



УДК 577.338:577.123.36

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТАГОНИСТОВ И ИНГИБИТОРОВ АДЕНОЗИНДЕЗАМИНАЗЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ II. ИЗОМЕРНЫЕ АЗА-ДЕЗААНАЛОГИ АДЕНОЗИНА

© 2002 г. Ю. П. Зарубин^{*,#}, И. А. Ильичева^{**}, П. П. Пурыгин^{*}, В. Л. Флорентьев^{**}

^{*}Самарский государственный университет, кафедра органической химии, 443011, Самара, ул. Акад. Павлова, 1;

^{**}Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

Поступила в редакцию 08.08.2001 г. Принята к печати 22.10.2001 г.

Проведены компьютерные исследования изомерных аза-дезааналогов аденозина, включая их 1H^+ -катионные формы (кроме 8-аза-1-дезаадеинозина), с целью изучения взаимосвязи между их структурой и субстратными свойствами в отношении аденозиндезаминазы млекопитающих. С использованием неэмпирического метода STO-3G получено зарядовое распределение и карты электростатического потенциала вблизи их ван-дер-ваальсовых поверхностей, а с помощью метода молекулярной механики (ММ⁺) произведен конформационный анализ этих соединений. Уточнен ранее предложенный механизм акцептирования субстрата в активном центре аденозиндезаминазы млекопитающих и предсказаны возможные субстратные свойства двух ранее не изученных аналогов аденозина: 5-аза-9-дезаадеинозина и 8-аза-3-дезаадеинозина.

Ключевые слова: аденозиндезаминаза, механизм акцептирования субстрата; аденозин, аналоги, аза-деза-, теоретическое исследование.

ВВЕДЕНИЕ

Продолжая изучение механизма акцептирования субстрата и его аналогов в активном центре ADA, мы провели теоретическое исследование группы изомерных аза-дезааналогов аденозина: $z^2c^3\text{Ado}$, $z^5c^9\text{Ado}$, $z^8c^1\text{Ado}$, $z^8c^3\text{Ado}$, $z^8c^7\text{Ado}$ и $z^8c^9\text{Ado}$ в виде 7*H*- и 8*H*-таутомеров, включая их 1H^+ -катионные формы (кроме $z^8c^1\text{Ado}$). В отличие от аза- и дезааналогов аденозина, которым посвящена предыдущая работа [1], изомерные аза-дезааналогии, располагаясь в активном центре фермента, могут образовать водородные связи с функциональными группами остатков аминокислот посредством тех атомов азота, которые

находятся в неканонических по сравнению с аденозином положениях гетероцикла. Это позволяет проанализировать степень влияния каждой из водородных связей, участвующих в фиксации субстрата, на эффективность его акцептирования и дезаминирования.

Субстратные свойства в отношении ADA двух аналогов: $z^5c^9\text{Ado}$ [2] и $z^8c^3\text{Ado}$ [3, 4] в литературе не описаны. В нашей работе дан прогноз субстратных свойств этих соединений на основании результатов расчетов и сопоставления с субстратными свойствами прочих изученных аза-, деза- и аза-дезааналогов аденозина.

Ранее квантово-химические расчеты полуэмпирическими [5–8] и неэмпирическими методами [7, 9] были проведены только для 7*H*- и 8*H*-таутомеров $z^8c^9\text{Ado}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты расчета парциальных зарядов (по Малликену) на атомах молекул нуклеозидов и их 1H^+ -катионов показывают, что протонирование атома N1 приводит к заметному изменению электронной плотности в остатке гетероцикла и мало влияет на ее распределение в остатке β -D-рибофуранозы. Как и для группы соединений, исследованных в работе [1], у 1H^+ -катионов наблюдается заметное возрастание положительного заря-

Сообщение 1 см. [1].

Сокращения: ADA – аденозиндезаминаза; PCA – рентгеноструктурный анализ; $S_N\text{Ar}$ – механизм нуклеофильного замещения в ароматическом ряду. Аббревиатура модифицированных по гетероциклу производных аденозинов дана в соответствии с рекомендациями номенклатурной комиссии IUPAC-IUB (<http://www.chem.gmw.ac.uk/iupac>): $z^2c^3\text{Ado}$ – 2-аза-3-дезаадеинозин; $z^5c^9\text{Ado}$ – 5-аза-9-дезаадеинозин; $z^8c^1\text{Ado}$ – 8-аза-1-дезаадеинозин; $z^8c^3\text{Ado}$ – 8-аза-3-дезаадеинозин; $z^8c^7\text{Ado}$ – 8-аза-7-дезаадеинозин; $z^8c^9\text{Ado}$, 7*h*- $z^8c^9\text{Ado}$, 8*h*- $z^8c^9\text{Ado}$ – 8-аза-9-дезаадеинозин и его 7*H*- и 8*H*-таутомеры; префикс 1H^+ у символа нуклеозида обозначает его 1-протонированную форму.

[#]Автор для переписки (тел.: (8462) 34-54-59; эл. почта: zarubin@ssu.samara.ru).

