



УДК 547.963.3.002.3:541.63.001.24

## КОНФОРМАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА АНГИДРОНУКЛЕОЗИДОВ

Лысов Ю. П., Завгородний С. Г., Журкин В. В.,  
Флорентьев В. Л.

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Методом силового поля рассчитаны возможные конформеры и флуктуационные свойства ряда ангидронуклеозидов, содержащих пяти-, шести- и семичленный ангидроцикл. Показано, что по конформационным свойствам изученные соединения можно разделить на два класса. К первому классу относятся соединения, которые существуют либо в виде одного конформера, либо единственного семейства, конформеры которого сходны по геометрии сахара и ангидроцикла, но различаются конформацией C(4')-C(5')-связи (8,5'-aAdo, 8,5'-(R-OH)aAdo, 8,5'-(S-OH)aAdo, 8,5'-S-aAdo, 8,3'-S-aAdo<sup>x</sup> и 8,3'-O-aAdo<sup>x</sup>). Ангидронуклеозиды, относящиеся ко второму классу, представляют собой равновесную смесь двух (8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> и 8,2'-O-aAdo<sup>a</sup>) или даже трех (8,1'-O-aAdo<sup>b</sup> и 6,1'-O-aCyt<sup>b</sup>) конформационных семейств. Сравнение результатов конформационного расчета и РСА между собой и с данными ЯМР показывает, что первый метод лучше описывает конформационную ситуацию в растворе ангидронуклеозидов.

Ангидронуклеозиды в силу особенностей строения широко используются для изучения ферментов и ферментных систем. Разумная интерпретация полученных результатов возможна лишь при наличии информации о пространственном строении этих соединений. В последние годы методом РСА были определены структуры ряда ангидронуклеозидов [1-6]. Однако сравнение результатов РСА с данными ЯМР порождает ряд вопросов, важных не только для стереохимии ангидронуклеозидов, но и для конформационного анализа компонентов нуклеиновых кислот.

Во-первых, ограничены ли конформационные возможности ангидронуклеозидов, как это часто принято считать, одним конформером?

Во-вторых, насколько конформация ангидронуклеозидов в растворе отличается от структуры в кристалле?

В-третьих, какова геометрия и «жесткость» возможных конформеров?

В-четвертых, насколько принятые в стереохимии нуклеозидов уравнения Карплуса применимы к ангидронуклеозидам?

И наконец, в-пятых, насколько теоретический конформационный расчет пригоден для описания конформационной ситуации в растворе ангидронуклеозидов?

Попытке ответить на эти вопросы и посвящено настоящее сообщение.

*Обозначения, определения и некоторые  
предварительные замечания*

Структурные формулы ангидронуклеозидов, изученных в настоящей работе, приведены на рис. 1.

Положительные значения всех двугранных углов, за исключением двугранных углов между протонами, отсчитываются по часовой стрелке от ближней связи к дальней в ньюмаповской проекции вдоль определяе-

Принятые сокращения: РСА — рентгеноструктурный анализ; КССВ — константа спин-спинового взаимодействия ( $J$ ); 8,2'-O-aAdo<sup>a</sup>-8,2'-ангидро-8-окси-9-(1-β-D-арабинофуранозил)аденин, 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup>-8,2'-ангидро-8-меркапто-9-(1-β-D-арабинофуранозил)аденин, 8,3'-O-aAdo<sup>x</sup>-8,3'-ангидро-8-окси-9-(1-β-D-ксилофуранозил)аденин, 8,3'-S-aAdo<sup>x</sup>-8,3'-ангидро-8-меркапто-9-(1-β-D-ксилофуранозил)аденин, 8,5'-S-aAdo-8,5'-ангидро-8-меркаптоаденозин, 8,5'-aAdo-8,5'-ангидроаденозин, 8,5'-(R-OH)aAdo-8,5'-ангидро-5'R-оксиаденозин, 8,5'-(S-OH)aAdo-8,5'-ангидро-5'S-оксиаденозин, 8,1'-O-aAdo<sup>b</sup>-8,1'-ангидро-8-окси-9-(2-β-D-псиикофуранозил)аденин, 6,1'-O-aCyt<sup>b</sup>-6,1'-ангидро-6-окси-1-(2-β-D-псиикофуранозил)цитозин.

