



УДК 548.737+547.963.32

РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
АНГИДРОНУКЛЕОЗИДОВ

I. МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА

6,1'-АНГИДРО-6-ГИДРОКСИ-1-(2-β-D-
ПСИКОФУРАНОЗИЛ) ЦИТОЗИНА*Гурекял Г. В., Джавадова Г. М., Завгородний С. Г.*,
Флорентьев В. Л., Готтих Б. П.**Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;*** Всесоюзный научно-исследовательский институт биотехнологии
Министерства медицинской и микробиологической промышленности,
Москва*

Проведено рентгенографическое исследование молекулярной и кристаллической структуры 6,1'-ангидро-6-гидрокси-1-(2-β-D-псикофуранозил)цитозина (6,1'-O-аCyd^p) — представителя нового типа ангидронуклеозидов, характеризующихся *син*-конформацией относительно N-гликозидной связи при сохранении всех функциональных групп природных нуклеозидов. Пространственная группа кристаллов — $P2_1$, параметры элементарной ячейки: $a=6,148(1)$, $b=9,630(1)$, $c=9,664(1)$ Å, $\alpha=\gamma=90^\circ$, $\beta=90,35(1)^\circ$, $V=572,2$ Å³, $Z=2$. Структура решена прямым методом и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов до $R=5,6\%$. В молекуле 6,1'-O-аCyd^p цитозиновое основание и пятичленный ангидроцикл приблизительно компланарны. Конформация фуранозного фрагмента — C3'-*эндо*-C4'-*экзо* (³T₄). Ориентация основания относительно углеводного остатка соответствует *син*-конформации (угол C2-N1-C1'-O4' равен 65,0°). Конформация относительно экзациклической C4'-C5'-связи — *транс*. Соответствующие торсионные углы O5'-C5'-C4'-O4' и O5'-C5'-C4'-C3' равны 62,6 и 180°.

Отличительным свойством ангидронуклеозидов является ограниченная свобода движения нуклеинового основания относительно углеводного цикла. Именно поэтому циклонуклеозиды представляют собой уникальные модели при изучении физико-химических свойств нуклеозидов, нуклеотидов и полинуклеотидов, а также при исследовании широкого круга биохимических вопросов, связанных с функционированием нуклеиновых кислот и их компонентов. Использование ангидросоединений позволяет также получить чрезвычайно важную информацию при изучении топографии активных центров ферментов.

Особый интерес представляют ангидронуклеозиды, в молекулах которых сохранены все функциональные группы природных соединений, что открывает широкие возможности для синтеза и изучения 5'- и 3'-фосфатов, 2',3'- и 3',5'-циклофосфатов, олигонуклеотидов и т. д., нуклеиновые основания которых закреплены в определенной конформации. К такому типу соединений относятся синтезированные в последнее время циклонуклеозиды — производные 2-β-D-псиконуклеозидов, в которых образование ангидроцикла ограничивает возможные значения гликозидного угла *син*-областью [1—3].

Настоящее сообщение посвящено рентгенографическому исследованию молекулярной и кристаллической структуры 6,1'-ангидро-6-гидрокси-1-(2-β-D-псикофуранозил)цитозина (6,1'-O-аCyd^p). В табл. 1 приведены координаты атомов структуры, полученные после уточнения методом наименьших квадратов ($R=5,6\%$). Рассчитанные по координатам длины связей и величины валентных углов между неводородными атомами в молекуле 6,1'-O-аCyd^p приведены на рис. 1. Точность определения длин связей (σ) составляет 0,004—0,006 Å, углов — 0,3—0,4°. На рис. 1 указана также использованная в работе нумерация атомов и показана ориента-

Относительные координаты ($\times 10^4$ для N, C, O; $\times 10^3$ для H) атомов
в структуре 6,1'-O-аCyd^p

