

Конформаційний простір 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридину і 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксицитидину, нуклеозидних інгібіторів ВІЛ-1 зворотної транскриптази: вичерпне квантово-хімічне дослідження

А.Г. Пономарьова¹, Є.П. Юренко^{1-3*}, Р.О. Жураківський^{1,2}, Д.М. Говорун¹⁻³

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
вул. Акад. Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

² Науково-навчальний центр «Державна ключова лабораторія молекулярної і клітинної біології»
вул. Акад. Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

³ Інститут високих технологій, Київський національний університет імені Тараса Шевченка
просп. Глушкова, 2г, Київ, 03022, Україна

Резюме. Уперше на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31++G(d,p) представлено результати вичерпного квантово-хімічного конформаційного аналізу нуклеозидних аналогів 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридину (d4U) і 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксицитидину (d4C). На їхній енергетичній гіперповерхні виявлено 20 та 19 мінімумів відповідно, які є стійкими конформерами. Конформери d4U і d4C стабілізуються складною системою специфічних внутрішньомолекулярних взаємодій, яка включає традиційні (ОН...О) та слабкі (СН...О, СН...НС) Н-зв'язки, а також ван-дер-ваальсівські контакти (С...О). Встановлено, що з конформаційної точки зору немає жодних перешкод для інкорпорації d4U і d4C у структуру подвійної спіралі ДНК в А- та В-формах. Менше виражена біологічна активність d4U у порівнянні з 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокситимідином (d4Т) зумовлена, швидше за все, не відмінністю їхніх конформаційних властивостей, а наявністю об'ємної метильної групи в положенні 5 d4Т, яка, ймовірно, може розпізнаватися потенційними ферментами-мішенями.

Ключові слова: 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридин, 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксицитидин, конформаційний аналіз, водневі зв'язки, біологічна активність, топологічний аналіз електронної густини, NBO-аналіз.

Вступ. Пошук і розробка нових препаратів проти ВІЛ-1/СНІД є одним з найактуальніших завдань сучасної молекулярної фармакології [1, 2]. Незважаючи на те що на практиці використовується декілька десятків офіційно запатентованих антиретровірусних препаратів [3], дослідження в цьому напрямі не припиняються у зв'язку з доволі високою цитоток-

сичністю наявних ліків. Так, зокрема, деякі інгібітори зворотної транскриптази (ЗТ) можуть вступати у взаємодії з мітохондріальною полімеразою γ [4] і резистентністю вірусу ВІЛ-1, спричиненою мутаціями [5, 6].

Важливу роль у терапії СНІДу відіграють 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксинуклеозиди, які не мають гідроксильної групи в положенні 3' [7]. Після активації клітинними кіназами та входження в активний трифосфат-зв'язувальний сайт ЗТ вони служать термінаторами вірусної реплікації [8]. Серед представників цього класу лише 2',3'-дидегідро-2',3'-диде-

* Corresponding author.

Tel.: +38044-5261109

E-mail address: yevgen.yurenko@gmail.com

© А.Г. Пономарьова, Є.П. Юренко, Р.О. Жураківський, Д.М. Говорун, 2011

зокситимідин (d4T, ставудин) зареєстрований і застосовується на практиці як лікарський препарат. Інші 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксинуклеозиди, які містять канонічні основи ДНК і РНК, також розглядають як потенційні інгібітори ЗТ [7], проте механізми їхньої активності залишаються недостатньо дослідженими. Так, зокрема, відомо, що 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксицитидин (d4C), як і d4T, має антиретровірусну активність [9]. Крім того, на відміну від деяких інших нуклеозидних аналогів, d4C *in vitro* при концентрації 10 μM не чинить впливу на мітохондріальну ДНК [10]. Також встановлено [10], що заміна кисню на сірку в положенні 4' d4C підвищує його здатність інгібувати вірус ВІЛ-1 дикого типу, але знижує активність щодо ламівудин-резистентного вірусу. Що ж стосується 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридину (d4U), то він не проявляє значної біологічної активності ні у вільній [11], ні у фосфорильованій [12] формах. Цей факт є цікавим з огляду на те, що молекули d4T і d4U є хімічно спорідненими та відрізняються лише наявністю метильної групи в d4T у положенні 5' основи. Проте деякі хімічні модифікації d4U у цьому ж положенні перетворюють його на ефективний інгібітор ЗТ [13].

Відомо, що для активації нуклеозидний препарат має пройти декілька стадій біомолекулярного впізнавання, взаємодіючи з білками-рецепторами, транспортерами, фосфорилуючись кіназами та/або 5'-нуклеотидазами і у формі нуклеозидтрифосфату розпізнатися мішенню — активним центром ферменту [14-16]. На кожній із цих стадій він набуває унікальної тривимірної структури (конформації) [17]. Отже, першим кроком на шляху до з'ясування механізмів біологічної активності нуклеозидів має бути конформаційний аналіз.

Результати експериментального дослідження конформацій d4C і d4U методом рентгеноструктурного аналізу [18] засвідчили, що в елементарній кристалічній комірниці d4C містяться дві доволі подібні між собою воднево зв'язані структури, тоді як у випадку d4U вони суттєво різняться значенням кута χ ($\chi_A = -96,1^\circ$, $\chi_B = -178,0^\circ$).

Мета цієї роботи — пошук повного конформаційного сімейства d4C і d4U, а також дослідження природи специфічних внутрішньомолекулярних

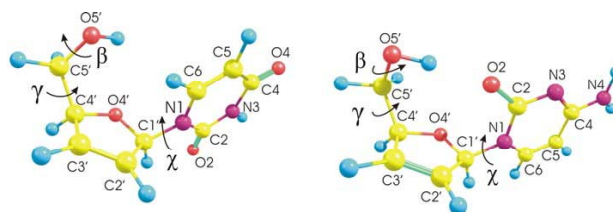


Рис. 1. Просторова будова, нумерація атомів і номенклатура торсійних кутів d4U (ліворуч) та d4C (праворуч).

лекулярних взаємодій, які стабілізують усі можливі конформери. Це, на думку авторів, дасть змогу знайти відмінності між конформаційними властивостями d4C та d4U і порівняти їх з іншим піримідиновим аналогом — d4T [19]. Окрім того, отримана інформація стане основою для подальшого молекулярно-динамічного моделювання докінгу в системі «фермент—субстрат» методами QM/MM.

Розрахункові методи. Просторову будову молекул d4U та d4T, нумерацію їх атомів і позначення торсійних кутів [20] зображено на рис. 1. Процедуру квантово-хімічного обчислювального експерименту детально описано в наших попередніх роботах [19, 21].

Для одержання повних конформаційних сімейств d4U і d4T ми оптимізували 36 стартових структур, які згенерували всіма можливими комбінаціями трьох діапазонів значень для конформаційних змінних γ та β , що відповідають незатіненим структурам, а також чотирьох діапазонів (*syn*, *anti*, *high-syn*, *high-anti*) для змінної χ .

Природу внутрішньомолекулярних специфічних взаємодій досліджували методом натуральних зв'язувальних орбіталей (*natural bond orbitals* — NBO [22]). Взаємодії між доном (i) та акцептором (j) вивчали, аналізуючи матрицю Фока другого порядку. Енергію стабілізації, яка вивільняється внаслідок міграції електронної густини з ідеальної льюїсівської структури на розпушуючу орбіталь σ^* , оцінювали за формулою:

$$E^{(2)} = \Delta E_{ij} = q_i \frac{F(i,j)^2}{\epsilon_j - \epsilon_i} \quad (1),$$

де q_i — заселеність орбіталі-донора, ϵ_j та ϵ_i — діагональні елементи NBO-матриці Фока, $F(i,j)$ — недіагональний елемент.

Енергії специфічних внутрішньомолеку-

лярних взаємодій оцінювали методом Еспінози-Молінса-Леконта (ЕМЛ) [23]. Окрім того, їхню міцність досліджували, використовуючи формалізм сталих гнучкості [24], уперше запропонований Грюненбергом [25]. Перевагою цього підходу є незалежність числових значень сталих гнучкості від вибору системи координат. Сталі гнучкості визначаються як часткові похідні другого порядку від потенціальної енергії по відношенню до зовнішньої сили:

$$C_{ij} = \partial^2 E / \partial f_i \partial f_j \quad (2).$$

Вони є особливо ефективними для опису міцності внутрішньомолекулярних Н-зв'язків, оскільки відстані донор—Н—акцептор можуть бути представлені як внутрішні координати, і в цьому випадку сталі описують внутрішньомолекулярні сили. Тобто сталі гнучкості мають сенс зсуву певної внутрішньої координати під дією зовнішньої сили. Як впливає з рівняння (2), менше значення сталої гнучкості є індикатором міцнішого зв'язку.

Усі квантово-хімічні розрахунки проводили з використанням ліцензійного пакету Gaussian 03 (revision C.02) для платформи Win32.

