



УДК 577.323.33  
© 1991 г.

*Н. Б. Хрипач, Н. Е. Пунейко, И. Ю. Скорынин,  
Е. В. Борисов*

### КОНФОРМАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ 3'-ДЕЗОКСИ-3'-ФТОР- И 2',3'-ДИДЕЗОКСИ-3'-ФТОРРИБОНУКЛЕОЗИДОВ

*Институт биоорганической химии АН БССР, Минск*

Методом ПМР-спектроскопии определена конформация фуранового цикла 3'-дезоксидеокси-3'-фтор- и 2',3'-дидезокси-3'-фтор-β-D-рибофуранозидов аденина, гуанина, цитозина и урацила. Показано, что введение сильно электроотрицательного атома фтора в 3'-положение стабилизирует S-конформацию фуранового цикла.

В ряду модифицированных нуклеозидов известно значительное число соединений с противоопухолевой и антивирусной активностью [1]. Механизм действия этих соединений является предметом многочисленных исследований. В ряде работ была показана определенная корреляция между их активностью и преимущественной конформацией [2, 3]. Аналоги природных нуклеозидов, у которых гидроксильная группа заменена на атом фтора, обладают ценными биохимическими и биологическими свойствами. Так, было показано, что 2,3-дидезокси-3-фторрибофуранозиды природных гетероциклических оснований проявляют цито- и виростатическую активность [4] благодаря превращению в клетке в 5'-трифосфаты, ингибирующие синтез ДНК [5]. Среди недавно синтезированных фтордезоксидеоксианалогов природных нуклеозидов риборяда также найдены соединения с противоопухолевой и антивирусной активностью [6—8]. В настоящей работе исследованы конформационные особенности фуранового кольца 3'-дезоксидеокси-3'-фтор- и 2',3'-дидезокси-3'-фторрибонуклеозидов методом ПМР-спектроскопии.

Для описания конформации фуранового цикла в настоящее время общепринятой является концепция псевдовращения, согласно которой конформационное состояние молекулы определяется двумя параметрами: фазовым углом псевдовращения ( $P$ ) и амплитудой ( $\Phi_m$ ) [9]. Амплитуда ( $\Phi_m$ ) определяет степень отклонения фуранового цикла от планарности, а фазовый угол указывает на то, какая часть цикла находится вне плоскости. На основании рентгеноструктурных данных большого числа нуклеозидов и нуклеотидов было установлено, что значения  $P$  для большинства соединений находятся в двух достаточно узких интервалах: с центром при  $P = 9^\circ$  (состояние  $N$ ) и с центром при  $P = 162^\circ$  (состояние  $S$ ) [10]. В растворах нуклеозидов и нуклеотидов имеет место конформационное равновесие, причем физико-химические и спектральные свойства соединений удовлетворительно описываются в рамках равновесия двух ( $N$  и  $S$ ) состояний, относительное содержание которых различно для различных соединений.

Конформация фуранового цикла 3'-фторрибозидов в растворе была определена из данных ПМР-спектроскопии на основании соотношений между параметрами псевдовращения и двугранными углами Н—С—С—Н [11]. Из обобщенного уравнения Карплуса [12], учитывающего влияние электроотрицательности заместителей на вицинальные константы спин-спинового взаимодействия (КССВ), были рассчитаны теоретические значения  $^3J$  для всего диапазона изменения  $P$  при нескольких значениях  $\Phi_m$  в интервале  $35\text{--}400^\circ$ . Ход кривых зависимости рассчитанных значений  $J_{1',2'}$ ,  $J_{2',3'}$  и  $J_{3',4'}$  от фазового угла  $P$  (рис. 1) в целом соответствует