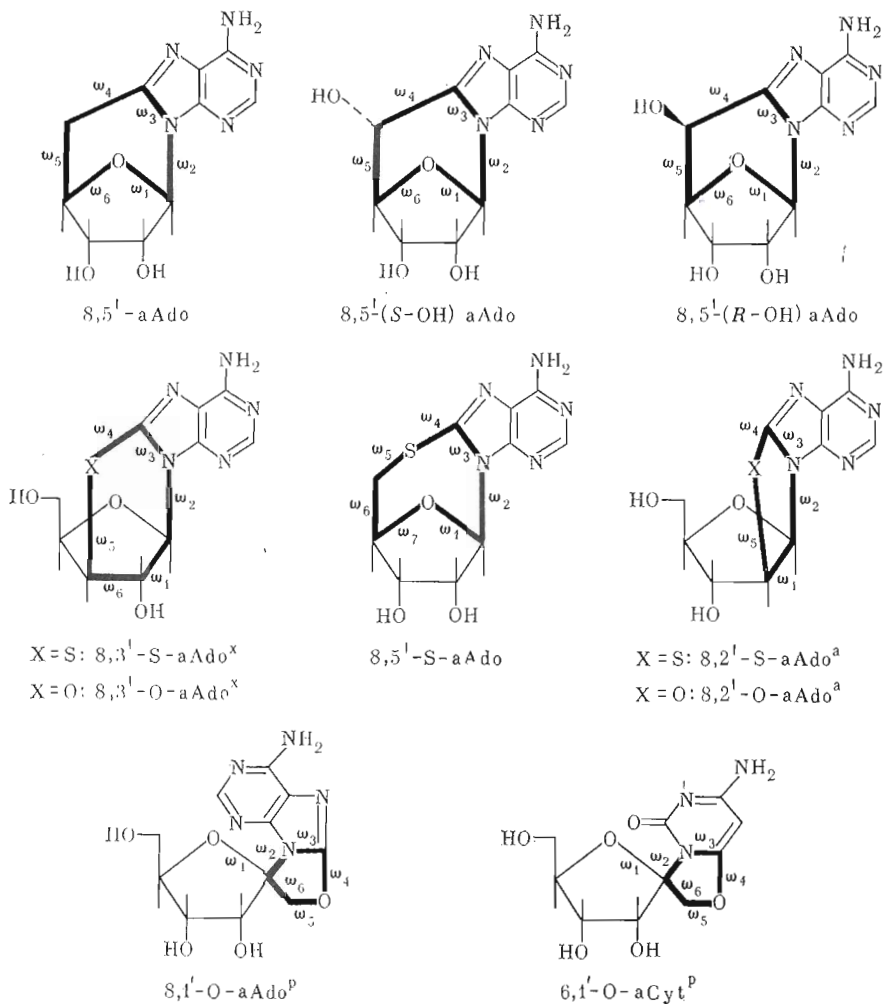


Рис. 1. Структурные формулы ангидропуклеозидов, изученных в настоящей работе

вместе с тем, торсионные углы углеводного цикла  $\tau_0, \tau_1, \tau_2, \tau_3, \tau_4$  образуются связями  $C(4')-O(4')-C(1')-C(2')$ ,  $O(4')-C(1')-C(2')-C(3')$ ,  $C(1')-C(2')-C(3')-C(4')$ ,  $C(2')-C(3')-C(4')-O(4')$  и  $C(3')-C(4')-O(4')-C(1')$  соответственно. Кроме того, конформация углеводного цикла определена в параметрах псевдотворения — фазового угла псевдотворения  $P$  и максимального торсионного угла  $\tau_m$  [7]. Гликозидный угол  $\chi$  определяется связями  $C(2')-C(1')-N(9)$  [ $N(1)$ ]- $C(4)$  [ $C(2)$ ], а угол  $\xi$  — связями  $C(3')-C(4')-C(5')-O(5')$ . При рассмотрении ангидропуклеозидов  $8,1' \text{-O-aAdo}^p$  и  $6,1' \text{-O-aCyt}^p$  необходимо в приведенных выше определениях торсионных углов увеличить номера атомов углеводного остатка на единицу.

Двугранные углы ангидроцикла обозначены символом  $\omega_i$ . Нумерация этих углов приведена на рис. 1. Для качественного описания конформации ангидроцикла мы использовали термин «*peri*», если атом ангидроцикла выведен из плоскости в сторону  $O(4')$ -атома сахарного кольца, и «*apo*», если атом выведен в противоположную сторону.

Символы  $\phi_1, \phi_2, \phi_3, \phi_4, \phi_5$  обозначают двугранные углы между vicinalными протонами при  $C(1')-C(2')$ ,  $C(2')-C(3')$ ,  $C(3')-C(4')$ ,  $C(4')-C(5' \text{ pro-R})$  и  $C(4')-C(5' \text{ pro-S})$  соответственно (в случае  $8,1' \text{-O-aAdo}^p$  и  $6,1' \text{-O-aCyt}^p$  номера атомов будут на единицу больше). Этим углам отвечают КССВ  $J_1, J_2, J_3, J_4, J_5$ .