Результати й обговорення. В основному стані повні конформаційні сімейства 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокси-аналогів канонічних піримідинових нуклеозидів виявилися відносно невеликими: 20 конформерів d4U лежать в інтервалі вільних енергій Гіббса 5,20 ккал/моль, тоді як 19 конформерів d4C займають енергетичний діапазон 6,08 ккал/моль (табл. 1, 2). Чотири енергетично найвигідніші конформери кожного нуклеозиду зображені на рис. 3 і 4. Раніше на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p) було встановлено, що 2'-дезоксириндин (dU) має 94 конформери [26], а 2'-дезоксипіритидин (dC) — 88 [27]. Таке зменшення конформаційної ємності нуклеозидних аналогів у порівнянні з канонічними нуклеозидами пов'язане з наявністю подвійного зв'язку C2'=C3' в цукровому залишку. Значення дипольних моментів d4U (3,48÷7,73 D) і d4C (4,70÷7,90 D) указують на те, що полярні характеристики двох молекул є доволі подібними. Різниця значень відносної енергії Гіббса сусідніх конформерів становить 0,03-1,04 ккал/моль (у середньому ~0,35 ккал/моль) для d4U, від-

Таблиця 1

Енергетичні, структурні та полярні характеристики всіх можливих конформерів d4U, отримані на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31++G(d,p)

Конформер	ΔG	D	P	ν_{\max}	χ	β	γ	τ_{\max}	$l(C1'-N1)$
1	0,00	5,79	84,3	8,3	-104,2	71,6	60,1	1,6	1,469
2	0,64	7,58	86,7	5,8	-121,1	168,6	46,9	1,1	1,473
3	0,87	5,50	92,8	8,3	-110,3	-56,8	178,1	1,6	1,470
4	1,50	5,70	90,9	9,2	-109,5	-173,7	-67,4	1,7	1,472
5	1,55	7,73	100,3	5,7	-135,6	-74,1	50,7	0,9	1,478
6	1,75	5,81	108,2	10,0	65,8	46,6	37,1	3,4	1,482
7	2,06	5,58	92,4	9,3	-109,5	-80,5	-67,5	1,8	1,470
8	2,57	5,06	137,7	4,3	70,4	-62,5	178,6	3,3	1,479
9	2,77	5,40	91,7	10,3	-174,7	62,0	46,2	4,1	1,498
10	3,06	6,28	226,8	1,1	-172,1	178,8	-177,7	2,6	1,503
11	3,12	5,72	93,2	9,4	-112,0	84,6	-71,5	1,6	1,471
12	3,17	7,00	244,8	2,8	-170,9	62,5	172,8	2,11	1,501
13	3,23	6,87	90,2	9,8	-113,0	-169,3	-169,2	1,4	1,473
14	3,42	3,48	140,3	3,6	69,8	170,6	-71,3	3,7	1,482
15	3,43	4,69	92,6	4,9	-166,4	83,9	-71,7	1,0	1,497
16	3,51	7,28	93,4	9,8	-115,0	60,8	-179,5	1,6	1,471
17	4,03	4,08	157,3	3,2	69,1	-156,7	-169,9	3,7	1,483
18	4,13	4,28	161,2	3,1	71,2	95,5	-68,1	3,8	1,482
19	4,16	5,48	137,1	3,9	69,3	-78,4	-70,4	3,6	1,480
20	5,20	6,54	168,6	3,4	71,1	65,5	-177,3	3,8	1,481

Примітки. Позначення кутів P, ν_{\max} , χ , γ і β — стандартні [20], величини наведено в градусах; ΔG — відносна вільна енергія Гіббса за температури T=298,15 K, ккал/моль; D — дипольний момент, дебай; τ_{\max} — максимальне абсолютне значення серед усіх торсійних кутів усередині піримідинового кільця, градуси; $l(C1'-N1)$ — довжина глікозидного зв'язку, ангстрем. Структурні характеристики отримано методом DFT B3LYP/6-31++G(d,p), енергетичні — методом MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31++G(d,p). Конформації пронумеровано в порядку зростання відносної енергії Гіббса ΔG .

повідний діапазон для d4C — 0,03-1,04 ккал/моль (у середньому ~0,34 ккал/моль).

Як свідчать дані рентгеноструктурного аналізу і спектроскопії ЯМР [20], а також квантово-хімічні розрахунки [26, 27], підсімейства цукрового залишку C2'-endo і C3'-endo є найбільш заселеними у випадку канонічних нуклеозидів. Протилежна ситуація спостерігається для досліджуваних 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокси-аналогів, де розподіл за кутом псевдообертання P має такий вигляд (рис. 2): O4'-

endo (13 конформерів d4U та 11 — d4C), C2'-endo (3 — d4U, 3 — d4C), C1'-exo (4 — d4U, 2 — d4C), C3'-exo (2 — d4C), C4'-endo (1 — d4C). Оскільки гнучкість фуранозного кільця 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокси нуклеозидних аналогів обмежена наявністю ненасиченого зв'язку C2'=C3', значення амплітуди псевдообертання v_{\max} лежать у доволі вузьких межах 1,1÷10,3° для d4U і 1,0÷11,6° для d4C.

Для порівняння зазначимо, що середні значення v_{\max} дезоксирибози й рибози у складі нуклеозидів і нуклеотидів (отримані на основі рентгеноструктурного аналізу низки кристалічних структур [28]) становлять відповідно 35,2° та 37,1°.

Кути β і γ , які визначають положення метоксильної групи цукрового залишку, потрапляють у три конформаційні сектори (рис. 2) — g+, t і g-. Виняток становить лише одне значення кута β (95,5° для d4U та 96,1° для d4C). Глікозидний кут χ , який характеризує взаємну орієнтацію основи й цукрового залишку, лежить у трьох секторах — syn, anti та high-anti.

Цікаво, що всі без винятку представники підсімейства O4'-endo мають anti- або high-орієнтацію основи, інші ж конформери, за винятком трьох d4C (C1'-exo, C4'-endo, C2'-endo), є syn-конформерами. Значення кута χ syn-конформерів лежать у вузьких і приблизно однакових інтервалах для обох нуклеозидних аналогів (рис. 2): $65,8^\circ \leq \chi_{\text{syn}} \leq 71,2^\circ$ (d4U), $67,9^\circ \leq \chi_{\text{syn}} \leq 73,1^\circ$ (d4C). Розкид χ для anti- та high-anti-конформерів є таким: $-174,7^\circ \leq \chi_{\text{anti}} \leq -135,6^\circ$ (d4U), $-121,1^\circ \leq \chi_{\text{high-anti}} \leq -104,2^\circ$ (d4U), $-174,1^\circ \leq \chi_{\text{anti}} \leq -132,6^\circ$ (d4C), $-119,4^\circ \leq \chi_{\text{high-anti}} \leq -106,4^\circ$ (d4C). Як бачимо, на відміну від dU [26] і dC [27], у d4U та d4C спостері-

Таблиця 2

Енергетичні, структурні та полярні характеристики всіх можливих конформерів d4C, отримані на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31++G(d,p)

Конформер	ΔG	D	P	v_{\max}	χ	β	γ	τ_{\max}	I (C1'-N1)
1	0,00	5,55	81,4	9,0	-106,4	66,2	62,2	0,5	1,466
2	0,83	7,46	88,5	10,9	-119,4	-173,4	-67,8	0,9	1,470
3	1,34	5,60	92,9	4,5	-158,8	-60,3	55,1	4,5	1,484
4	1,56	4,80	88,4	7,5	-161,1	-51,9	178,1	3,6	1,485
5	1,66	7,61	115,0	8,8	67,9	46,1	36,0	4,7	1,479
6	1,69	6,22	90,5	9,3	-118,8	-53,6	176,6	1,1	1,468
7	1,71	7,90	81,2	6,9	-132,6	172,1	48,5	2,9	1,474
8	2,32	4,70	91,3	11,6	-174,1	56,0	47,3	4,5	1,489
9	2,46	7,10	89,0	7,0	-166,2	-177,9	-69,6	0,9	1,489
10	2,70	5,45	89,8	10,9	-119,0	-77,3	-68,1	1,1	1,468
11	2,85	5,50	89,6	7,1	-165,0	-75,7	-69,3	1,5	1,488
12	2,92	5,22	229,2	1,8	-171,2	59,3	173,8	2,0	1,493
13	3,12	6,40	153,9	4,3	71,3	-63,6	178,0	3,9	1,476
14	3,15	6,80	123,5	1,5	-171,8	178,8	-176,5	2,5	1,494
15	3,31	5,17	95,1	4,7	-169,1	79,4	-71,0	0,7	1,490
16	4,17	5,06	166,7	3,5	71,0	164,9	-72,0	4,5	1,479
17	4,69	5,87	187,0	3,6	72,7	96,1	-67,0	4,6	1,479
18	5,04	6,33	155,0	3,9	70,5	-76,5	-71,4	4,4	1,477
19	6,08	5,17	188,6	4,0	73,1	64,6	-175,8	4,5	1,478

Примітка: позначення ті ж, що і в табл. 1.

гається чітка тенденція до утворення конформерів high-anti.