В скобках приведены стандартные отклонения

Атом	x/a	y/b	z/c	Атом	x/a	y/b	z/c
N4	4427 (6)	5460 (0)	6484 (4)	O5'	2617 (5)	2597 (4)	14350 (3)
C4	3679 (6)	5651 (4)	7786 (4)	C1''	2967 (7)	7413 (5)	12106 (4)
N3	2113 (5)	4776 (4)	8204 (3)	O1''	4386 (4)	7621 (3)	10911 (3)
C2	1317 (6)	4840 (5)	9501 (4)	H4,1	382	467	589
O2	-26 (6)	4018 (4)	9943 (3)	H4,2	569	602	606
N1	2146 (5)	5886 (3)	10354 (3)	H5	573	721	836
C6	3734 (6)	6749 (4)	9920 (4)	H1'',1	391	731	1292
C5	4575 (6)	6674 (5)	8631 (4)	H1'',2	211	830	1225
C1'	1557 (6)	6162 (5)	11806 (4)	H2'	-162	661	1112
C2'	-901 (6)	6348 (4)	12074 (3)	HO2'	-148	833	1258
O2'	-1189 (5)	7414 (3)	13066 (3)	H3'	-202	430	1196
C3'	-1596 (5)	4974 (5)	12719 (4)	HO3'	-465	543	1327
O3'	-3317 (4)	5077 (4)	13684 (3)	H4'	55	495	1446
C4'	450 (6)	4479 (4)	13472 (4)	H5',1	-74	255	1411
O4'	2235 (4)	4999 (3)	12631 (3)	H5',2	68	257	1261
C5'	643 (7)	2966 (5)	13630 (4)	HO5'	232	239	1535

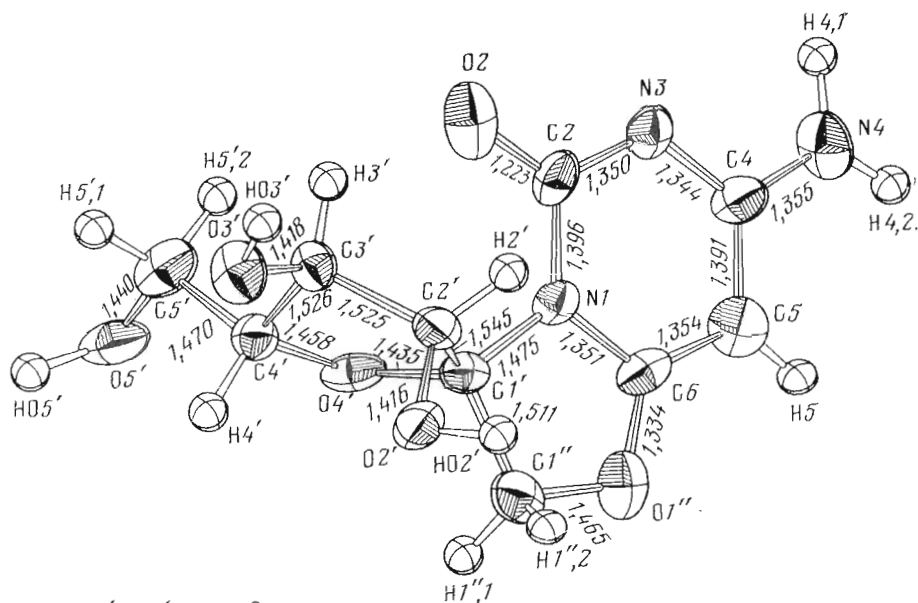
ция эллипсоидов тепловых колебаний атомов O, N, C; атомы водорода изображены сферами произвольного радиуса.

Из сравнения длин связей и величин валентных углов в молекуле 6,1'-O-аCyd^p со значениями аналогичных связей и углов в молекуле природного цитидина [4] видно, что образование ангидросвязи между атомами C6 основания и O1'' оксиметильной группы не вызывает существенных изменений в строении цитозинового основания и фуранозного цикла. Для большинства связей и валентных углов наблюдаемые различия находятся в интервале $\sigma-3\sigma$. Отклонения, превышающие 3σ , обнаружены у связей C4-C5 и C1'-O1', которые удлинены на 0,029 и 0,023 Å соответственно, и у связи C2-O2, укороченной на 0,023 Å. Тем не менее все длины связей и валентные углы цитозинового остатка в 6,1'-O-аCyd^p попадают в интервалы значений, характерные для нейтрального основания цитозина [5].