Таблица 1. Структурные и энергетические* характеристики наиболее устойчивых конформаций молекул аденозина и его аза-дезааналогов в *N*- и *S*-областях псевдотвращения

Молекула	Конформер	χ	ψ	<i>P</i>	τ_m	E_p
Ado	<i>N</i>	189.8 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	10.5 (3T_2)	38.8	0
	<i>S</i>	194.0 (<i>анти</i>)	292.0 (<i>gg</i>)	151.2 (${}_1T_2$)	37.7	0.19
z^2c^3 Ado	<i>N</i>	190.0 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	15.1 (3T_2)	38.5	0
	<i>S</i>	198.0 (<i>анти</i>)	292.0 (<i>gg</i>)	148.3 (${}_1T_2$)	39.1	0.40
z^5c^9 Ado	<i>N</i>	180.2 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	9.6 (3T_2)	38.3	0.18
	<i>S</i>	180.3 (<i>анти</i>)	296.9 (<i>gg</i>)	146.8 (${}_1T_2$)	37.9	0
z^8c^1 Ado	<i>N</i>	220.0 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	3.1 (3T_2)	36.9	0
	<i>S</i>	39.0 (<i>син</i>)	294.9 (<i>gg</i>)	147.9 (${}_1T_2$)	38.5	0.15
z^8c^3 Ado	<i>N</i>	322.0 (<i>сверх-анти</i>)	179.9 (<i>tg</i>)	336.4 (${}_2T_1$)	40.5	0
	<i>S</i>	27.0 (<i>син</i>)	178.0 (<i>tg</i>)	152.2 (${}_1T_2$)	39.4	0.90
z^8c^7 Ado	<i>N</i>	227.0 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	6.2 (3T_2)	36.9	0.10
	<i>S</i>	38.0 (<i>син</i>)	295.0 (<i>gg</i>)	147.9 (${}_1T_2$)	38.5	0
$7h-z^8c^9$ Ado	<i>N</i>	239.0 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	19.8 (3E)	40.4	0.08
	<i>S</i>	125.0 (<i>сверх-анти</i>)	63.0 (<i>gt</i>)	146.5 (${}_1T_2$)	40.6	0
$8h-z^8c^9$ Ado	<i>N</i>	179.7 (<i>анти</i>)	181.0 (<i>tg</i>)	15.9 (3T_2)	38.6	0
	<i>S</i>	170.0 (<i>анти</i>)	295.1 (<i>gg</i>)	146.6 (${}_1T_2$)	38.0	0.22

* Торсионные углы $\chi(C4-C9-C1'-O4')$, $\psi(O4'-C4'-C5'-O5')$, а также параметры псевдотвращения *P* (фазовый угол) и τ_m (амплитуда) приведены в градусах; E_p – разность (в ккал/моль) между значением конформационной энергии данного конформера и значением энергии в конформации, отвечающей глобальному минимуму этого соединения.

да на атоме С6 (в среднем на 0.1 долю электрона, далее д.э.). Этот факт еще раз поясняет причину необходимости протонирования азота N1 для протекания ферментативной реакции дезаминирования [10–12]. Аномально высокие значения зарядов на атоме С6 наблюдаются в молекуле z^5c^9 Ado и его $1H^+$ -катионе: 0.41 и 0.51 д. э. соответственно. Это связано с наличием эндоциклических электроноакцепторных атомов азота в положениях 1, 3 и 5 триазинового фрагмента гетероцикла.

Конформационные характеристики наиболее низких локальных минимумов аза-дезааналогов аденозина в *N*- и *S*-областях в сравнении с аденозином приведены в табл. 1. *анти*-Ориентация гетероцикла относительно рибозы является наиболее выгодной для большинства изученных аналогов аденозина вне зависимости от состояния псевдотвращения. Исключение составляют те аналоги, у которых в положении 8 гетероцикла находится атом азота. Для них существует выраженная зависимость ориентации гетероцикла по отношению к циклу рибозы от состояния псевдотвращения последнего. *син*-Ориентация оказывается более выгодной в том случае, когда конформация цикла рибозы относится к *S*-области. Объясняется это главным образом отталкиванием отрицательных зарядов на атомах N8 и O4'. Увеличение длины гликозидной связи вследствие замены азота на углерод в положении 9 гетероцикла уменьшает степень отталкивания, и уже у $7h-z^8c^9$ Ado мы наблюдаем

сверх-син-конформацию молекулы нуклеозида в *S*-области, а при экранировании атома азота N8 водородом у $8h-z^8c^9$ Ado – классическую *анти*-конформацию.

Конформация вокруг экзоциклической связи C4'–C5' в основном *транс-гош* в *N*-области и *гош-гош* в *S*-области и находится в узком диапазоне значений торсионного угла ψ . Исключение составляет $7h-z^8c^9$ Ado (*гош-транс*). Конформации рибозного цикла почти для всех соединений относятся к твистовым формам: в *S*-области C1'-экзо-C2'-эндо, а в *N*-области C2'-экзо-C3'-эндо. Исключение составляют z^8c^3 Ado (C1'-эндо-C2'-экзо) и $7h-z^8c^9$ Ado (C3'-эндо). Значения амплитуды складчатости рибозного цикла τ_m лежат в узком диапазоне и близки к ранее полученным [1, 13].