Зазначимо, що піримідинове кільце основи є непласким. Ми не зафіксували жодного конформера з пласким гетероциклом. Серед внутрішньокільцевих двограних кутів C6N1C2N3, C5C6N1C2, N1C2N3C4, C4C5C6N1, N3C4C5C6 перший змінюється в найширшому інтервалі: від $-3,8^\circ \div 1,8^\circ$ (середнє значення становить $-1,3^\circ$)

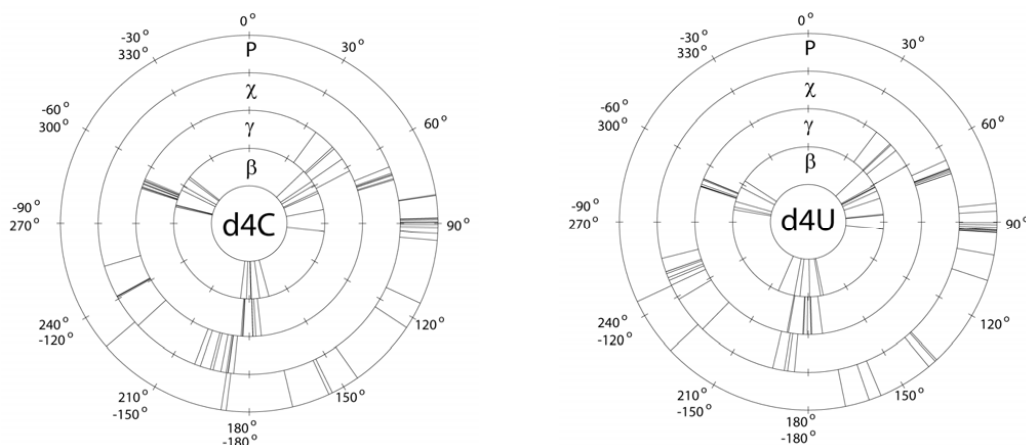


Рис. 2. Конформаційні кільця для d4U (праворуч) і d4C (ліворуч).

Статистичні параметри хімічних зв'язків (у т.ч. глікозидного) і валентних кутів цукрового кільця d4C, отримані на рівні теорії B3LYP/6-31++G(d,p)

d4U		C2'	C3'			
	min ^a , Å	0,039	-0,007			
	max ^b , Å	0,254	0,239			
	mean ^c , Å	0,156	0,135			
	O4'C1'	C1'C2'	C2'C3'	C3'C4'	C4'O4'	C2'N1
min ^d , Å	1,412	1,507	1,330	1,502	1,439	1,469
max ^e , Å	1,433	1,510	1,333	1,508	1,455	1,483
mean ^f , Å	1,423	1,508	1,332	1,505	1,445	1,476
std ^g , Å	0,007	0,001	0,001	0,002	0,005	0,005
std/mean	0,005	0,001	0,001	0,001	0,003	0,003
	O4'C1'C2'	C1'C2'C3'	C2'C3'C4'	C3'C4'O4'	C4'O4'O1'	
min ^h , град.	104,5	109,2	109,9	103,8	110,3	
max ⁱ , град.	105,5	109,9	110,4	104,4	111,0	
mean ^j , град.	105,0	109,6	110,2	104,2	110,6	
std ^k , град.	0,4	0,2	0,2	0,2	0,1	
std/mean	0,004	0,002	0,002	0,002	0,001	

Примітки. ^{a,b,c} Мінімальне, максимальне і середнє відхилення атомів C2' і C3' із площини C1'O4'C4'. ^{d,e,f} Мінімальне, максимальне та середнє значення довжин зв'язків. ^g Середньоквадратичне відхилення для довжин зв'язків. ^{h,i,j} Мінімальні, максимальні й середні величини валентних кутів. ^k Середньоквадратичне відхилення для величин валентних кутів.

для d4U і $-4,7^\circ \pm 4,5^\circ$ (середнє значення — $-2,1^\circ$) у випадку d4C.

Статистичний аналіз довжин ковалентних зв'язків засвідчив (табл. 3, 4), що цукрові залишки обох нуклеозидних аналогів є дещо гнучкішими, ніж основи, при цьому цукор d4C є жорсткішим у порівнянні з d4U. У d4U конформаційно найчутливішим є зв'язок O4'C1' (середньоквадратичне відхилення $S=0,007$ Å, відношення S до середньої довжини $S/d_{\text{mean}}=0,005$), у d4C такими зв'язками є внутрішньоцукровий C5'O5' і глікозидний C1'N1 ($S=0,006$ Å,

$S/d_{\text{mean}}=0,004$ для обох зв'язків). Крім того, зв'язки основи N1C2 та N1C6, суміжні з глікозидним, у d4C є досить мобільними ($S=0,005$ Å, $S/d_{\text{mean}}=0,003$ і $S=0,004$ Å, $S/d_{\text{mean}}=0,003$ для N1C2 і N1C6 відповідно), на відміну від d4U ($S=0,002$, $S/d_{\text{mean}}=0,001$ для обох зв'язків).

Оскільки з усіх піримідинових 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокси- нуклеозидних аналогів лише ставудин (2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокситимідин) є зареєстрованим лікарським препаратом і широко застосовується в антиретровірусній терапії, то цікаво порівняти конформаційні властивості d4T [19] з аналогічними властивостями d4U і d4C. Так, можна виділити трійки конформерів d4T, d4U та d4C відповідно (номери відповідають порядку в конформаційному сімействі), які мають значення кутів χ , β , γ , що лежать в одному діапазоні (syn, anti, high-anti — для χ , g⁺, t або g- у випадку β і γ): 1-1-1, 2-2-7, 3-3-6, 4-4-2, 5-6-5, 6-5-3, 7-7-10, 8-8-13, 9-9-8, 10-10-14, 11-11-відсутній, 12-12-12, 13-14-16, 14-13-відсутній, 15-15-15, 16-16-відсутній, 17-17-відсутній, 18-19-18, 19-20-19. На основі здобутих даних можна констатувати, що пара нуклеозидів d4T/d4U є дуже схожою з точки зору конформаційних властивостей, на відміну від пар d4T/d4C і d4U/d4C. Модулі різниці між значеннями торсійних кутів у

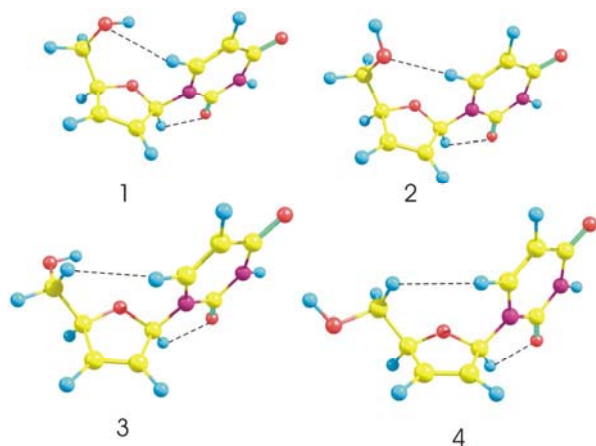


Рис. 3. Просторова будова чотирьох енергетично найвигодніших конформерів d4U. Пунктиром позначено H-зв'язки.

Статистичні параметри хімічних зв'язків (у т.ч. глікозидного) і валентних кутів цукрового кільця d4U, отримані на рівні теорії B3LYP/6-31++G(d,p)

d4C		C2'	C3'			
	min ^a , Å	-0,025	-0,042			
	max ^b , Å	0,285	0,280			
	mean ^c , Å	0,109	0,087			
	O4'C1'	C1'C2'	C2'C3'	C3'C4'	C4'O4'	C2'N1
min ^d , Å	1,413	1,506	1,330	1,503	1,439	1,474
max ^e , Å	1,429	1,509	1,333	1,508	1,454	1,494
mean ^f , Å	1,419	1,508	1,331	1,504	1,447	1,484
std ^g , Å	0,003	0,001	0,001	0,002	0,004	0,006
std/mean	0,002	0,001	0,001	0,001	0,003	0,004
	O4'C1'C2'	C1'C2'C3'	C2'C3'C4'	C3'C4'O4'	C4'O4'O1'	
minh, deg.	104,6	109,3	109,9	103,7	110,2	
maxi, deg.	105,3	110,0	110,5	104,4	110,9	
meanj, deg.	105,1	109,5	110,2	104,2	110,6	
stdk, deg.	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	
std/mean	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002	

Примітка: позначення ті ж, що в табл. 3.

d4T та d4U є такими: $0^\circ \leq \Delta\beta \leq 2,8^\circ$, $0,1^\circ \leq \Delta\gamma \leq 0,8^\circ$ і $0,1^\circ \leq \Delta\chi \leq 1,2^\circ$, різниці дипольних моментів між подібними конформерами лежать у межах $0,07 \div 0,49$ D. Усі пари подібних конформерів d4T/d4U, за винятком **8-8**, належать до одного підсімейства цукрового кільця, при цьому абсолютні різниці між відповідними значеннями кута псевдообертання P і максимальної амплітуди вигину ν_{\max} знаходяться в діапазонах $0,2 \div 11,1^\circ$ та $0^\circ \leq \Delta\nu_{\max} \leq 0,7^\circ$. Що ж стосується пар конформерів d4T/d4C, то 9 із них мають однаковий вигин цукрового кільця, 6 — різний, модулі різниці між дипольними моментами потрапляють у межі $0,01 \div 1,95$ D (у середньому $1,12$ D), а різниці між торсійними кутами є такими: $0,3^\circ \leq \Delta\beta \leq 12,8^\circ$ (у середньому — $5,0^\circ$), $0,3^\circ \leq \Delta\gamma \leq 12,9^\circ$ (середнє значення — $3,7^\circ$), $0,2^\circ \leq \Delta\chi_{\text{syn}} \leq 2,3^\circ$, $11,8^\circ \leq \Delta\chi_{\text{anti}} \leq 70,7^\circ$ (середнє значення — $48,9^\circ$).