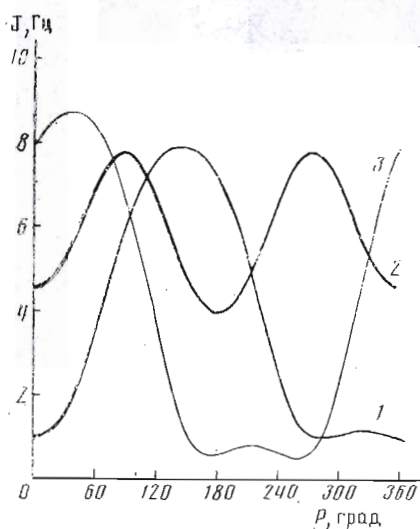


Рис. 1

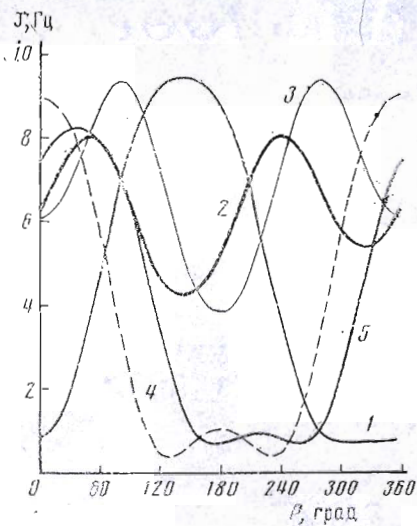


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость рассчитанных значений  ${}^3J$  от фазового угла  $P$  ( $\Phi_m = 40^\circ$ ) для 3'-дезоксигуанозин-3'-фторрибозидов: 1 —  $J_{1',2'}$ ; 2 —  $J_{2',3'}$ ; 3 —  $J_{3',4'}$ .

Рис. 2. Зависимость рассчитанных значений  ${}^3J$  от фазового угла  $P$  ( $\Phi_m = 40^\circ$ ) для 2',3'-дидезокси-3'-фторрибозидов: 1 —  $J_{1',2'a}$ ; 2 —  $J_{1',2'b}$ ; 3 —  $J_{2'a,3'}$ ; 4 —  $J_{2'b,3'}$ ; 5 —  $J_{3',4'}$ .

аналогичным кривым для рибонуклеозидов [11], но значения констант несколько различаются. Так,  $J_{1',2'}$  для фторпроизводных оказывается несколько меньше соответствующей величины для рибопроизводных при всех значениях  $P$ , причем разница не превышает 0,2 Гц. КССВ  $J_{2',3'}$  для 3'-дезоксигуанозин-3'-фторрибозидов обнаруживает меньший диапазон значений по сравнению с природными рибозидами, и разность  $\Delta J_{2',3'} = J_{2',3'}^F - J_{2',3'}^{OH}$  зависит от  $P$ : для  $P = 0^\circ$  она составляет 0,5 Гц, а для  $P = 90^\circ$  — 0,25 Гц. Величина  $J_{3',4'}$  в 3'-дезоксигуанозин-3'-фторрибозиде при всех значениях  $P$  меньше соответствующей величины для рибопроизводных.  $\Delta J_{3',4'}$  в области больших значений  $J_{3',4'}$  ( $P = 0-90^\circ$ ) по абсолютной величине превышает 1 Гц. Величина суммы  $J_{1',2'} + J_{3',4'}$  для  $N$ - и  $S$ -состояний существенно не различается и равна  $8,9 \pm 0,5$  Гц ( $P = 9^\circ$ ) и  $8,3 \pm 0,5$  Гц ( $P = 162^\circ$ ), а средние значения  $J_{2',3'}$  составляют  $4,6 \pm 0,3$  и  $4,2 \pm 0,3$  Гц соответственно. Следовательно, в том случае, если значения  $P_N$  и  $P_S$  фтордезоксипроизводных близки к среднестатистическим, определенным для кристаллов, величины  $J_{2',3'}$  и суммы  $J_{1',2'} + J_{3',4'}$  практически не должны зависеть от относительной концентрации  $N$ - и  $S$ -конформеров, а их численные значения будут находиться в указанных выше пределах.