Наиболее существенно циклизация отразилась на экзоциклических углах, прилегающих к гликозидной связи C1'-N1. Так, углы C2-N1-C1' и N1-C1'-C2' в структуре 6,1'-O-аCyd^p увеличены по сравнению с их значениями в структуре природного цитидина на 9,7 и 3,8° соответственно, а угол C6-N1-C1' уменьшен на 10,5° и приблизился к тетраэдрическому. Значительное уменьшение (5,0 и 5,1°) наблюдается также для углов C3'-C2'-O2' и C4'-C3'-O3'.

В оксиметильной группе психозы валентные углы близки к тетраэдрическим, однако связь C4'-C5' удлинена, а связь C5'-O5' укорочена по сравнению с цитидином примерно на 6σ . Такое перераспределение длин, возможно, обусловлено значительными тепловыми колебаниями атомов концевой оксиметильной группы.

Интересные результаты получены относительно геометрии пятичленного ангидроцикла $\overline{C6-N1-C1'-C1''-O1''}$, образованного при «сплавлении» атома O1'' оксиметильной группы с атомом C6 основания. В ангидроцикле валентный угол N1-C1'-C1'' сокращен на 8,3°, а связь C1''-O1'' удлинена на 0,032 Å по сравнению с их значениями в оксиметильной группе 1-(2-β-D-психофуранозил)цитозина [6]. В результате в оксазолидиноновом цикле связь C1''-O1'' (1,465 Å) оказалась значительно длиннее обычной одинарной C-O-связи (1,426 Å [7]), а связь C6-O1'' (1,334 Å), примыкающая к ароматической системе, существенно короче (частично двойная); угол N1-C1'-C1'' уменьшен до 100°, остальные углы



$N1-C1'-O4' = 108,4^\circ$
 $C1''-C1'-C2' = 115,8$
 $C1'-C2'-O2' = 108,9$
 $C3'-C2'-O2' = 108,4$
 $C2'-C3'-O3' = 114,8$
 $O4'-C4'-C5' = 109,7$

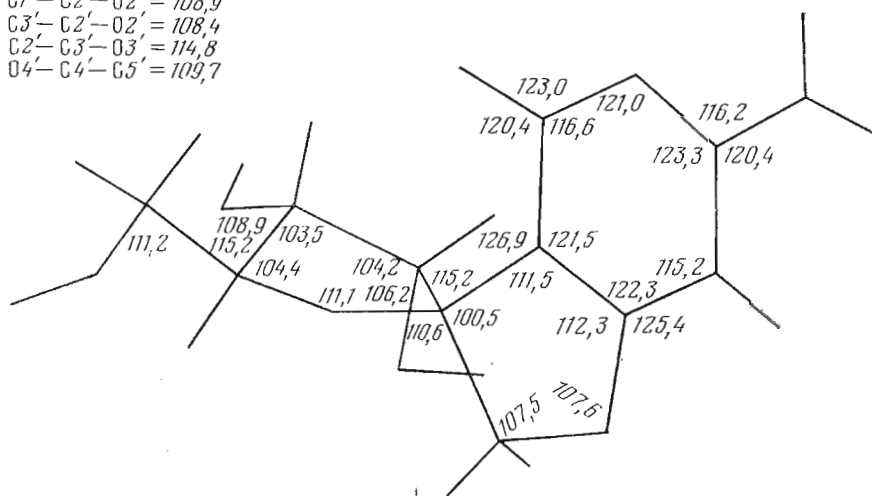


Рис. 1. Строение молекулы 6,1'-O- α CydP. Атомы C, N, O изображены эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью, атомы H — сферами произвольного радиуса. Длины связей (вверху) приведены в Å, валентные углы (внизу) — в град

близки к тетраэдрическим. Аналогичное строение пятичленного ангидроцикла наблюдается в структурах ряда других пиримидиновых циклонуклеозидов [8–13], в которых оксазолидиновый цикл образован совершенно другими атомами основания и углеводного остатка.