Енергетично вигіднішим конформером d4U (рис. 3), як і у випадку d4T [19], є структура O4'-endo/high-anti/g⁺(β)/g⁺(γ), яка стабілізується двома доволі міцними водневими (H) зв'язками — C6H...O5' і C1'H...O2. Що ж стосується d4C, то структура його глобального мінімуму на гіперповерхні енергії Гіббса є подібною до d4U та d4T і стабілізується тими ж внутрішньомолекулярними H-зв'язками (рис. 4). Цікаво зазначити, що енергетично найвигідніший конформер канонічного 2'-дезокситимідину [29] має дуже подібний до d4T розподіл

торсійних кутів у конформації глобального мінімуму: $\chi(-119,1^\circ) \in \text{anti}$, $\beta(69,5^\circ) \in \text{g}^+$, $\gamma(61,4^\circ) \in \text{g}^+$. Найстабільніші ж конформери 2'-дезоксиуридину [26] і 2'-дезоксцитидину [27], навпаки, є syn-, а не anti-конформерами.

Порівняння результатів розрахунку з даними рентгеноструктурного аналізу для d4U і d4C [18] засвідчило (табл. 5), що двом структурам у кристалічній комірці d4U і d4C відповідає один конформер у вільному стані (**5** та **1** у випадках d4U і d4C відповідно). Деякі відмінності в значеннях торсійних кутів між кри-

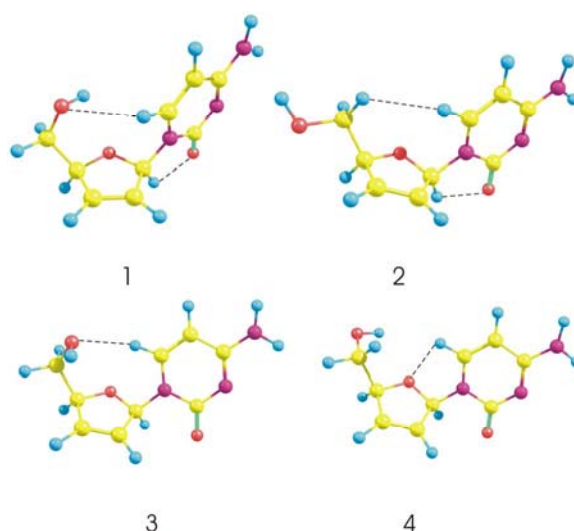


Рис. 4. Просторова будова чотирьох енергетично найвигідніших конформерів d4C. Пунктиром позначено H-зв'язки.

Таблиця 5

Порівняння даних рентгеноструктурного аналізу d4U і d4C з результатами квантово-хімічних розрахунків

Конформер	Р	χ	γ	β
5 ^a	100,3	-135,6	50,7	-74,1
d4U1 ^b	98,4	-178,0	54,1	-48,6
d4U2 ^b	102,7	-96,1	53,2	-
1 ^a	81,4	-106,4	62,2	66,2
d4C1 ^b	124,7	-87,8	47,3	99,5
d4C2 ^b	148,5	-82,6	55,2	90,1

Примітка. Позначення кутів такі само, що і в табл. 1 та на рис. 1. ^a Розраховані конформери 5 і 1 dU та d4C відповідно. ^b Структури, що спостерігаються в кристалічному стані [18]. Значення кута β для структури d4U2 в експерименті не встановлено. Розрахунок на рівні теорії B3LYP/6-31++G(d,p).

талічними й вільними конформерами пояснюються впливом сил кристалічного пакування.

Специфічні внутрішньомолекулярні взаємодії. Топологічний аналіз електронної густини за Бейдером виявив 26 контактів за участі атома водню в конформерах d4U і 23 контакти в конформерах d4C (табл. 6, 7). Загалом ми ідентифікували 14 конформерів d4U та 15 d4C з одним Н-зв'язком, тоді як 6 конформерів d4U і 4 конформери d4C стабілізуються двома Н-зв'язками. Усі знайдені Н-контакти можна віднести до 8 типів: O5'H...O2 (1 конформер d4U, 1 конформер d4C), C1'H...O2 (9 — d4U, 5 — d4C), C6H...O5' (3 — d4U, 3 — d4C), C5'H1'...O2 (3 — d4U, 2 — d4C), C5'H2'...O2 (3 — d4U, 3 — d4C), C6H...O4' (4-d4U, 7 — d4C), C6H...N1'C5' (1 — d4U, 1-d4C), C6H...N2'C5' (2 — d4U, 1 —

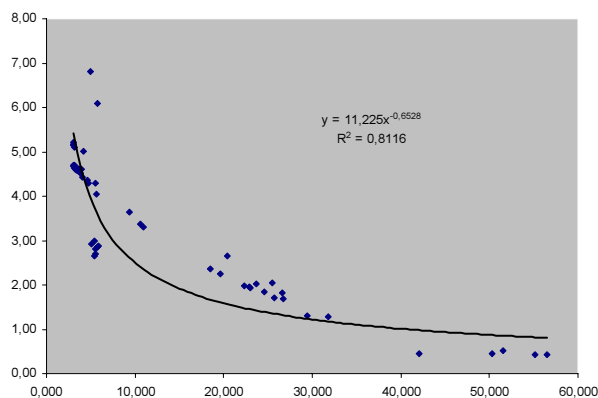


Рис. 5. Кореляційна залежність між енергією специфічних внутрішньомолекулярних взаємодій (y ккал/моль, вісь y) і значеннями констант гнучкості (вісь x , в $\text{Å}/\text{мДин}$).

d4C). Для порівняння зазначимо, що у 2'-дезоксигуанидині спостережено 14 типів Н-зв'язків [26], а у 2'-дезоксигуанідині — 13 [27]. Крім того, усі типи Н-контактів у 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокси-піримідинових аналогах, за винятком C6H...N1/2'C5', були виявлені у відповідних природних нуклеозидах [26, 27].

Усі специфічні взаємодії за участі атома водню є конформаційно чутливими. Так, контакти C1'H...O2, C6H...O5', C6H...O4', C6H...N1'C5' і C6H...N2'C5' зустрічаються винятково в anti- або high-anti-конформерах, а взаємодії типу O5'H...O2, C5'H1'...O2, C5'H2'...O2 є характерними для syn-конформерів. В останніх також зафіксовано неводневі взаємодії C2'...O2, які проявляються наявністю критичної точки (3,-1), в якій лапласіан електронної густини набуває позитивного значення. Це дає можливість припустити, що C2'...O2 є, швидше за все, ван-дер-ваальсовими контактами і належать до широкого класу взаємодій із закритими електронними оболонками (closed-shell interactions [30]). Акцепторами Н-зв'язування служать атоми O2, O4' (лише в конформерах d4C) та O5', а донорами є атоми цукрового залишку C5', C1' і O5', а також атом основи С6. Основним акцептором Н-зв'язування у d4U є атом O2 (16 Н-контактів), у d4C він залучений в 11 Н-контактів. Слід відзначити, що і в канонічних піримідинових нуклеозидах атом O2 основи є основним акцептором Н-зв'язування (залучений у ~50 % від усіх Н-зв'язків) [26, 27, 29]. Важливою є роль O2 і у формуванні Н-зв'язків між ДНК та лікарськими препаратами-мішенями [31]. Торсійний кут γ визначає, який із двох воднів при атомі С5' бере участь у Н-зв'язуванні: у випадку $\gamma \in t$ це атом Н1', у випадку $\gamma \in g$ — атом Н2'.

Усі Н-контакти, окрім СН...НС, задовольняють традиційний геометричний критерій водневого зв'язування: відстань між воднем та атомом-акцептором має бути меншою за суму їхніх ван-дер-ваальсових радіусів Бонді [32] Σr^{vdW} ($\Sigma r^{vdW}=2,72 \text{ Å}$ для Н...О, $\Sigma r^{vdW}=2,2 \text{ Å}$ для Н...Н). Встановлено, що електронна густина ρ у критичній точці (3,-1) добре корелює з енергією внутрішньомолекулярної взаємодії E , розрахованою за методом ЕМЛ [23] (коефіцієнт кореляції становить 0,99), задовільна кореляція спостерігається і між лапласіаном елек-

Геометричні, енергетичні та електронно-топологічні характеристики специфічних внутрішньомолекулярних контактів у конформерах d4U