Спектры ПМР 3'-дезоксигуанозин-3'-фтораденозина (I), -цитидина (II) и -уридина (IV) были записаны в  $D_2O$ ,  $CD_3OD$  и  $DMSO-d_6$ , а 3'-дезоксигуанозин-3'-фторгуанозина (III) только в  $DMSO-d_6$  из-за крайне низкой растворимости в других растворителях. КССВ  $J_{1',2'}$ ,  $J_{2',3'}$  и  $J_{3',4'}$  при переходе от одного растворителя к другому практически не изменяются (таблица), следовательно, конформация фуранозного цикла остается постоянной. Это наблюдение может служить основанием для прямого сравнения спектров ПМР этих и родственных соединений, записанных в любом из указанных растворителей.

Анализ экспериментальных спектров ПМР фтордезоксинуклеозидов (I)–(IV) показывает, что для них величины  $J_{2',3'}$  (4,3–4,8 Гц) и суммы  $J_{1',2'} + J_{3',4'}$  (8,5–9,0 Гц) находятся в пределах, указанных выше для среднестатистических  $P_N$  и  $P_S$ , причем  $J_{1',2'}$  имеет близкую к максимальной, а  $J_{3',4'}$  — близкую к минимальной величину (для пуриновых нуклеозидов  $J_{3',4'} \leq 0,5$  Гц). Сопоставление экспериментальных и теорети-

Значения КССВ  ${}^3J$  (Гц) и соотношение  $g^+$ - и  $t$ - конформеров вокруг связи C4'-C5' 3'-дезоксигуанидин- и 2',3'-дидезокси-3'-фторрибонуклеозидов

Соединение	Растворитель	1', 2'a	1', 2'b	2'a, 3'	2'b, 3'	3', 4'	4', 5'a	4', 5'b	Конформация C4'-C5', %	
									$g^+$	$t$
(I)	CD <sub>3</sub> OD	8,0	—	4,3	—	≤0,5	2,5	2,5	86	13
	D <sub>2</sub> O	8,0	—	4,5	—	≤0,5	2,5	2,5	86	13
	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	8,0	—	4,3	—	≤0,5	3,7	3,7	63	22
(II)	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	8,0	—	4,3	—	≤0,5	3,8	3,8	63	22
	CD <sub>3</sub> OD	7,5	—	4,5	—	1,5	3,0	3,0	76	17
(III)	D <sub>2</sub> O	7,5	—	4,7	—	1,5	3,75	3,75	63	22
	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	7,5	—	4,5	—	1,5	3,5	3,5	67	20
	CD <sub>3</sub> OD	7,8	—	4,4	—	1,0	2,7	2,7	82	14
(IV)	D <sub>2</sub> O	7,8	—	4,5	—	1,0	3,5	3,5	67	20
	DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	7,8	—	4,3	—	1,0	3,6	3,6	65	21
(VIII) *	»	9,3	5,9	4,5	≤0,5	≤0,5	4,4	4,4	49	28
(IX) *	»	9,3	5,6	4,7	≤0,5	≤0,5	4,7	4,7	43	30
(X) **	»	9,6	6,0	4,8	≤0,5	≤0,5	4,2	4,8	44	30
(XI) **	»	9,0	5,4	4,8	≤0,5	≤0,5	3,6	3,6	65	21

\* Значения  ${}^3J$  из работы [13].

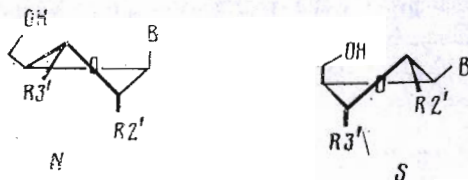
\*\* Значения  ${}^3J$  из работы [14].