Атомы ангидроцикла и нуклеинового основания в молекуле 6,1'-O- α CydP приблизительно компланарны. Максимальное отклонение атомов от их среднеквадратичной плоскости составляет $\sim 0,061$ Å (пл. 1, табл. 2). Более точные плоские группировки образуют атомы цитозинового цикла (пл. 2, табл. 2) и атомы ангидроцикла без атома C1'' (пл. 3, табл. 2). Атомы O2 и N4 отклонены от плоскости цитозинового цикла на 0,084 и 0,030 Å, а атом C1'' выведен из плоскости ангидроцикла в сторону, противоположную от O4', на 0,118 Å. Плоскости основания (пл. 2) и ангидроцикла (пл. 3) образуют между собой угол в $1,8^\circ$. Подобное стремление к плоскостному строению девятичленных циклов обнаружено также в вышеупомянутых структурах пиримидиновых циклонуклеозидов [8–13].

Отклонение атомов (Å) и коэффициенты среднеквадратичных плоскостей вида $Ax + By + Cz = D$, проведенных через атомы, отмеченные звездочкой

Атомы	Плоскость 1	Плоскость 2	Плоскость 3	Плоскость 4
N1	0,023*	0,012*	-0,003*	1,156
C2	0,010*	-0,015*		
N3	0,033*	0,006*		
C4	0,020*	0,005*		
N4	-0,013*	-0,030		
C5	-0,008*	-0,008*		
C6	-0,001*	-0,001*	0,003*	
O2	-0,048*	-0,084		
C1'	-0,008*	-0,015	0,002*	0,000*
C1''	0,052*	0,061	0,118	
O1''	-0,061*	-0,048	-0,002*	
C2'				0,000*
C3'				0,429
C4'				-0,086
O4'				0,000*
A	4,317	4,279	4,214	1,249
B	-6,090	-6,170	-6,375	5,935
C	3,122	3,093	2,889	7,340
D	0,598	0,501	0,140	12,518

Таблица 3

Геометрические параметры водородных связей D—H...A и коротких контактов D^κ—H...A^κ

Атомы-доноры (D)	Атомы-акцепторы (A)	Расстояние, Å		Углы D—H...A, град
		D...A	H...A	
N4—H4,2 (x, y, z)	O5' (\bar{x} , y+0,5, \bar{z})	2,865	1,88	157,2
N4 ^κ —H4,2 (x, y, z)	O3' (x+1, y, z-1) ^κ	3,071 ^κ	2,55	110,9
O2'—HO2' (x, y, z)	N3 (\bar{x} , y+0,5, $\bar{z}+1$)	2,645	1,63	176,3
O3'—HO3' (x, y, z)	O4' (x-1, y, z)	2,913	2,05	146,8
O5'—HO5' (x, y, z)	O2' (\bar{x} , y-0,5, $\bar{z}+1$)	2,658	1,69	162,1
O5 ^κ —HO5' (x, y, z)	O3' (\bar{x} , y-0,5, $\bar{z}+1$) ^κ	3,110 ^κ	2,50	119,2
C1'' ^κ —H1'',2 (x, y, z)	O2 (\bar{x} , y+0,5, $\bar{z}+1$) ^κ	3,088 ^κ	2,56	111,8

Описывая конформацию молекулы 6,1'-O-αCyd^p, отметим прежде всего, что в ней реализована ожидаемая *син*-конформация относительно N-гликозидной связи. Торсионный угол O4'-C1'-N4-C2 равен 65,0°.

Изгиб фуранозного фрагмента в термных псевдовращения [14] описывается фазовым углом псевдовращения P, равным 24,4°, что соответствует C3'-*эндо*-C4'-*экзо*-(³T₁) конформации сахара. Максимальная амплитуда псевдовращения составляет 32,7°, атомы C3' и C4' отклонены от плоскости, образованной атомами C1', C2' и O4' (пл. 4, табл. 2), на 0,429 и 0,086 Å соответственно и расположены по разные стороны этой плоскости. Плоскость фуранозного цикла (пл. 4) перпендикулярна плоскости основания (пл. 2) и образует с ней угол 90,5°.