Конформер $\chi/\psi/\beta$	Контакт	d(A...B) ^a	d(H...B) ^b	$\angle AHB^c$	ρ^d	$\nabla^2 \rho^e$	100· ϵ^f	E ^g	d(BCP-RCP) ^h	C _{ij} ⁱ	
1	high-anti/g+/g+	C6H...O5'	3,438	2,669	127,5	0,007	0,025	32	1,30	0,719	29,443
		C1'H'...O2	2,782	2,238	108,3	0,019	0,078	130	4,60	0,192	3,257
2	high-anti/g+/t	C6H...O5'	3,308	2,263	161,0	0,014	0,043	8	3,31	0,867	10,978
		C1'H'...O2	2,788	2,225	109,5	0,019	0,077	100	4,68	0,227	3,100
3	high-anti/t/g-	C1'H'...O2	2,786	2,224	109,4	0,019	0,078	103	4,69	0,221	3,119
		C5'H1'...HC6	3,446	2,576	136,7	0,003	0,012	81	0,44	0,223	42,066
4	high-anti/g-/t	C1'H'...O2	2,789	2,230	109,3	0,019	0,077	109	4,64	0,216	3,161
		C5'H2'...HC6	3,490	2,627	136,1	0,003	0,011	405	0,42	0,062	56,529
5	anti/g+/g-	C6H...O5'	3,311	2,233	172,0	0,016	0,044	6	3,63	0,833	9,339
		C1'H'...O2	2,769	2,248	106,7	0,019	0,079	154	4,60	0,169	3,932
6	syn/g+/g+	O5'H'...O2	2,851	1,888	169,2	0,026	0,084	4	6,10	1,052	5,697
7	high-anti/g-/g-	C1'H'...O2	2,787	2,227	109,3	0,019	0,077	106	4,66	0,219	3,150
8	syn/t/g-	C5'H1'...O2	3,422	2,542	136,6	0,008	0,029	10	1,70	0,780	25,673
9	anti/g+/g+	C6H...O4'	2,706	2,234	103,9	0,019	0,076	55	4,62	0,650	3,456
10	anti/t/t	C6H...O4'	2,715	2,243	104,0	0,019	0,076	64	4,60	0,614	3,827
11	high-anti/g-/g+	C1'H'...O2	2,788	2,224	109,6	0,019	0,077	100	4,68	0,226	3,113
		C5'H2'...HC6	3,502	2,612	139,0	0,003	0,011	264	0,42	0,090	55,110
12	anti/t/g+	C6H...O4'	2,720	2,556	103,5	0,018	0,075	72	4,51	0,576	3,810
13	high-anti/t/t	C1'H'...O2	2,792	2,227	109,6	0,019	0,077	103	4,65	0,223	3,102
14	syn/g-/t	C5'H2'...O2	3,374	2,506	135,3	0,009	0,030	10	1,85	0,814	24,578
15	anti/g-/g+	C6H...O4'	2,737	2,282	103,0	0,018	0,072	78	4,30	0,541	5,574
16	high-anti/t/g+	C1'H'...O2	2,788	2,221	109,8	0,019	0,077	96	4,70	0,233	3,079
17	syn/t/t	C5'H1'...O2	3,355	2,464	137,6	0,010	0,032	11	2,04	0,802	25,498
18	syn/g-/g+	C5'H2'...O2	3,374	2,484	137,7	0,009	0,032	10	1,96	0,828	22,929
		C2'...O2	2,907	-	-	0,012	0,043	250	2,66	0,145	5,412
19	syn/g-/g-	C5'H2'...O2	3,378	2,537	133,1	0,008	0,029	10	1,68	0,792	26,736
20	syn/t/g+	C5'H1'...O2	3,389	2,504	137,4	0,009	0,030	11	1,82	0,806	26,595
		C2'...O2	2,896	-	-	0,012	0,044	213	2,70	0,164	5,548
Мінімальне значення:			2,706	1,888	103,0	0,003	0,011	4	0,42	0,062	3,079
Максимальне значення:			3,502	2,669	172,0	0,026	0,084	405	6,1	1,052	56,529

Примітки. ^a Відстань між двома атомами: донором (A) та акцептором (B), ангстрем. ^b Відстань між воднем (H) та атомом B, ангстрем. ^c Кут Н-зв'язування (для водневих зв'язків), град. ^d Значення електронної густини в критичній точці (3,-1), а.о. ^e Значення лапласіану електронної густини в критичній точці (3,-1), а.о. ^f Еліптичність критичної точки (3,-1). ^g Енергія взаємодії, розрахована за методом ЕМЛ [23], ккал/моль. ^h Відстань від точки (3,-1) до найближчої кільцевої критичної точки (3,-1), а.о. ⁱ Константа гнучкості зв'язку, ангстрем/мДин.

тронної густини $\Delta^2\rho$ та E (0,98). Отже, більшим значенням ρ і $\Delta^2\rho$ відповідають дещо сильніші внутрішньомолекулярні взаємодії. Цей висновок узгоджується з існуючими літературними даними (див., наприклад, [33] і наведену там бібліографію). Ми також розраховували константи гнучкості C_{ij} для всіх специфічних внутрішньомолекулярних взаємодій (табл. 6, 7). Як і очікувалось, меншим значенням C_{ij} відповідають міцніші контакти. Також нами виявлено доволі хорошу кореляцію між енергією E, обчисленою за методом ЕМЛ [23], та C_{ij} (абсолютне значення коефіцієнту кореляції становить 0,88). Співвідношення між E і C_{ij} можна апрокс-

симувати степеневу кривою $y=11,225x^{-0,6528}$ (рис. 5).

Серед усіх Н-контактів у конформерах d4U та d4C лише один O5'H'...O2 належить до класичних Н-зв'язків. Взаємодії ж СН...О та СН...НС можуть бути класифіковані відповідно як слабкі Н-зв'язки і диводневі контакти. Н-зв'язки типу O5'H'...O2 мають відчутну енергію (6,10 ≤ -E ≤ 6,80 ккал/моль) (табл. 6, 7) і є зв'язками середньої міцності згідно з класифікацією Джеффри [34]. Проте відзначимо, що Дезіражу і Штайнер [35] запропонували всі Н-зв'язки в діапазоні енергій 4-15 ккал/моль, які за критеріями Джеффри належать до се-

Геометричні, енергетичні й електронно-топологічні характеристики специфічних внутрішньомолекулярних контактів у конформерах d4C

Конформер χ/β		Контакт	d(A...B) ^a	d(H...B) ^b	\angle AHB ^c	ρ^d	$\nabla^2 \rho^e$	100· ϵ^f	E ^g	d(BCP- RCP) ^h	C _{ij} ⁱ
1	high-anti/g+/g+	C6H...O5'	3,445	2,672	127,7	0,007	0,025	41	1,29	1,321	31,830
		C1'H'...O2	2,748	2,182	109,5	0,021	0,080	55	5,09	0,599	3,191
2	high-anti/g-/t	C1'H'...O2	2,754	2,175	110,4	0,021	0,080	49	5,15	0,622	3,066
		C5'H1'...HC6	3,513	2,562	146,0	0,004	0,012	181	0,46	0,244	50,329
3	anti/g+/g-	C6H...O5'	3,333	2,383	145,5	0,012	0,037	5	2,65	0,696	20,378
4	anti/t/g-	C6H...O4'	2,748	2,336	100,5	0,016	0,070	176	4,04	0,168	5,647
5	syn/g+/g+	O5'H'...O2	2,803	1,836	170,0	0,029	0,096	4	6,80	1,081	4,920
6	high-anti/t/g-	C1'H'...O2	2,750	2,169	110,5	0,022	0,080	48	5,21	0,632	3,071
		C5'H2'...HC6	3,452	2,504	145,4	0,004	0,013	62	0,51	0,513	51,569
7	high-anti/g+/t	C6H...O5'	3,326	2,253	169,4	0,015	0,043	7	3,38	0,828	10,656
		C1'H'...O2	2,739	2,198	107,9	0,021	0,080	62	5,01	0,295	4,206
8	anti/g+/g+	C6H...O4'	2,697	2,244	102,7	0,019	0,077	65	4,58	0,317	3,429
9	anti/g-/t	C6H...O4'	2,719	2,281	101,9	0,018	0,073	90	4,36	0,267	4,671
10	high-anti/g-/g-	C1'H'...O2	2,752	2,172	110,4	0,021	0,080	49	5,17	0,627	3,048
11	anti/g-/g-	C6H...O4'	2,723	2,290	101,6	0,018	0,073	99	4,30	0,251	4,767
12	anti/t/g+	C6H...O4'	2,705	2,255	102,5	0,019	0,077	81	4,57	0,288	3,631
13	syn/t/g-	C5H1'...O2	3,361	2,478	136,8	0,009	0,032	11	1,98	0,804	22,315
		C2'...O2	2,868	-	-	0,013	0,046	226	2,88	0,171	5,871
14	anti/t/t	C6H...O4'	2,702	2,247	102,9	0,019	0,077	73	4,61	0,304	3,666
15	anti/g-/g+	C6H...O4'	2,716	2,272	102,3	0,018	0,074	83	4,42	0,281	4,039
16	syn/g-/t	C5'H2'...O2	3,297	2,423	135,9	0,010	0,035	10	2,25	0,851	19,585
		C2'...O2	2,883	-	-	0,013	0,045	232	2,82	0,164	5,496
17	syn/g-/g+	C5'H2'...O2	3,306	2,407	138,5	0,011	0,036	10	2,35	0,859	18,475
		C2'...O2	2,858	-	-	0,014	0,046	126	2,92	0,250	5,119
18	syn/g-/g-	C5H2'...O2	3,318	2,480	132,7	0,009	0,032	11	1,94	0,814	22,989
		C2'...O2	2,878	-	-	0,013	0,046	264	2,85	0,150	5,808
19	syn/t/g+	C5H1'...O2	3,345	2,462	137,0	0,010	0,033	12	2,03	0,825	23,680
		C2'...O2	2,839	-	-	0,014	0,047	105	3,00	0,280	5,382
Мінімальне значення:			2,697	1,836	100,5	0,004	0,012	4	0,46	0,164	3,048
Максимальне значення:			3,513	2,562	170,0	0,029	0,096	264	6,80	1,321	51,569

Примітка: позначення ті ж, що і в табл. 6.