Наиболее выгодные конформации изучаемых молекул отличаются от тех, которые, по данным PCA [10, 14–17], характерны для аналогов субстрата в активном центре ADA ($\chi = -120\dots-100^\circ$, $\psi = -80\dots-60^\circ$). Чтобы выяснить степень конформационных напряжений, сопровождающих расположение аналогов в активном центре ADA, мы определили все локальные минимумы, которые относятся именно к этому конформационному пространству. Результаты приведены в табл. 2. Значение энергии E_p в этой таблице дает оценку степени конформационного напряжения аналогов в активном центре ADA. Видно, что это напряжение не превышает

Таблица 2. Структурные и энергетические* характеристики локальных минимумов молекул аденозина и его аза- и дезазааналогов в "активных" конформациях нуклеозидов

Молекула	Область	χ	ψ	P	τ_m	E_p
Ado	<i>N</i>	240.9 (<i>анти</i>)	291.0 (<i>gg</i>)	28.6 (3E)	37.9	2.39
	<i>S</i>	240.9 (<i>анти</i>)	292.0 (<i>gg</i>)	152.7 (${}_{1T^2}$)	37.6	1.41
z^2c^3 Ado	<i>N</i>	241.0 (<i>анти</i>)	292.0 (<i>gg</i>)	29.1 (3E)	37.9	2.44
	<i>S</i>	241.2 (<i>анти</i>)	291.0 (<i>gg</i>)	151.0 (${}_{1T^2}$)	38.2	1.39
z^5c^9 Ado	<i>N</i>	241.3 (<i>анти</i>)	291.9 (<i>gg</i>)	30.3 (3E)	38.4	2.12
	<i>S</i>	241.3 (<i>анти</i>)	292.1 (<i>gg</i>)	149.0 (${}_{1T^2}$)	38.8	2.41
z^8c^1 Ado	<i>N</i>	241.8 (<i>анти</i>)	296.8 (<i>gg</i>)	12.5 (3T_2)	37.3	0.43
	<i>S</i>	241.8 (<i>анти</i>)	289.0 (<i>gg</i>)	146.5 (${}_{1T^2}$)	39.8	1.87
z^8c^3 Ado	<i>N</i>	252.0 (<i>анти</i>)	295.0 (<i>gg</i>)	11.3 (3T_2)	36.8	0.89
	<i>S</i>	241.9 (<i>анти</i>)	289.0 (<i>gg</i>)	146.1 (${}_{1T^2}$)	39.8	2.48
z^8c^7 Ado	<i>N</i>	242.0 (<i>анти</i>)	290.0 (<i>gg</i>)	23.5 (3E)	39.4	2.26
	<i>S</i>	241.8 (<i>анти</i>)	289.0 (<i>gg</i>)	145.8 (${}_{1T^2}$)	39.9	1.80
$7h-z^8c^9$ Ado	<i>N</i>	241.9 (<i>анти</i>)	291.0 (<i>gg</i>)	26.3 (3E)	39.4	1.82
	<i>S</i>	241.8 (<i>анти</i>)	290.0 (<i>gg</i>)	144.8 (${}_{1T^2}$)	39.8	1.56
$8h-z^8c^9$ Ado	<i>N</i>	239.7 (<i>анти</i>)	291.9 (<i>gg</i>)	8.2 (3T_2)	34.8	2.72
	<i>S</i>	241.1 (<i>анти</i>)	298.9 (<i>gg</i>)	139.7 (${}_{1E}$)	40.1	2.84

* Обозначения те же, что и в табл. 1.

Таблица 3. Структурные и энергетические* характеристики наиболее устойчивых конформаций катионов $1H^+$ -аденозина и его аза-дезазааналогов в *N*- и *S*-областях псевдovращения

$1H^+$ -Катион	Область	χ	ψ	P	τ_m	E_p
$1H^+$ -Ado	<i>N</i>	200.0 (<i>анти</i>)	295.0 (<i>gg</i>)	22.2 (3E)	38.1	0.39
	<i>S</i>	209.0 (<i>анти</i>)	294.0 (<i>gg</i>)	152.3 (${}_{1T^2}$)	39.1	0
$1H^+-z^2c^3$ Ado	<i>N</i>	24.0 (<i>син</i>)	295.3 (<i>gg</i>)	47.6 (${}_{4T^3}$)	40.9	0.79
	<i>S</i>	192.0 (<i>анти</i>)	294.0 (<i>gg</i>)	149.4 (${}_{1T^2}$)	38.8	0
$1H^+-z^5c^9$ Ado	<i>N</i>	199.0 (<i>анти</i>)	295.2 (<i>gg</i>)	22.1 (3E)	37.6	0.28
	<i>S</i>	203.0 (<i>анти</i>)	294.0 (<i>gg</i>)	148.1 (${}_{1T^2}$)	38.6	0
$1H^+-z^8c^3$ Ado	<i>N</i>	—	—	—	—	—
	<i>S</i>	25.0 (<i>син</i>)	296.0 (<i>gg</i>)	144.9 (${}_{1T^2}$)	40.3	0
$1H^+-z^8c^7$ Ado	<i>N</i>	248.0 (<i>анти</i>)	184.0 (<i>tg</i>)	32.9 (3E)	38.9	0
	<i>S</i>	25.0 (<i>син</i>)	293.0 (<i>gg</i>)	148.4 (${}_{1T^2}$)	39.9	0.25
$1H^+, 7h-z^8c^9$ Ado	<i>N</i>	242.0 (<i>анти</i>)	183.9 (<i>tg</i>)	45.0 (${}_{4T^3}$)	39.9	0.17
	<i>S</i>	7.0 (<i>син</i>)	293.0 (<i>gg</i>)	147.7 (${}_{1T^2}$)	40.0	0
$1H^+, 8h-z^8c^9$ Ado	<i>N</i>	194.0 (<i>анти</i>)	299.2 (<i>gg</i>)	7.2 (3T_2)	36.6	0
	<i>S</i>	198.0 (<i>анти</i>)	296.0 (<i>gg</i>)	151.4 (${}_{1T^2}$)	39.3	0.96

* Обозначения те же, что и в табл. 1.