Конформация молекулы 6,1'-O-αCyd^p относительно экзациклической связи C4'-C5' — *гош-транс* (*транс*), торсионные углы O4'-C4'-C5'-O5' и C3'-C4'-C5'-O5' соответственно равны 62,6 и 180,0°. Эта конформация отличается от характерной для большинства нуклеозидов *гош-гош*-(*гош*⁺) конформации и близка к конформации, обнаруженной в структуре 2,2'-ангидро-(1-β-D-арабинофуранозил) урацила [10, 11].

На рис. 2 показана укладка молекул 6,1'-O-αCyd^p в кристаллическую структуру. Как видно из рисунка, в структуре не реализован принцип насыщения водородных связей — один из двух атомов водорода (H4,1) при атоме N4 не участвует в образовании водородных связей. Остальные атомы, потенциально способные образовывать эти связи, включены в трехмерную сетку O—H...O- и N—H...O-водородных связей, объединяющих молекулы 6,1'-O-αCyd^p в кристаллическую структуру. В результате каждая молекула 6,1'-O-αCyd^p оказывается включенной в восемь до-

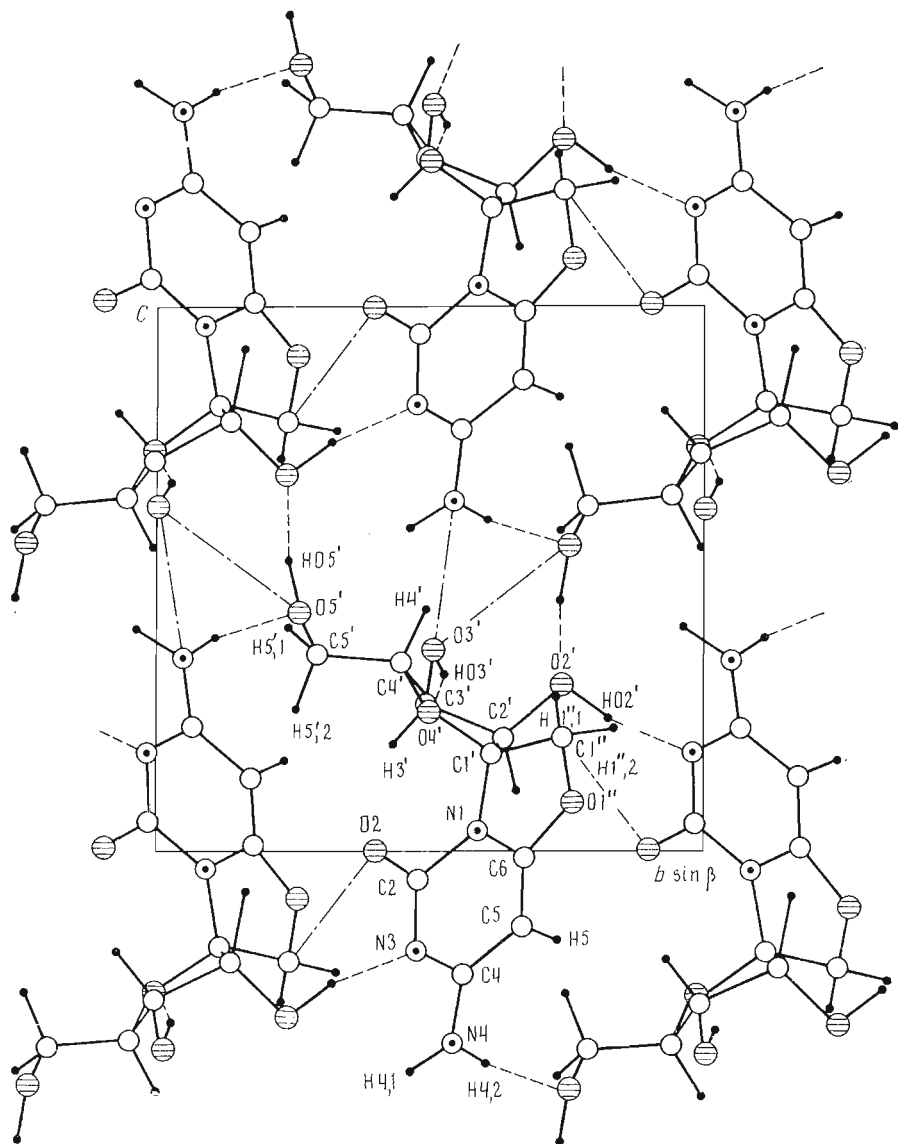


Рис. 2. Упаковка молекул 6,1'-O-aCyd^H в кристалле. Вид структуры вдоль оси *a*. Штриховыми линиями показаны водородные связи, штрихпунктирными — другие короткие контакты (см. табл. 3)

вольно сильных водородных связей, для четырех из них выступая в роли донора, а для других четырех — в роли акцептора. Геометрические параметры водородных связей приведены в табл. 3. Кроме этого в структуре обнаружены укороченные контакты $N4^k - H4,2 \cdots O3'^k$, $O5'^k - H O5' \cdots O3'^k$ и $C1''^k - H1''^k,2 \cdots O2^k$, геометрические характеристики которых также приведены в табл. 3. Для них расстояние $H \cdots A$ приближается к сумме соответствующих ван-дер-ваальсовых радиусов ($r_H = 1,20 \text{ \AA}$, $r_O = 1,50 \text{ \AA}$ [15]), и, возможно, они относятся к слабым вилочным и $C - H \cdots O$ -водородным связям. Однако для окончательного вывода необходима более точная локализация атомов водорода.