редніх (moderate), вважати міцними (strong), оскільки саме ці зв'язки відповідають за формування більшості кристалічних і супрамолекулярних структур. Утворення взаємодій O5'H...O2 супроводжується подовженням ковалентного зв'язку O5'H' (на 0,008±0,011 Å), зміщенням частоти валентної моди ν (O5'H') на 143±200 см⁻¹ та зростанням інтегральної інтенсивності відповідного коливання в 11,4-15,8 разів у порівнянні зі станом без Н-зв'язку (табл. 8). Енергія Н-зв'язків O5'H...O2, розрахована на основі зсуву частоти, дорівнює 3,34±4,17 ккал/моль (табл. 8).

Переважає більшість Н-контактів у d4U і d4C належать до нетрадиційних Н-зв'язків типу СН...О, а саме: С6Н...О4', С1'Н'...О2, С6Н...О5' та С5'Н1/2'...О2. Відповідно до критеріїв Джеффри [34] контакти С1'Н'...О2 і С6Н...О4' належать

до середніх за міцністю (4≤-E≤15 ккал/моль), тоді як зв'язки С6Н...О5', С5'Н1/2'...О2 можуть вважатися слабкими. Проте геометричні параметри Н-зв'язків С1'Н'...О2 і С6Н...О4' не задовольняють критерії Джеффри [34], які висуваються до середніх за міцністю зв'язків (кут АН...В >130°, а відстань Н...В лежить у діапазоні 1,5±2,2 Å, де А і В — донор та акцептор Н-зв'язування). Натомість значення кута СН...О потрапляє в межі 100,5±109,8°, а відстані Н...О знаходяться в інтервалах 2,198-2,249 Å (С1'Н'...О2) і 2,244-2,333 Å (С6Н...О4'). Незважаючи на більшу міцність групи Н-зв'язків С1'Н'...О2 та С6Н...О4' (4,04≤-E≤5,01 ккал/моль) у порівнянні з групою С6Н...О5', С5'Н1/2'...О2, вони характеризуються меншою відстанню від ВСР (3,-1) до найближчої кільцевої критичної точки RCP (3,+1) (0,160±0,317 Å в порівнянні з

Спектрально-коливальні характеристики внутрішньомолекулярних водневих зв'язків O5'H'...O2 у конформерах d4C і d4U

	Конформер	H-зв'язок	Δd^a , Å	$\Delta \nu^b$, cm^{-1}	I/I_0^c	$\Delta \nu^d$, cm^{-1}	$-\Delta H^e$, ккал/моль
d4C	5	O5'H'...O2	0,011	200	15,8	94	4,17
d4U	6	O5'H'...O2	0,008	143	11,4	81	3,34

Примітки. ^a Подовження зв'язку OH. ^b Зсув частоти валентного коливання $\nu(\text{OH})$ в червону область (cm^{-1}). ^c Відношення інтенсивностей валентного коливання при H-зв'язуванні та відповідного коливання в структурно близькому конформері без відповідного H-зв'язку. ^d Зсув частоти неполицинного коливання в синю область. ^e Енергія H-зв'язку, розрахована за формулою Йогансена [42], ккал/моль.

0,696±0,867 Å) та більшими значеннями еліптичності у ВСП (3, -1) (62±176 Å у порівнянні з 5±32 Å). Ці дані свідчать про те, що контакти C1'H'...O2 і C6H...O4', швидше за все, мають динамічну природу.

Зв'язки C6H...N1/2'C5', які спостерігаються виключно в суп-конформерах, не задовольняють повною мірою геометричні критерії H-зв'язування, тому їх природа потребує подальших досліджень. Раніше було показано [36], що контакти CН...НС у тимідині задовольняють квантово-механічний критерій взаємної проникності, який є аналогом вищезгаданої класичної вимоги $\Sigma r^{\text{vdW}} > d_{\text{H...B}}$. Відзначимо, що для диводневих зв'язків CН...НС відстані між критичними точками ВСП (3,-1) і RCP (3,+1) є доволі малими (0,045-0,530 Å), що, очевидно, свідчить про їх динамічну нестійкість.

Якщо припустити, що взаємодії CН...НС — це H-зв'язки, то в цьому випадку неможливо визначити *a priori*, яка з двох груп CН є донором, а яка акцептором H-зв'язування. Щоб це дослідити, ми в кожному випадку інтегрували басейни атомів водню обох груп у натуральних координатах для отримання характеристик цих атомів. Виявилось, що атом водню групи C6H основи несе на собі позитивний заряд (0,059±0,068 а.о.), тоді як водень цукрового залишку (-0,009 — -0,011 а.о.) заряджений негативно. Це свідчить про те, що у всіх випадках група-донор належить основі, а група-акцептор — цукровому залишку. Усі специфічні досліджені контакти H...H мають енергію (табл. 6, 7), яка вписується в сучасні уявлення про слабкі H-зв'язки: $E_{\text{HB}} \geq 1$ кДж/моль \approx 0,25 ккал/моль [37].

Результати проведеного НВО-аналізу всіх специфічних внутрішньомолекулярних взаємодій у d4U і d4C (табл. 9, 10) показав, що у ви-

падку H-зв'язків OH...O та CН...O відбувається перенесення електронної густини з локалізованої натуральної орбіталі, яка відповідає одній чи двом неподілимим електронним парам кисню на розпушуючу (antibonding) орбіталь групи-акцептора водневого зв'язку. При цьому енергії гіперспряження $E^{(2)}$, знайдені за формулою (1), лежать у межах 0,58±10,25 і 0,52±12,50 ккал/моль для d4U і d4C відповідно. Що стосується диводневих контактів і вандер-ваальсових взаємодій C2'...O2, то для них НВО аналіз не ідентифікував жодної донорно-акцепторної взаємодії між орбіталами (табл. 9, 10).

Раніше було встановлено [38], що конформація 2'-деоксирибонуклеозидів у вільному стані дуже добре корелює зі структурою двоспіральної ДНК. Крім того, як свідчать експериментальні дані [39], в активному центрі полімераз ДНК переходить із форми В в А, яка є більш структурно однорідною, що є важливим для забезпечення високої точності реплікації. Беручи до уваги ці дані, а також маючи на меті зрозуміти конформаційні ефекти на можливі механізми біологічної активності d4U та d4C, ми розраховали (табл. 11) дві структури кожного нуклеозиду з фіксованим кутом χ для $\chi = -158,5^\circ$ і $\chi = -102,4^\circ$, що відповідають так званим «ідеальним» (усередненим на основі даних ЯМР і рентгеноструктурних досліджень) значенням цього кута в А- та В-формах ДНК [40]. Результати засвідчили, що і d4U, і d4C можуть набувати як А-, так і В-конформації, що є важливою передумовою для їх інкорпорації в структуру двоспіральної ДНК. У випадку d4U конформація В є енергетично вигіднішою, ніж А (на 0,60 ккал/моль). Що стосується d4C, то структури В і А є практично квазіенергетичними ($\Delta G_B = 2,03$ ккал/моль та

Таблиця 9

NBO-аналіз донорно-акцепторних взаємодій через специфічні контакти в d4U

Conformer ($\chi/\psi/\beta$)	H-bond	Donor-acceptor NBOs	$E^{(2)}$, kcal/mol	Occupancy of LP	Energy of LP	Occupancy of BD*	Energy of BD*
1	high-anti/g+/g+	C6H...O5' LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,58	1,95240	-0,32213	0,01723	0,45055
		C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,62	1,83965	-0,27277	0,03417	0,43356
2	high-anti/g+/t	C6H...O5' LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	2,72	1,95917	-0,35433	0,02238	0,47843
		C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,79	1,84226	-0,26562	0,03405	0,44126
3	high-anti/t/g-	C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,80	1,83908	-0,27573	0,03476	0,43063
		C5'H1'...HC6	-	-	-	-	-
4	high-anti/g-/t	C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,75	1,83957	-0,27141	0,03487	0,43650
		C5'H2'...HC6	-	-	-	-	-
5	anti/g+/g-	C6H...O5' LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	3,82	1,94974	-0,33509	0,02566	0,47870
		C1'H...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,58	1,97877	-0,62588	0,03407	0,43403
6	syn/g+/g+	C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,40	1,84468	-0,26832	0,02835	0,50126
		O5'H...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	10,25	1,96456	-0,72215	0,03489	0,43449
7	high-anti/g-/g-	C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,77	1,83959	-0,27238	0,02484	0,44447
		C5'H1'...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,61	1,97598	-0,71758	0,01779	0,44455
9	anti/g+/g+	C6H...O4' LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,37	1,96545	-0,59964	0,01743	0,46070
		C6H...O4' LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,96	1,91391	-0,34817	0,03517	0,43242
11	high-anti/g-/g+	C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,81	1,83928	-0,27380	-	-
		C5'H2'...HC6	-	-	-	-	-
12	anti/t/g+	C6H...O4' LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,91	1,90559	-0,33505	0,01722	0,46416
		C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,79	1,83954	-0,27082	0,03530	0,43605
14	syn/g-/t	C5'H2'...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,72	1,97585	-0,71421	0,02210	0,44668
		C6H...O4' LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,90	1,90907	-0,34184	0,01794	0,45210
16	high-anti/t/g+	C1'H...O2 LP(2) _{OS} -BD*(1) _{СН}	1,84	1,83984	-0,27185	0,03529	0,43331
		C5'H1'...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,76	1,97573	-0,71508	0,02156	0,44597
18	syn/g-/g+	C5'H2'...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,75	1,97576	-0,71742	0,01936	0,44453
		C5'H2'...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,63	1,97596	-0,71338	0,01795	0,45700
20	syn/t/g+	C5'H1'...O2 LP(1) _{OS} -BD*(1) _{СН}	0,62	1,97589	-0,71360	0,03565	0,40173

Примітка: LP — орбіталь, що відповідає неподіленій електронній парі; BD* — розпушуюча (antibonding) орбіталь; E⁽²⁾ — енергія, розрахована за формулою (1), ккал/моль.