3 ккал/моль для любого из исследованных аналогов. Независимо от конформации рибозного цикла значения торсионных углов χ и ψ лежат в очень узких диапазонах. Поэтому мы полагаем, что аденозиндезаминаза может акцептировать молекулу аза-дезазааналога аденозина независимо от состояния его псевдovращения.

В результате протонирования по атому $N1$ гетероцикла конформационные характеристики $1H^+$ -катионов меняются довольно существенно (табл. 3). Для $1H^+-z^2c^3$ Ado, $1H^+-z^5c^9$ Ado, $1H^+-z^8c^3$ Ado, $1H^+, 7h-z^8c^9$ Ado в *N*-области не обнаруживается сколько-нибудь глубоких минимумов, и в процессе минимизации потенциальной энергии со стандартно

Таблица 4. Кинетические параметры дезаминирования (K_m , V_{max}) и ингибирования (K_i) для аденозина и его аза-дезааналогов в отношении ADA

Соединение	K_m , мкМ	K_i , мкМ	V_{max} (отн.), %	Литература
Ado	20	–	100	[18]
	25	–	100	[19]
z^2c^3 Ado	н/д	н/д	н/д	[20]
z^8c^1 Ado	–	0.903	–	[21]
z^8c^7 Ado	125	н/д	6.4	[18]
z^8c^9 Ado	1000	н/д	750–850	[19]

Н/д – нет данных; – для аналога означает, что реакция дезаминирования не идет.

заданными параметрами процедуры конформационный переход рибозного цикла из *N*- в *S*-область происходит уже на первом шаге. Поэтому при сканировании *N*-области конформаций этих соединений мы вынуждены были вначале использовать метод оптимизации с ограничениями на значения угла ψ : -60° (*гош-гош*), 60° (*гош-транс*), 180° (*транс-гош*). Угол χ варьировали при этом с шагом 5° . Тем не менее для $1H^+-z^8c^3$ Ado в *N*-области локальный минимум потенциальной энергии так и не был обнаружен. Скорее всего, это свидетельствует о неустойчивости *N*-конформеров катиона $1H^+-z^8c^3$ Ado.

В табл. 4 приведены экспериментальные данные по субстратным свойствам аденозина и его аза-дезааналогов в отношении ADA.

Как ранее сообщалось [1], в акцептировании молекулы субстрата ключевую роль играет образование водородной связи между атомом N7 гетероцикла в субстрате и протоном γ -COOH-группы остатка Asp296 в активном центре ADA. Однако в отличие от c^7 Ado [22, 23] z^8c^7 Ado дезаминируется ADA, хотя и с меньшей скоростью, чем аденозин [18]. В данном случае роль атома N7 в аденозине выполняет атом N8 в z^8c^7 Ado, находящийся в области отрицательного электростатического потенциала (рис. 1). Начальное акцептирование молекулы z^8c^7 Ado активным центром ADA носит, по-видимому, более сложный характер (рис. 2). Это приводит к значительному увеличению K_m и резкому снижению V_{max} для z^8c^7 Ado по сравнению с аденозином [18].

Для *7H*- и *8H*-таутомеров z^8c^9 Ado характер начальной стадии акцептирования будет различным. В случае *8h*- z^8c^9 Ado акцептирование должно протекать аналогично аденозину благодаря идентичному распределению областей отрицательного электростатического потенциала (рис. 1), но медленнее из-за наличия в положении 8 гетероцикла электроноакцепторного атома N8: заряды на атомах N7 составляют -0.18 и -0.28 д.э. соответствен-

но. Однако в водном растворе константа *8H/7H*-таутомерного равновесия $K_T = 0.2 \pm 0.1$ [24], поэтому возможно акцептирование и *7h*- z^8c^9 Ado. Начальная стадия этого процесса сопровождается меньшими конформационными изменениями бокового радикала остатка Asp296 в активном центре ADA (рис. 3) по сравнению с z^8c^7 Ado (рис. 2). Это приводит к значительному увеличению K_m и V_{max} для z^8c^9 Ado по сравнению с аденозином [19]. При этом z^8c^9 Ado дезаминируется ADA медленнее, чем аденозин [19], но быстрее, чем z^8c^7 Ado [18]. Поэтому утверждение, сделанное ранее в работах [7, 9], что акцептироваться в активном центре ADA может только *8H*-таутомер z^8c^9 Ado, слишком категорично.