Дополнительная стабилизация кристаллической структуры осуществляется за счет сил Ван-дер-Ваальса. Явно выраженных стекинг-взаимодействий плоских фрагментов молекул в структуре не наблюдается. Обнаружено только одно заниженное по сравнению с суммой ван-дер-ваальсовых радиусов расстояние $O2 \cdots C6$ ($3,161 \text{ \AA}$) между атомами молекул, симметрически связанных двойными винтовыми осями, проходящими через начало элементарных ячеек.

Экспериментальная часть

6,1'-O-aCyd^p синтезирован циклизацией 5-йод-1-(2-β-D-псиофуранозил)цитозина под действием *трет*-бутилата калия по методике [1, 2]. Использованные для рентгеновской съемки кристаллы выращены из насыщенного при 80° С водного раствора 6,1'-O-aCyd^p медленным охлаждением раствора до ~20° С. Пространственная группа кристаллов — P2₁, параметры элементарной ячейки: $a=6,148(1)$, $b=9,630(1)$, $c=9,664(1)$ Å, $\alpha=\gamma=90^\circ$, $\beta=90,35(1)^\circ$, $V=572,2$ Å³, $Z=2$ (6,1'-O-aCyd^p).

Интенсивности рефлексов и параметры элементарной ячейки измерены на автоматическом дифрактометре САД-4Г на CuK_α излучении с графитовым монохроматором. Съемка произведена методом θ/2θ-сканирования в области углов рассеяния 2θ до 150°. Экспериментальные данные скорректированы на факторы Лорентца и поляризации. В структурном исследовании использованы интенсивности 1323 независимых отражений, для которых $I \geq 3\sigma(I)$.

Модель структуры (координаты неводородных атомов) получена прямым методом. Положения атомов водорода определены и уточнены по серии разностных синтезов электронной плотности.

Структура уточнена полноматричным методом наименьших квадратов в приближении анизотропного теплового движения неводородных атомов. В расчеты методом наименьших квадратов атомы водорода вводились с фиксированными координатами и изотропными индивидуальными температурными факторами, равными значениям последних для неводородных атомов, с которыми они ковалентно связаны.

Окончательное значение фактора R равно 5,6%.