Таблиця 10

NBO-аналіз донорно-акцепторних взаємодій через специфічні контакти в dC4

Конформер $\chi/\gamma/\beta$	Специфічний контакт	Донорно-акцепторні натуральні орбіталі	$E^{(2)}$, ккал/моль	Заселеність LP	Енергія LP	Заселеність BD*	Енергія BD*
1	high-anti/g+/g+	C6H...O5'	0,57	1,95302	-0,31390	0,01777	0,45571
		C1'H'...O2	2,71	1,97614	-0,67523	0,03589	0,45169
				1,84381	-0,23309		
2	high-anti/g-/t	C1'H'...O2	2,85	1,97608	-0,67413	0,03676	0,45480
				1,84479	-0,23172		
				-	-		
3	anti/g+/g-	C6H...O5'	1,89	1,95167	-0,32164	0,02202	0,48019
4	anti/t/g-	C6H...O4'	0,72	1,91608	-0,33502	0,01837	0,45282
5	syn/g+/g+	O5'H'...O2	12,50	1,85747	-0,24900	0,03356	0,51830
				1,95983	-0,67977		
				1,97599	-0,67832	0,03667	0,44869
6	high-anti/t/g-	C1'H'...O2	2,94	1,84381	-0,23598		
				-	-		
				-	-		
7	high-anti/g+/t	C6H...O5'	1,81	1,95918	-0,34971	0,02382	0,48716
				1,97839	-0,60664		
				1,84982	-0,22599	0,03514	0,45802
8	anti/g+/g+	C6H...O4'	0,77	1,91581	-0,33580	0,01829	0,44912
				1,96576	-0,58865		
				1,91270	-0,32715	0,01843	0,45831
9	anti/g-/t	C6H...O4'	0,88	1,97605	-0,67506	1,84447	-0,23264
				1,91225	-0,32900	0,01828	0,45793
				1,90844	-0,32253	0,01767	0,46823
10	high-anti/g-/g-	C1'H'...O2	0,83	1,97506	-0,67755	0,02460	0,46466
				1,90941	-0,32044	0,01791	0,46522
				1,91120	-0,32891	0,01837	0,45718
11	anti/g-/g-	C6H...O4'	0,88	1,97474	-0,67449	0,02149	0,46716
				1,97474	-0,67449		
				1,97474	-0,67449		
12	anti/t/g+	C5'H2'-O2	1,06	1,97474	-0,67449	0,02149	0,46716
				1,97474	-0,67449		
				1,97474	-0,67449		
13	syn/g-/g+	C5'H2'-O2	1,05	1,97474	-0,67449	0,02149	0,46716
				1,97474	-0,67449		
				1,97474	-0,67449		
14	syn/g-/g-	C5'H2'-O2	0,83	1,97509	-0,67347	0,01793	0,47655
				1,97509	-0,67347		
				1,97510	-0,67411	0,01935	0,47640

Примітка: LP — орбіталь, що відповідає неподіленій електронній парі; BD* — розпушуюча (antibonding) орбіталь; $E^{(2)}$ — енергія, розрахована за формулою (1), ккал/моль.

Енергетичні та конформаційні характеристики ДНК-подібних конформерів d4U і d4C (2 та 7 відповідно) і частково зоптимізованих структур із фіксованим кутом χ , що відповідає ВІ (-158,5°) та АІ (-102,4°) формам ДНК [40]

Нуклеозид	Конформер	D	P, град.	ν_{\max} , град	χ , град.	γ , град.	β , град.	ΔG , ккал/моль	Н-зв'язок
d4U	2	7,58	86,7	5,8	- 121,1	46,9	168,6	0,64	C6H...O5' C1'H'...O2
	A-DNA	7,90	77,2	7,1	- 158,9	52,1	178,6	1,09	C6H...O5'
	B-DNA	7,22	94,9	3,3	- 101,9	46,3	162,6	0,49	C6H...O5' C1'H'...O2
d4C	7	7,90	81,2	6,9	- 132,6	48,5	172,1	1,71	C6H...O5' C1'H'...O2
	A-DNA	7,75	77,1	7,1	- 158,9	52,6	179,3	2,01	C6H...O5'
	B-DNA	7,58	91,7	3,4	- 101,9	46,6	161,1	2,03	C6H...O5' C1'H'...O2

Примітка: позначення ті самі, що і в табл. 1.

$\Delta G_A=2,01$ ккал/моль). В-ДНК-структури d4U і d4C стабілізуються двома Н-зв'язками C6H...O5' та C1'H'...O2, тоді як А-конформації містять лише 1 зв'язок C6H...O5'.

Отже, з конформаційної точки зору немає жодних перешкод для інкорпорації d4U і d4C в структуру подвійної спіралі ДНК. Біологічна активність d4U та d4C, швидше за все, полягає в тому, що вони є термінатором синтезу полі-нуклеотидного ланцюга в напрямку 5'-3' [41], конкуруючи з відповідними канонічними 2'-дезоксирибонуклеозидами за зв'язування з активним центром відповідних ферментів.

Суттєво більша біологічна активність d4T у порівнянні з d4U пов'язана, швидше за все, з наявністю об'ємної метильної групи в 5-му положенні основи d4T. Ця група, очевидно, розпізнається ферментами-мішенями, зокрема, завдяки потенціалу служити донором Н-зв'язування. Для більш точного з'ясування можливих механізмів біологічної активності піримідинових 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксианалогів необхідно провести QM/ММ-моделювання взаємодії їх трифосфатів з активним центром ферменту-мішені (наприклад, ВІЛ-1 ЗТ). Це буде предметом наших наступних робіт.

Висновки. У роботі досліджено конформаційний простір двох модифікованих нуклеозидів, потенційних інгібіторів ВІЛ-1 зворотної

транскриптази — 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридину (d4U) і 2',3'-дидегідро,2',3'-дидезоксицитидину. У результаті ідентифіковано 20 конформерів d4U та 19 конформерів d4C.

Встановлено, що в конформаційному плані d4U дуже подібний до 2',3'-дидегідро,2',3'-дидезокситимідину (d4Т), у той час як між парами d4Т-d4C і d4U-d4C існують суттєві структурні відмінності.

Повні конформаційні сімейства d4U та d4C містять один ДНК-подібний конформер ($\chi \in \text{anti}$, $\gamma \in g^+$, $\beta \in t$). Здобуті результати вказують на те, що з конформаційної точки зору немає жодних перешкод для інкорпорації d4U і d4C у структуру подвійної спіралі ДНК.

Ураховуючи подібність енергетичних і структурних властивостей d4Т та d4U, можна припустити, що більша біологічна активність першого зумовлена наявністю об'ємної метильної групи в положенні 5 основи, яка розпізнається ферментами-мішенями і може служити донором водневого зв'язування. Для достеменного з'ясування механізмів антиретровірусної активності d4U та d4C необхідно дослідити взаємодію їх трифосфатів з активним центром ВІЛ-1 ЗТ гібридним методом QM/ММ. Це буде темою однієї з наших наступних робіт.

Надійшла в редакцію 14.10.2011 р.

Conformational space of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine, nucleosides HIV-1 reverse transcriptase inhibitors: a comprehensive quantum chemical study

A.G. Ponomareva¹, Ye.P. Yurenko¹⁻³, R.O. Zhurakivsky^{1,2}, D.M. Hovorun¹⁻³¹ Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine
150, Zabolotnoho Str., Kyiv, 03680, Ukraine² Research and Education Center State Key Laboratory of Molecular and Cellular Biology
150, Zabolotnoho Str., Kyiv, 03680, Ukraine³ Institute of High Technologies of Taras Shevchenko Kyiv National University
2, Hlushkova Ave., Kyiv, 03127, Ukraine

Summary. The work reports a comprehensive quantum chemical conformational analysis of two nucleoside analogues: 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine (d4U) and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine (d4C). The electronic structure calculations were performed at the MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31++G(d,p) level of theory. It was found that d4U adopts 20 conformers (the corresponding number for d4C is 19), which are relative to local minima on the energy landscapes. Conformers of d4U and d4C are stabilized by a complicated network of specific intramolecular interactions, which includes conventional (OH...O) and non-conventional (CH...O, CH...HC) H-bonds as well as closed-shell van der Waals contacts (C...O). It has been shown that there is no conformational obstacles for d4U and d4C incorporation into the double helical DNA in A and B forms. Less pronounced biological activity of d4U as compared to 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine (d4T) is due to the presence of the bulky methyl group in position 5 of d4T, which can be recognized by the target enzymes.

Keywords: 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine, 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine, conformational analysis, hydrogen bonds, biological activity, topological analysis of the electron density, NBO analysis.