Соединение z^2c^3 Ado в отличие от c^3 Ado [22, 23, 25] – очень медленно реагирующий субстрат и слабый ингибитор ADA [20]*. Атомы N1 и N2 в молекуле z^2c^3 Ado имеют широкую область отрицательного электростатического потенциала (рис. 1). Сродство к протону у атома N1 в z^2c^3 Ado ниже, чем у c^3 Ado (заряды на атомах N1 -0.24 и -0.34 д.э. соответственно). Наличие электроноакцепторного атома азота в положении 2 гетероцикла в молекуле z^2c^3 Ado вместо СН-группы должно было бы привести к ослаблению ингибиторных свойств по сравнению с c^3 Ado и не способствовать дезаминированию z^2c^3 Ado. Однако z^2c^3 Ado очень медленно дезаминируется, что можно объяснить только образованием водородной связи между атомом N2 в z^2c^3 Ado и NH-группой остатка Gly184 в активном центре ADA (рис. 4). Эта водородная связь значительно слабее, чем была бы в случае присутствия атома азота в третьей позиции цикла. Тем не менее она способствует переносу протона на атом N1 гетероцикла z^2c^3 Ado от δ -COOH-группы остатка Glu217, что необходимо для протекания ферментативной реакции дезаминирования.

В молекуле z^8c^1 Ado (рис. 1) атом N8 влияет на распределение парциальных зарядов в 1,2,3-триазольной части гетероцикла: заряды на атомах N7 и N8 (-0.19 и -0.05 д.э. соответственно) в этой молекуле ниже, чем на атоме N7 (-0.28 д.э.) в молекуле c^1 Ado. Это ослабляет электростатическое взаимодействие между атомом N7 гетероцикла и протоном γ -COOH-группы остатка Asp296. В результате акцептирование молекулы z^8c^1 Ado протекает медленнее, что приводит к снижению ингибиторной способности этого аналога [21] по сравнению с c^1 Ado [21–23, 25].

Для молекулы z^8c^3 Ado картина аналогична (рис. 1), так как заряды на атомах N7 и N8 (-0.18 и -0.05 д.э. соответственно) в ней ниже, чем на N7 (-0.28 д.э.) в молекуле c^3 Ado. Можно предполо-

* В случае z^2c^3 Ado K_m и K_i имеют очень большие значения, а V_{max} очень мала, поэтому числовые данные отсутствуют.

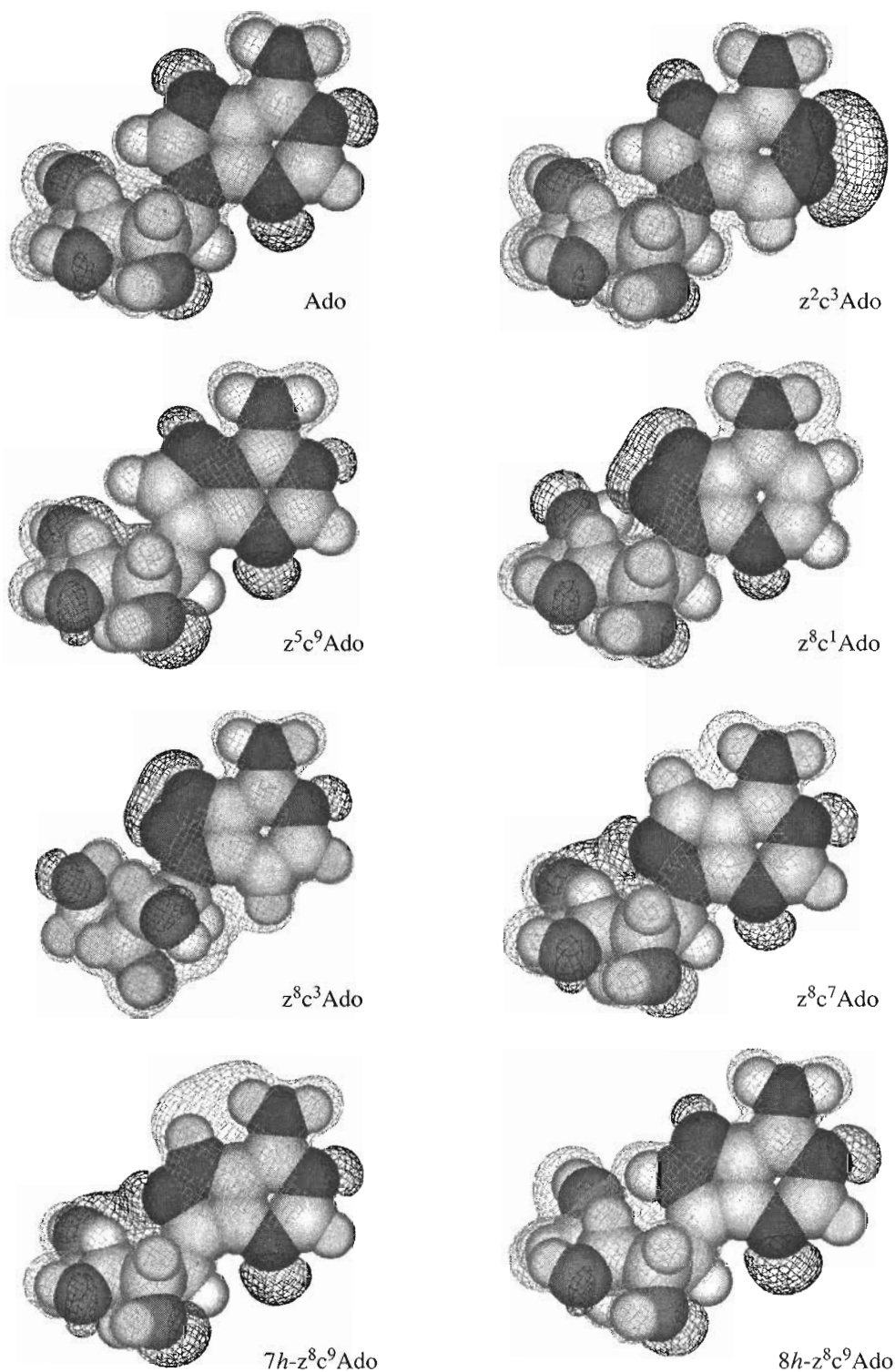


Рис. 1. Поверхность электростатического потенциала в сравнении с ван-дер-ваальсовыми радиусами атомов в молекулах аденозина и его аза-дезааналогов. Области отрицательных и положительных значений электростатических потенциалов показаны черной и серой сетками соответственно.

