
H5'1	0,3852	0,3224	0,2022	4
H5'2	0,5734	0,2953	0,2768	4
HO5' *	0,2128	0,3730	0,3339	4
HN3' *	-0,1425	0,1152	0,1250	4
H3''1 *	-0,0722	0,2304	0,0410	4
H3''2	0,1557	0,2816	0,0946	4
H3''3	-0,1422	0,2756	0,1280	4

* Атомы водорода помеченные звездочкой, найдены на разностного синтеза.

шиеся к *N*-полуэпимеризации. Однако переход от первичной аминогруппы в ddT (3'NH₂) ко вторичной в ddT (3'NHMe) приводит к уменьшению величины гликозидного торсионного угла и к увеличению фазового угла псевдо-вращения в пределах одной C3'-эпимеризации сахара. Вероятно, повышение селективности транскриптаз к 5'-трифосфату ddT (3'NHMe) связано в основном с присутствием в нем объемного заместителя при C3'-атоме, который пространственно затрудняет узнавание обычными ДНК-полимеразами, но не влияет на способность обратных транскриптаз к узнаванию, что согласуется с данными работы [9]. Уменьшение же антиретровирусной активности связано, по-видимому, с наличием алкильного заместителя при N3', что в некоторых случаях отмечено для 3'-алкильных аналогов нуклеозидов [10].

Экспериментальная часть

Синтез ddT (3'NHMe) проведен по методике [6]. Использованные для рентгеноструктурного анализа кристаллы получены из насыщенного раствора ddT (3'NHMe) в D₂O в результате медленного испарения раствора при комнатной температуре.

Пространственная группа кристаллов $P 2_1 2_1 2_1$, параметры элементарной ячейки: a 5,132 (1), b 13,718 (1), c 16,947 (2) Å; V 1193,2 Å³; Z 4. Параметры ячейки и интенсивности 1207 отражений измерены на четырехкружном дифрактометре CAD-4F (Enraf Nonius, Голландия; ω/θ -сканирование, $\text{CuK}\alpha$ -излучение, графитовый монохроматор, $0^\circ < \theta < 65^\circ$). Экспериментальные данные были скорректированы на факторы Лорентца и поляризации. В структурном исследовании использованы интенсивности 841 независимых отражений с $I > 2\sigma(I)$. Структура расшифрована прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для леводородных атомов. Координаты большинства атомов водорода определены из геометрических соображений, а атомов водорода, связанных с $\text{O5}'$, $\text{C3}''$ и C7 , найдены по разностным синтетам Фурье. Параметры водородных атомов не уточнялись. Окончательное значение фактора расхождения $R=4,8\%$. Координаты атомов исследуемого соединения представлены в табл. 3. Все расчеты проведены по комплексу программ SDP [11].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гурская Г. В., Цапкина Е. Н., Скапцова И. В., Краевский А. А., Линдеман С. В., Стручков Ю. Т. // Докл. АН СССР. 1986. Т. 291, № 4. С. 854–859.
2. Гурская Г. В., Цапкина Е. Н., Линдеман С. В., Стручков Ю. Т., Краевский А. А. // Докл. АН СССР. 1988. Т. 303, № 6. С. 1378–1382.
3. Бочкарев А. В., Гурская Г. В., Жданов А. С., Казьмина Э. М., Федоров И. И. // Биоорган. химия. 1991. Т. 17, № 8. С. 1094–1100.
4. Gurskaya G. V., Bochkarev A. V., Zhdanov A. S., Papchikhin A. V., Parygin P. P., Kravetskiy A. A. // FEBS Lett. 1990. V. 265, № 1–2. P. 63–66.
5. Gurskaya G. V., Bochkarev A. V., Zhdanov A. S., Dyatkina N. B., Kravetskiy A. A. // Int. J. Purine and Pyrimidine Res. 1991. V. 2, № 1. P. 55–60.
6. Ясько М. В., Атрашев А. М., Можерин Д. Ю., Новиков И. А., Федоров И. И., Краевский А. А. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18, № 2. С. 299–303.
7. Young B. V., Tollin P., Wilson H. R. // Acta crystallogr. 1969. V. B25, № 8. P. 1423–1432.
8. Harte W. E., Jr., Starrel J. E., Jr., Martin J. C., Mansuri M. M. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1991. V. 175, № 1. P. 298–304.
9. Kravetskiy A. A., Kukhanova M. K., Atrashev A. M., Dyatkina N. B., Papchikhin A. V., Chidgevadze Z. G., Beabekashvili R. Sh. // Nucleosides and Nucleotides. 1988. V. 7, № 5–6. P. 613–617.
10. Chung K. Chu, Doboszewski B., Schmidt W., Ullas G. V., Roey P. V. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. P. 2767–2769.
11. Frenz B. A. // Enraf-Nonius SDP-Plus Structure Determination Package. Version 3.0, Enraf-Nonius, Delft, The Netherlands. 1985.

Поступила в редакцию
16.1.1992

A. V. BOCHKAREV, M. V. YASKO, A. S. ZHDANOV,
I. I. FEDOROV*, G. V. GURSKAYA

MOLECULAR AND CRYSTAL STRUCTURE OF 3'-METHYLAMINO-2',3'-DIDEOXYRIBOSYLTHYMINE, A POTENTIAL HIV INHIBITOR

V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy
of Sciences, Moscow;

*I. M. Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow

The structure of 3'-methylamino-2',3'-dideoxyribosylthymine [ddT(3'NHMe)] was determined by X-ray analysis. The space group is $P 2_1 2_1 2_1$. Cell dimensions are: a 5.132(1), b 13.718(1), c 16.947(2) Å, V 1193.2 Å³, Z 4. The structure was solved by directed methods and refined by the full-matrix least square method to R 4.8%. The molecule of ddT(3'NHMe) has *anti*-conformation with respect to the glycosidic bond ($\chi(\text{O4}'\text{-C1}'\text{-N1-C2}) = -106.7^\circ$), $\text{C3}'\text{-endo-C4}'\text{-exo}$ puckering of the sugar moiety ($P = 28.8^\circ$, $\Phi = -31.5^\circ$) and *gauche-gauche* conformation about exocyclic $\text{C4}'\text{-C5}'$ bond ($\varphi(\text{C3}'\text{-C4}'\text{-C5}'\text{-O5}') = 45.8^\circ$). The structure of ddT(3'NHMe) was compared with those of 3'-amino-3'-deoxythymidine, 3'-azido-3'-deoxythymidine and natural thymidine.