ческих значений КССВ  ${}^3J$  производных аденина (I) и гуанина (II) позволяет сделать вывод, что эти соединения находятся в растворе практически в одном конформационном диапазоне  $S$  с фазовым углом псевдобрращения  $P$  в интервале 150—168°. Анализ теоретических зависимостей КССВ  $J_{1',2'}$  и  $J_{3',4'}$  от соотношения  $N$ - и  $S$ -конформеров показывает, что в случае пиримидиновых нуклеозидов (III) и (IV) количество  $N$ -формы в равновесии не превышает 10%.

Конформация оксиметиленовой группы была определена на основании величин  $J_{4',5'a}$  и  $J_{4',5'b}$  с использованием теоретических значений соответствующих КССВ, рассчитанных для  $g^+$ -,  $t$ - и  $g^-$ -конформаций рибонуклеозидов [15]. Оказалось, что, как и в случае рибонуклеозидов, преимущественно заселенной является  $g^+$ -конформация (таблица). В растворе метанола содержание  $g^+$ -конформации, как правило, несколько выше.

Чтобы оценить влияние атома фтора на конформацию фуранозного цикла молекулы нуклеозидов, представлялось интересным сравнить конформационное поведение 3'-дезоксигуанидин- и 3'-дезоксигуанидинрибонуклеозидов с 3'-дезоксигуанидин- и 3'-дезоксигуанидинрибонуклеозидов. Известно, что в растворах природных рибонуклеозидов содержание  $N$ - и  $S$ -формы приблизительно одинаково. Так, в растворе аденозина (V) содержание  $N$ -формы составляет 40% [16]. Замена 3'-ОН-группы на атом водорода приводит к существенному смещению равновесия в сторону  $N$ -формы, содержание которой в 3'-деоксиаденозине (VI) оценивается в 75% [17]. Напротив, в растворе фтораналога (I), как было показано выше, равновесие полностью смещено в сторону  $S$ -формы. Таким образом, содержание  $S$ -формы возрастает в ряду соединений (VI) < (V) < (I) с увеличением электроотрицательности заместителя при C3'-атоме. Эта закономерность может быть объяснена на основании представлений о *gauche*-эффекте, согласно которому *gauche*-ориентация вицинальных электроотрицательных групп соответствует минимальной конформационной энергии молекулы [18]. В фуранозах имеются три последовательности атомов, для которых это следует учитывать: O1'-C1'-C2'-R2', R2'-C2'-C3'-R3', R3'-C3'-C4'-O1'. Двугранный угол R2'-C2'-C3'-R3' практически одинаков для  $N$ - и  $S$ -конформаций. *Gauche*-конформация заместителей при C1'-C2' и C3'-C4' реализуется в том случае, когда группы R2' и R3' занимают псевдоаксиальное положение.

В случае  $N$ -конформации благоприятным фактором является аксиальная ориентация гетероциклического основания и гидроксильной группы



- |                                   |                                   |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| (I) B = Ade; R2' = OH; R3' = F,   | (VI) B = Ade; R2' = OH; R3' = H,  |
| (II) B = Gua; R2' = OH; R3' = F,  | (VII) B = Ade; R2' = H; R3' = OH, |
| (III) B = Cyt; R2' = OH; R3' = F, | (VIII) B = Ade; R2' = H; R3' = F, |
| (IV) B = Ura; R2' = OH; R3' = F,  | (IX) B = Gua; R2' = H; R3' = F,   |
| (V) B = Ade; R2' = OH; R3' = OH,  | (X) B = Cyt; R2' = H; R3' = F     |
|                                   | (XI) B = Ura; R2' = H; R3' = F    |