Все необходимые расчеты проведены по программе «Рентген-75» [16] на ЭВМ БЭСМ-6 в Вычислительном центре Академии наук СССР.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Zavgorodny S. G.* // *Tetrahedron Lett.* 1981. V. 22. № 31. P. 3003–3006.
2. *Zavgorodny S. G.* // Докл. АН СССР. 1981. Т. 257. № 1. С. 117–119.
3. *Гурская Г. В., Джавадова Г. М., Цапкина Е. Н., Цилевич Т. Л., Завгородний С. Г., Флорентьев В. Л.* // Докл. АН СССР. 1983. Т. 273. № 2. С. 340–343.
4. *Furberg S., Petersen C. S., Rømming C.* // *Acta crystallogr.* 1965. V. 18. № 3. P. 313–320.
5. *Taylor R., Kennard O.* // *J. Mol. Struct.* 1982. V. 78. № 1. P. 1–28.
6. *Gurskaya G. V., Javadova G. M., Zavgorodny S. G., Tsilevich T. L., Gottikh B. P.* // *Cryst. Struct. Commun.* 1982. V. 11. № 4/A. P. 1259–1264.
7. *Sutton L. E.* Tables of interatomic distances and configuration in molecules and ions. *Suppl. Spec. Publ. L.*, 1965, № 18.
8. *Yamagata Y., Fujii S., Kanai T., Ogawa K., Tomita K.* // *Acta Crystallogr.* 1979. V. B35. № 2. P. 378–382.
9. *Yamagata Y., Koshibe M., Tokuoaka R., Fujii S., Fujiwara T., Kanai T., Tomita K.* // *Acta crystallogr.* 1979. V. B35. № 2. P. 382–389.
10. *Delbaere L. T. J., James M. N. G.* // *Acta crystallogr.* 1973. V. B29. № 12. P. 2905–2912.
11. *Suck D., Saenger W.* // *Acta crystallogr.* 1973. V. B29. № 6. P. 1323–1330.
12. *Birnbaum G. I., Gizevich J., Huber C. P., Shugar D.* // *J. Amer. Chem. Soc.* 1976. V. 98. № 15. P. 4640–4644.
13. *Harrison D. H., Shinazi R. F., Rubin B. H.* // *J. Med. Chem.* 1982. V. 25. № 12. P. 1507–1511.
14. *Eur. J. Biochem.* 1983. V. 131. № 1. P. 9–15.
15. *Taylor R., Kennard O.* // *J. Amer. Chem. Soc.* 1982. V. 104. № 19. P. 5063–5070.
16. *Андрюанов В. И., Сафина Э. Ш., Турнопольский В. Л.* Рентген-75. Автоматизированная система программ для расшифровки структур кристаллов. Черноголовка, 1975.

Поступила в редакцию
21.I.1987

X-RAY INVESTIGATIONS OF ANHYDRONUCLEOSIDES

I. THE MOLECULAR AND CRYSTAL STRUCTURE

OF 6,1'-ANHYDRO-6-HYDROXY-1-(2-β-D-PSICOFURANOSYL) CYTOSINE

GURSKAYA G. V., JAVADOVA G. M., ZAVGORODNY S. G.*,

FLORENTIEV V. L., GOTTIKH B. P.

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow;

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

A new type of cytosine anhydronucleoside, 6,1'-anhydro-6-hydroxy-1-(2-β-D-псиофуранозил)цитозина (6,1'-O-aCyd^p), characterized by *syn*-conformation about N-glycosidic bond and possessing all functional groups of natural nucleosides has been X-ray studied. The space group P2₁, with cell dimensions $a=6,148(1)$, $b=9,630(1)$, $c=9,664(1)$ Å, $\alpha=\gamma=90^\circ$, $\beta=90,35(1)^\circ$, $V=572,2$ Å³, $Z=2$ (6,1'-O-aCyd^p). The structure was solved by direct method and refined by least-square calculations. The final R index was 5,6%. The cytosine base and five-membered anhydro-cycle in the molecule are approximately coplanar. The puckering of furanose ring is C(3')-endo-C(4')-exo (³T₁). The molecule is in *syn*-conformation, with glycosidic torsion angle C(2)N(1)C(1')O(4')=65,0°. The conformation about exocyclic bond C(4')-C(5') is *gauche* - *trans*. Corresponding torsion angles O(5')C(5')C(4')O(4') and O(5')C(5')C(4')-C(3') are 62,6 and 180,0°.