жить, что z^8c^3Ado не будет служить субстратом для ADA, а будет ингибитором, причем более слабым, чем c^3Ado [22, 23, 25].

Соединение z^5c^9Ado должно быть субстратом для ADA, так как для него распределение областей электростатических потенциалов в молекуле

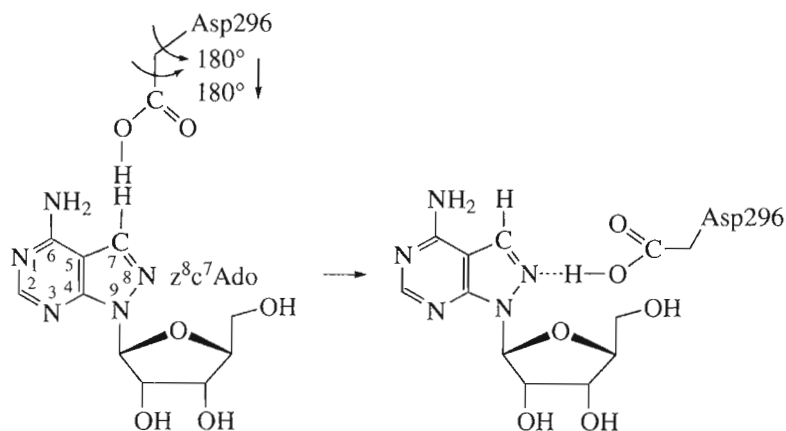


Рис. 2. Возможный механизм образования водородной связи между атомом N8 в молекуле z^8c^7 Ado и протоном γ -COOH-группы остатка Asp296 в активном центре ADA на начальной стадии акцептирования.

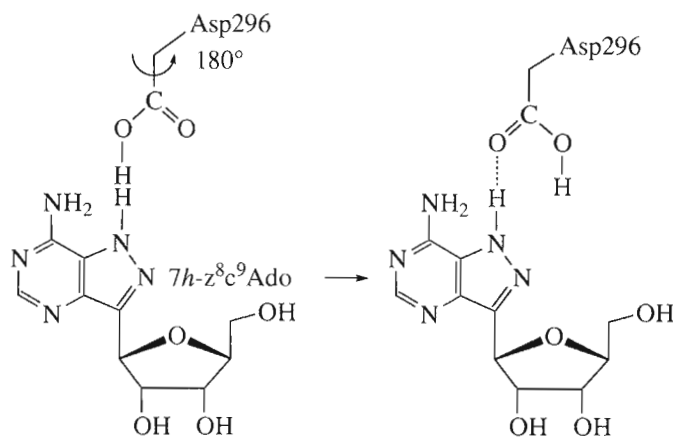


Рис. 3. Возможный механизм образования водородной связи между протоном в молекуле $7h-z^8c^9$ Ado и карбонильным атомом кислорода γ -COOH-группы остатка Asp296 в активном центре ADA на начальной стадии акцептирования.

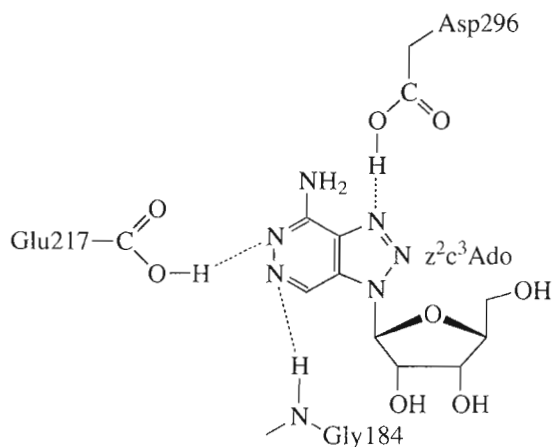


Рис. 4. Предполагаемая система водородных связей молекулы z^2c^3 Ado с функциональными группами остатков аминокислот в активном центре ADA.

аналогично распределению в аденозине (рис. 1). Однако значения зарядов на атомах N7 различаются: для молекулы аденозина это -0.28 , а для молекулы z^5c^9 Ado -0.22 д.э. Поэтому значения K_m и V_{max} для z^5c^9 Ado будут выше, чем для аденозина [18, 19]. Можно предположить, что увеличение V_{max} будет больше, чем увеличение K_m из-за согласованного действия эндоциклических электроакцепторных атомов азота в положениях 1, 3 и 5 триазинового фрагмента гетероцикла, которое вызывает возрастание заряда на атоме C6 до 0.41 д.э. Это должно способствовать ускоренному протеканию ферментативной реакции дезаминирования по механизму S_NAr .