при C2'. При переходе к *S*-конформации аксиально ориентированной оказывается R3'-группа. Соединения (I), (V) и (VI) различаются только заместителем при C3', который в данном случае и определяет разницу в заселенности того или иного конформационного диапазона. В дезоксипроизводном (VI) энергетические соотношения в молекуле таковы, что в равновесии содержится 25% *S*-формы. При переходе к аденозину (V) появляется дополнительная гидроксильная группа, для которой благодаря *gauche*-эффекту энергетически более выгодна псевдоаксиальная ориентация, и содержание *S*-формы возрастает до 60%. Теоретическая оценка *gauche*-эффекта двух атомов кислорода дает величину 1,0 ккал/моль [19], а для вицинальных атомов кислорода и фтора — 2,8 ккал/моль [20]. Увеличение *gauche*-эффекта во втором случае оказывается достаточным, чтобы в соединении (I) полностью сместить равновесие в сторону *S*-конформера.

Аналогичная ситуация имеет место в случае 2'-дезоксипроизводных. *N*-Конформация имеет благоприятную ориентацию основания, но энергетически менее выгодную ориентацию псевдоэкваториальной R3'-группы. *S*-Конформеру способствует псевдоаксиальная ориентация R3'-группы. По сравнению с рибонуклеозидами в 2'-дезоксипроизводных отсутствует дополнительный фактор стабилизации *N*-формы за счет *gauche*-эффекта 2'-гидроксильной группы. Поэтому для этих соединений следует ожидать значительного преобладания *S*-формы в равновесии, что в действительности имеет место. К примеру, для дезоксиаденозина (VII) установлено 70%-ное содержание *S*-формы в  $N \rightleftharpoons S$ -равновесии [17]. Замена 3'-ОН-группы на атом фтора, как и в случае рибонуклеозидов, должна привести к еще большему смещению положения равновесия в сторону *S*-формы.

Спектры ПМР 2',3'-дидезокси-3'-фтораденозина (VIII), -гуанозина (IX), -цитидина (X) и -уридина (XI) обнаруживают близкое сходство [13, 14], что свидетельствует о примерно одинаковой степени заселенности конформаций для этих соединений в растворе (КССВ  $^3J$  см. таблицу). Теоретические значения  $^3J$  для 2',3'-дидезокси-3'-фторрибозидов были рассчитаны для всех значений фазового угла в интервале  $\Phi_m$  35—45°; для расчета  $J_{1',2'}$  и  $J_{2',3'}$  в обобщенном уравнении Карплуса использовались коэффициенты для тризамещенного C—C-фрагмента [12] (рис. 2). Из сопоставления теоретических и экспериментальных значений  $^3J$  следует, что нуклеозиды (VIII)—(XI) существуют в растворе только в виде *S*-конформера.

Таким образом, введение атома фтора в 3'-положение рибо- и 2'-дезоксирибонуклеозидов вызывает практически полное смещение  $N \rightleftharpoons S$ -равновесия, существующего в растворах природных рибозидов, в сторону *S*-формы.

### Экспериментальная часть

Спектры ПМР записаны на спектрометре Bruker AC-200 с рабочей частотой 200 МГц при концентрации образцов  $\sim 5 \cdot 10^{-2}$  М и комнатной температуре. Для образцов в CD<sub>3</sub>OD и DMSO-*d*<sub>6</sub> в качестве внутреннего стан-

дарта использовали тетраметилсилан, а для D<sub>2</sub>O — трет-бутиловый спирт ( $\delta = 1,27$  м. д.). Значения КССВ и химических сдвигов были определены непосредственным анализом спектров, а в случае спектров не первого порядка рассчитаны с помощью программы PANIC. Соединения (I)—(IV) синтезированы описанным ранее методом [8].