Перелік літератури

1. *Herdewijn P.* Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine. — Wiley, 2008. — 622 p.
2. *Chu C.K.* Recent Advances in Nucleosides: Chemistry and Chemotherapy. — Elsevier, 2002. — 533 p.
3. *Flexner C.* HIV drug development: the next 25 years // *Nature Rev.* — 2007. — Vol. 6. — P. 959-966.
4. *Johnson A.A., Ray A.S., Hanes J.W., Suo Z., Colacino J.M., Anderson K.S., Johnson K.A.* Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 28. — P. 40847-40857.
5. *Coffin J.M.* HIV population dynamics *in vivo*: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy // *Science.* — 1995. — Vol. 267. — P. 483-489.
6. *Larder B.A.* Interactions between drug resistance mutations in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase // *J. Gen. Virol.* — 1994. — Vol. 75. — P. 951-957.
7. *Namamoto Y., Nakashima H., Matsui T., Matsuda A., Ueda T., Yamamoto N.* Inhibitory effect of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxynucleosides on infectivity, cytopathic effects, and replication of human immunodeficiency virus // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 1987. — Vol. 31. — P. 907-910.
8. *De Clercq E.* HIV inhibitors targeted at the reverse transcriptase // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* — 1992. — Vol. 8. — P. 119-134.
9. *Chu C.K., Schinazi R.F., Arnold B.H., Cannon D.L., Doboszewski B., Bhadti V.B., Gu Z.P.* Comparative activity of 2',3'-saturated and unsaturated pyrimidine and purine nucleosides against human immunodeficiency virus type 1 in peripheral blood mononuclear cells // *Biochem Pharmacol.* — 1988. — Vol. 37. — P. 3543-3548.
10. *Stuyver L.J., Lostia S., Adams M., Mathew J.S., Pai B.S., Grier J., Tharnish P.M., Choi Y., Chong Y., Choo H., Chu C.K., Otto M.J., Schinazi R.F.* // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2002. — Vol. 46. — P. 3854-3860.
11. *Balzarini J., Kang G.J., Dalal M., Herdewijn P., De Clercq E., Broder S., Johns D.G.* The anti-HTLV-III (anti-HIV) and cytotoxic activity of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyribonucleosides: a comparison with their parental 2',3'-dideoxyribonucleosides // *Mol. Pharmacol.* — 1987. — Vol. 32. — P. 162-167.
12. *Mehellou Y., Balzarini J., McGuigan C.* An investigation into the anti-HIV activity of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine (d4U) and 2',3'-dideoxyuridine (ddU) phosphoramidate 'ProTide' derivatives // *Org. Biomol. Chem.* — 2009. — Vol. 7. — P. 2548-2553.
13. *Hunter R., Muhanji C.I., Hale I., Bailey C.M., Basavapathruni A., Anderson K.S.* [d4U]-butyne-[HI-236] as a non-cleavable, bifunctional NRTI/NNRTI HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2007. — Vol. 17. — P. 2614-2617.
14. *King A.E., Ackley M.A., Cass C.E., Young J.D., Baldwin S.A.* Nucleoside transporters: from scavengers to novel therapeutic targets // *Trends Pharmacol. Sci.* — 2006. — Vol. 27. — P. 416-425.
15. *Van Rompay A., Johansson M., Karlsson A.* Substrate specificity and phosphorylation of antiviral and anticancer nucleoside analogues by human deoxyribonucleoside kinases and ribonucleoside kinases // *Pharmacol. & Therap.* — 2003. — Vol. 100. — P. 119-139.
16. *Kukhanova M., Krayevsky A., Prusoff W., Cheng Y.-C.* Design of anti-HIV compounds: from nucleoside to nucleoside 5'-triphosphate analogs. Problems and perspectives // *Curr. Pharmac. Des.* — 2000. — Vol. 6. — P. 585-598.
17. *Saran A.* Conformation of nucleoside antibiotics // *Int. J. Quant. Chem.* — 1981. — Vol. 20. — P. 439-447.
18. *Van Roey P., Taylor E.W., Chu C.K., Schinazi R.F.* Conformational analysis of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxypyrimidine nucleosides // *J. Am. Chem. Soc.* — 1993. — Vol. 115. — P. 5365-5371.
19. *Пономарьова А.Г., Юренко Є.П., Жураківський Р.О.* Енергетичні, конформаційні та електронно-

- топологічні властивості 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезокситимідину: квантово-хімічне дослідження // Укр. біохім. журн. — 2011. — Т. 83, № 4. — С. 29-40.
20. *Zenger V.* Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. — Москва: Мир, 1987. — 584 с.
21. *Пonomарьова А.Г., Юренко С.П., Жураківський Р.О., Говорун Д.М.* Конформаційна ємність 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиаденозину як ключ до розуміння його біологічної активності: результати квантово-хімічного моделювання // Укр. біохім. журн. — 2011. — Т. 83, № 2. — С. 74-84.
22. *Reed A.E., Curtiss L.A., Weinhold F.* // *Chem. Rev.* — 1988. — 88, No. 6. — P. 899-926.
23. *Espinosa E., Molins E., Lecomte C.* Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities // *Chem. Phys. Lett.* — 1998. — 285. — P. 170-173.
24. *Brandhorst K., Grunenberg J.* How strong is it? The interpretation of force and compliance constants as bond strength descriptors // *Chem. Soc. Rev.* — 2008. — 37. — P. 1558-1567.
25. *Grunenberg J., Goldberg N.* How strong is the gallium≡gallium triple bond? Theoretical compliance matrices as a probe for intrinsic bond strengths // *J. Am. Chem. Soc.* — 2000. — 122. — P. 6045-6047.
26. *Yurenko Ye.P., Zhurakivsky R.O., Ghomi M., Samijlenko S.P., Hovorun D.M.* Ab initio comprehensive conformational analysis of 2'-deoxyuridine, the biologically significant DNA minor nucleoside, and reconstruction of its low-temperature matrix infrared spectrum // *J. Phys. Chem. B.* — 2008. — 112, No. 4. — P. 1240-1250.
27. *Жураківський Р.О., Говорун Д.М.* Вичерпний конформаційний аналіз канонічного нуклеозиду 2'-дезокситимідину квантово-механічним методом функціоналу густини // *Фізика живого.* — 2006. — Vol. 14. — С. 35-48.
28. *Gelbin A., Schneider B., Clowney L., Hsieh S., Olson W.K., Berman H.M.* Geometric parameters in nucleic acids: sugar and phosphate constituents // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 118. — P. 519-529.
29. *Yurenko Ye.P., Zhurakivsky R.O., Ghomi M., Samijlenko S.P., Hovorun D.M.* How many conformers determine the thymidine low-temperature matrix infrared spectrum? DFT and MP2 quantum chemical study // *J. Phys. Chem. B.* — 2007. — 111, No. 32. — P. 9655-9663.
30. *Matta C.F., Castillo N., Boyd R.J.* Extended weak bonding interactions in DNA: π -stacking (base-base), base-backbone, and backbone-backbone interactions // *J. Phys. Chem. B.* — 2006. — 110, No. 1. — P. 563-578.
31. *Panigrahi S., Desiraju G.* Strong and weak hydrogen bonds in drug-DNA complexes: a statistical analysis // *J. of Biosciences.* — 2007. — 32, No. 4. — P. 677-691.
32. *Bondi A.* Van der Waals volumes and radii // *J. Phys. Chem.* — 1964. — 68, No. 3. — P. 441-451.
33. *Grabowski S.J.* Ab initio calculations on conventional and unconventional hydrogen bonds — study of the hydrogen bond strength // *J. Phys. Chem. A.* — 2001. — Vol. 105, No. 47. — P. 10739-10746.
34. *Jeffrey G., Saenger W.* Hydrogen Bonding in Biological Structures. — Springer-Verlag, 1991. — 569 p.
35. *Desiraju G.R., Steiner T.* The Weak Hydrogen Bonds in Structural Chemistry and Biology. — Oxford University Press, 2001. — 526 p.
36. *Yurenko Y.P., Zhurakivsky R.O., Samijlenko S.P., Ghomi M., Hovorun D.M.* The whole of intramolecular H-bonding in the isolated DNA nucleoside thymidine. AIM electron density topological study // *Chem. Phys. Lett.* — 2007. — Vol. 447, No. 1-3. — P. 140-146.
37. *Kaplan I.* Intermolecular Interactions: Physical Picture, Computational Methods and Model Potentials. — Wiley, 2006. — 380 p.
38. *Foloppe N., MacKerell Jr. A.D.* Intrinsic conformational properties of deoxyribonucleosides: implicated role for cytosine in the equilibrium among the A, B and Z forms of DNA // *Biophys. J.* — 1999. — Vol. 76. — P. 3206-3218.
39. *Kool E.T.* Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* — 2001. — Vol. 30. — P. 1-22.
40. *Hartmann B., Lavery R.* DNA structural forms // *Quart. Rev. Biophys.* — 1996. — Vol. 29, No. 4. — P. 309-368.
41. *Hamamoto Y., Nakashima H., Matsui T., Matsuda A., Ueda T., Yamamoto N.* Inhibitory effect of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxynucleosides on infectivity, cytopathic effects, and replication of human immunodeficiency virus // *Antimicrob Agents Chemother.* — 1987. — Vol. 31. — P. 907-910.
42. *Иогансен А.В.* Инфракрасная спектроскопия и спектральное определение энергии водородной связи // *Водородная связь* / Ред. Н.Д. Соколова. — М.: Наука, 1981. — 286 с.