Для $1H^+$ -катионов аденозина и его аналогов z^2c^3 Ado, z^5c^9 Ado, z^8c^3 Ado, z^8c^7 Ado, $7h-z^8c^9$ Ado и $8h-z^8c^9$ Ado поверхность электростатического потенциала существенно меняет свой вид (рис. 5). В результате протонирования молекул исчезают полностью области отрицательного электростатического по-

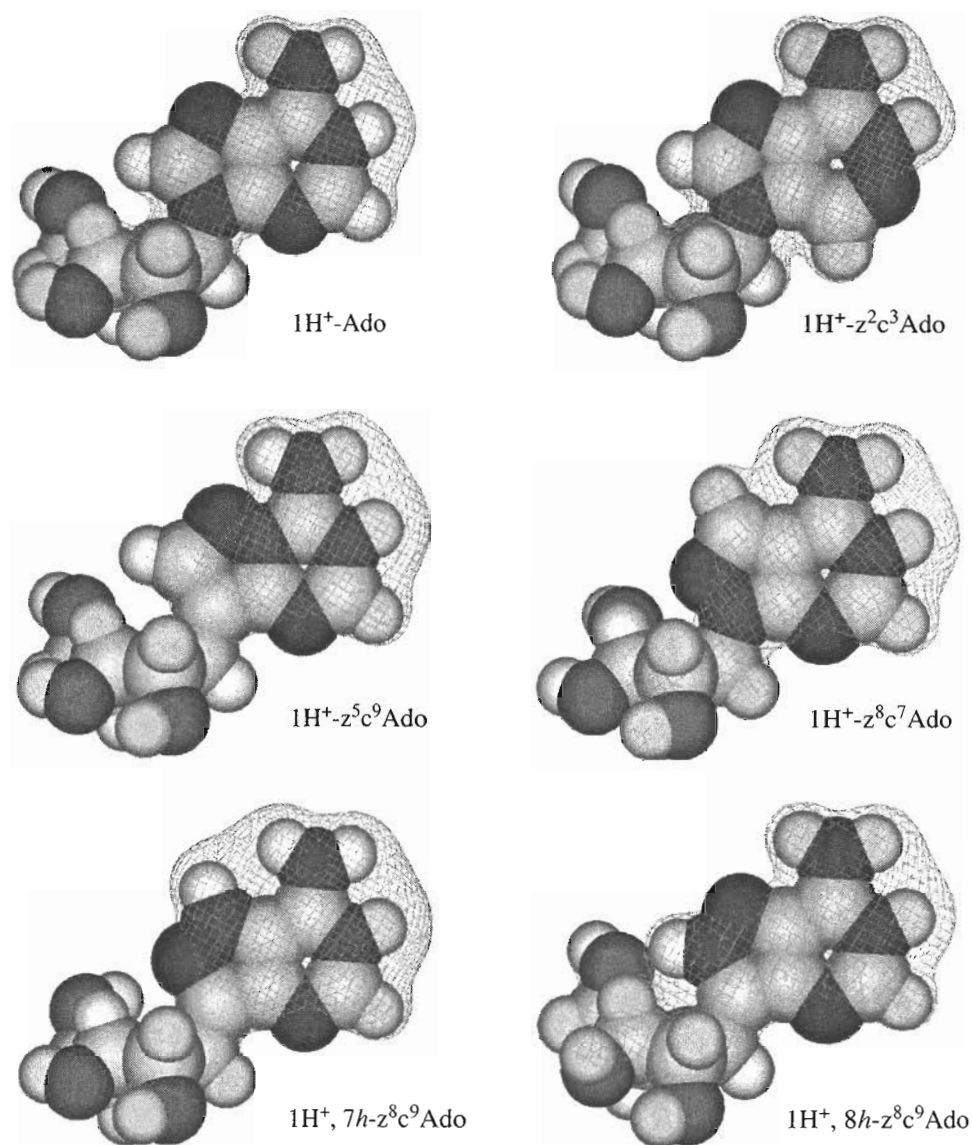


Рис. 5. Поверхность электростатического потенциала в сравнении с ван-дер-ваальсовыми радиусами атомов в $1H^+$ -катионах аденозина и его аза-дезааналогов.

тенциала, размеры которых больше ван-дер-ваальсовых радиусов атомов. Области положительного электростатического потенциала в положениях 1 и 6 гетероцикла сходны с таковыми у молекулы c^1Ado [1]. Молекула z^8c^1Ado , подобно молекуле c^1Ado , не имея положительного заряда проявляет ингибиторные свойства в отношении ADA. Причиной тому не только структурное сходство с катионом $1H^+-Ado$, но и сходство в распределении электростатического потенциала.

Исходя из экспериментальных данных и результатов квантово-химических и молекулярно-механических расчетов аза-дезааналогов аденозина и их $1H^+$ -катионов можно уточнить механизм

акцептирования субстрата активным центром ADA [1]. Стадия 2: в случае наличия у молекулы субстрата в положении 7 остатка гетероцикла CH -группы, а в положении 8 – атома азота, образование водородной связи в активном центре ADA происходит между атомом N8 субстрата и протоном γ - $COOH$ -группы после конформационных изменений бокового радикала остатка Asp296. Стадия 4: в случае наличия у молекулы субстрата в положении 3 гетероцикла CH -группы, а в положении 2 – атома азота, в активном центре ADA происходит образование очень слабой водородной связи между N2 субстрата и протоном пептидной связи, несущей остаток Gly184.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для сопоставления конформационных и электростатических свойств соединений в группе важно, чтобы расчетные результаты были получены с помощью единой методики. Все потенциалы и программы для проведения расчетов в этой работе идентичны тем, которые были использованы в нашей предыдущей работе этой серии [1].