Авторы выражают искреннюю благодарность И. А. Михайлопуло за ценные советы и замечания, высказанные в процессе работы и при обсуждении ее результатов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Преображенская М. Н., Мельник С. Я. // Итоги науки и техники. Биоорганическая химия. М.: ВИНТИ, 1984. Т. 1.
2. Van Roey P., Salerno J. M., Chu C. K., Schinazi R. F. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. № 11. P. 3929—3934.
3. Camerman N., Mastropaolo D., Camerman A. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. № 9. P. 3534—3537.
4. De Clercq E., Van Aerschoot A., Herdewijn P., Baba M., Pauwels R., Balzarini J. // Nucleosides and Nucleotides. 1989. V. 8. № 5/6. P. 659—671.
5. Chidgevadze Z. G., Skamrov A. V., Beabealashvili R. Sh., Kvasnyuk E. I., Zaitseva G. V., Mikhailopulo I. A., Kowollik G., Langen P. // FEBS Lett. 1985. V. 183. № 2. P. 275—278.
6. Morizawa Y., Nakayama T., Yasuola A., Uchida K., Sasaki T. // J. Pharm. Sci. 1987. V. 76. № 11. P. 223—230.
7. Van Aerschoot A., Balzarini J., De Clercq E., Herdewijn P. // Nucleosides and Nucleotides. 1989. V. 8. № 5/6. P. 1123—1124.
8. Mikhailopulo I. A., Poopeiko N. E., Pricota T. I., Sivets G. G., Kvasnyuk E. I., Balzarini J., De Clercq E. // J. Med. Chem. In press.
9. Altona C., Sundaralingam M. // J. Amer. Chem. Soc. 1972. V. 94. № 23. P. 8205—8212.
10. De Leeuw H. P. M., Haasnoot C. A. G., Altona C. // Israel J. Chem. 1980. V. 20. № 1/2. P. 108—126.
11. De Leeuw F. A. A. M., Altona C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2. 1982. № 3. P. 375—384.
12. Haasnoot C. A. G., De Leeuw F. A. A. M., Altona C. // Tetrahedron. 1980. V. 36. № 19. P. 2783—2792.
13. Квасюк Е. И., Зайцева Г. В., Савочкин Л. П., Чиджевадзе З. Г., Бибилашвили Р. Ш., Ланген П., Михайлопуло И. А. // Биоорганическая химия. 1989. Т. 15. № 6. С. 781—795.
14. Зайцева Г. В., Квасюк Е. И., Пупейко Н. Е., Кулак Т. И., Пашинник В. Е., Товстенко В. И., Марковский Л. Н., Михайлопуло И. А. // Биоорганическая химия. 1988. Т. 14. № 9. С. 1275—1280.
15. Haasnoot C. A. G., De Leeuw F. A. A. M., De Leeuw H. P. M., Altona C. // Recueil trav. chim. 1979. V. 98. № 12. P. 570—577.
16. Westhof E., Röder O., Gronciss I., Lüdemann H.-D. // Z. Naturforsch. 1975. B. 30c. № 3/4. S. 131—140.
17. Westhof E., Plach H., Cuno I., Lüdemann H.-D. // Nucl. Acids Res. 1977. V. 4. № 4. P. 939—953.
18. Olson W. K. // J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 104. № 1. P. 278—286.
19. Abe A., Mark J. E. // J. Amer. Chem. Soc. 1976. V. 98. № 21. P. 6468—6476.
20. Hagen K., Hedberg K. // J. Amer. Chem. Soc. 1973. V. 95. № 25. P. 8263—8266.

Поступила в редакцию  
2.IV.1991

N. B. KHRIPACH, N. E. POOPEIKO, I. Yu. SKORYNIN, E. V. BORISOV

#### CONFORMATIONAL CHARACTERISTICS OF 3'-DEOXY-3'-FLUORO- AND 2',3'-DIDEOXY-3'-FLUORORIBONUCLEOSIDES

*Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk*

The conformations of the furanose ring of 3'-deoxy-3'-fluoro- and 2',3'-dideoxy-3'-fluoro- $\beta$ -D-ribofuranosides of adenine, guanine, cytosine and uracil were determined from the <sup>1</sup>H NMR spectra. The introduction of a highly electronegative fluorine atom at 3'-position was shown to stabilize the furanose S-conformation.