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 01-04-48830).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зарубин Ю.П., Ильичева И.А., Пурьгин П.П., Флорентьев В.Л. // Биоорг. химия. 2002. Т. 28. С. 315–323.
2. Tam S. Y.-K., Hwang J.-S., De Las Heras F.G., Klein R.S., Fox J.J. // J. Heterocycl. Chem. 1976. V. 13. P. 1305–1308.
3. May J.A., Jr., Townsend L.B. // J. Org. Chem. 1976. V. 41. P. 1449–1456.
4. Franchetti P., Messini L., Cappellacci L., Grifantini M., Nocentini G., Guarracino P., Marongiu M.E., La Colla P. // Antiviral. Chem. Chemother. 1993. V. 4. P. 341–352.
5. Miles D.W., Miles D.L., Eyring H.A. // J. Theor. Biol. 1974. V. 45. P. 577–583.
6. Ceasar G.P., Greene J.J. // J. Med. Chem. 1974. V. 17. P. 1122–1124.
7. Orozco M., Canela E.I., Franco R. // Mol. Pharmacol. 1989. V. 35. P. 257–264.
8. Orozco M., Lluís C., Mallol J., Canela E.I., Franco R. // J. Pharm. Sci. 1990. V. 79. P. 133–137.
9. Orozco M., Canela E.I., Mallol J., Lluís C., Franco R. // J. Org. Chem. 1990. V. 55. P. 753–756.
10. Wilson D.K., Quioco F.A. // Biochemistry. 1993. V. 32. P. 1689–1694.
11. Ronca G., Zucchelli G. // Biochim. Biophys. Acta. 1968. V. 159. P. 203–205.
12. Maguire M.H., Sim M.K. // Eur. J. Biochem. 1971. V. 23. P. 22–29.
13. Orozco M., Velasco D., Canela E.I., Franco R. // J. Amer. Chem. Soc. 1990. V. 112. P. 8221–8229.
14. Sharff A.J., Wilson D.K., Chang Z., Quioco F.A. // J. Mol. Biol. 1992. V. 226. P. 917–921.
15. Wilson D.K., Rudolph F.B., Quioco F.A. // Science. 1991. V. 252. P. 1278–1284.
16. Wilson D.K., Quioco F.A. // Nat. Struct. Biol. 1994. V. 1. P. 691–694.
17. Wang Z., Quioco F.A. // Biochemistry. 1998. V. 37. P. 8314–8324.
18. Hecht S.M., Frye R.B., Werner D., Fukui T., Hawrelak S.D. // Biochemistry. 1976. V. 15. P. 1005–1015.
19. Agarwal R.P., Sagar S.M., Parks R.E., Jr. // Biochem. Pharmacol. 1975. V. 24. P. 693–701.
20. Bussolari J.C., Ramesh K., Stoeckler J.D., Chen S.-F., Panzica R.P. // J. Med. Chem. 1993. V. 36. P. 4113–4120.
21. Franchetti P., Cappellacci L., Grifantini M., Lupidi G., Nocentini G., Barzi A. // Nucleosides Nucleotides. 1992. V. 11. P. 1059–1076.
22. Lupidi G., Riva F., Cristalli G., Grifantini M. // Ital. J. Biochem. 1982. V. 31. P. 396–403.
23. Lupidi G., Cristalli G., Marmocchi F., Riva F., Grifantini M. // J. Enzyme. Inhib. 1985. V. 1. P. 67–75.
24. Dodin G., Bensaude O., Dubois J.-E. // J. Amer. Chem. Soc. 1980. V. 102. P. 3897–3899.
25. Kurz L.C., Moix L., Riley M.C., Frieden C. // Biochemistry. 1992. V. 31. P. 39–48.

Theoretical Study of Antagonists and Inhibitors of Mammalian Adenosine Deaminase. II. Isomeric Aza-deazaanalogues of Adenosine

Yu. P. Zarubin[#], I. A. Il'icheva^{**}, P. P. Purygin^{*}, and V. L. Florent'ev^{**}

[#]Phone: +7 (8462) 34-5459; e-mail: zarubin@ssu.samara.ru

^{*} Department of Organic Chemistry, Samara State University, ul. Akademika Pavlova 1, Samara, 443011 Russia

^{**} Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, GSP Moscow, 117984 Russia

Isomeric aza-deazaanalogues of adenosine and their N1-protonated forms (except for that of 8-aza-1-deazaadenosine) were studied by computer modeling to find a relationship between their molecular structures and the properties as substrates for the mammalian adenosine deaminase. The atomic charge distribution and maps of the electrostatic potential around their van der Waals molecular surface were calculated using the *ab initio* STO-3G method. The conformational studies were carried out by the MM⁺ method of molecular mechanics. The previously proposed mechanism of the substrate acceptance in the active site of mammalian adenosine deaminase was refined, and the potential substrate properties were predicted for two previously unstudied adenosine analogues, 5-aza-9-deazaadenosine and 8-aza-3-deazaadenosine. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2002, vol. 28, no. 5; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: adenosine, aza-deazaanalogues, theoretical study; adenosine deaminase, mechanism of substrate acceptance