Конформационное семейство составляют конформеры, имеющие сходную геометрию сахарного кольца и ангидроцикла, но различающиеся конформацией относительно  $C(4')-C(5')$ -связи.

Соединения, которые существуют в виде одного конформера или единственного семейства, мы будем называть *конформационно гомогенными*. К *конформационно гетерогенным* относятся ангидронуклеозиды, возможные конформеры которых образуют два или более конформационных семейств.

*Конформационная жесткость* характеризует конкретный конформер вне зависимости от того, является ли он единственной формой существования соединения или компонентом равновесной смеси конформеров. Конформационная жесткость определяется возрастанием энергии при отклонении конформационных параметров от положения равновесия.

Поскольку основной целью данной работы является построение модели для описания конформационной ситуации в растворе ангидронуклеозидов, необходимо коротко рассмотреть некоторые проблемы, связанные с переносом результатов конформационных расчетов на раствор.

Мы не станем останавливаться на ограничениях, внутренне присущих методу силового поля. Эти вопросы детально рассмотрены в вышедшей недавно монографии [8]. Отметим только, что ошибки параметризации сильнее сказываются на рассчитанной относительной энергии, чем на геометрии конформеров.

Часто дискутируемый вопрос, можно ли результаты расчетов, выполненных для вакуума, использовать для интерпретации данных эксперимента в растворе, в значительной степени надуман, если иметь в виду геометрию молекулы, а не ее энергию. Во-первых, если проводить уточнение параметров до лучшего соответствия свойствам нуклеозидов в растворе, то такие потенциалы в неявном виде будут учитывать эффекты сольватации. Во-вторых, с конформационной точки зрения между вакуумом и разбавленным раствором больше общего, чем обычно принято думать. И в том и другом случае молекула находится в изотропном окружении, тогда как в кристалле — в анизотропном. Кроме того, в кристаллах нуклеозидов реализуются многочисленные водородные связи, которые не могут существовать в водном растворе вследствие конкуренции растворителя. Наконец, экспериментально показано, что по крайней мере в случае относительно небольших молекул переход из газовой фазы в жидкую и в разбавленный раствор не сопровождается заметным изменением геометрии конформеров.

Другое дело — энергетические характеристики молекулы. Далеко не исключение, когда конформер, обладающий в соответствии с расчетом большей энергией, оказывается более стабильным в растворе.

Первая причина такого явления заключается в недостаточной точности расчетных методов, связанной с необходимостью введения сомнительных приближений, с принципиальными трудностями параметризации и учета электростатических взаимодействий.

Вторая, более важная с точки зрения целей настоящей работы, связана с тем, что рассчитывается потенциальная энергия, т. е. энергия, которую имела бы молекула, если бы все атомы были закреплены в положениях равновесия при 0 К. В последнее время намечилась тенденция при сравнении теоретических расчетов с экспериментом рассматривать потенциальную энергию в качестве эквивалента энтальпии. Однако такое отождествление необосновано. Разность стандартных энтальпий

$$\Delta \bar{H}^{\circ} = \Delta E_p + \Delta \left( \frac{1}{2} \sum h\nu_i \right) + \Delta \left[ RT^2 \frac{\partial \ln(Q/V)}{\partial T} \right], \quad (1)$$

где второе слагаемое представляет нулевую энергию колебаний, а  $Q$  — статистическая сумма состояний. Достоверно оценить величины второго и третьего слагаемых практически невозможно. Кроме того, при рассмотрении ситуации в растворе затруднительно определить второе слагаемое в правой части уравнения

$$\Delta \mu^{\circ} = \Delta \bar{H}^{\circ} - T \Delta \bar{S}^{\circ}. \quad (2)$$

Если учесть, что для природных нуклеозидов  $\Delta \bar{S}^{\circ}$  конформационных переходов лежит в области 2–5 кал·М<sup>-1</sup>·К<sup>-1</sup> [9], то для температур,

близких к комнатной,  $T\Delta S^\circ$  может изменяться от 1,2 до 3 ккал/моль. Таким образом, величина 2 ккал/моль является минимальной (явно заниженной) границей достоверности рассчитанных  $\Delta E_p$  при сравнении с экспериментальными данными при  $\sim 300$  К.

В заключение следует остановиться еще на двух проблемах, непосредственно связанных с использованием результатов расчета для интерпретации данных ЯМР. Наиболее информативным и широко применяемым методом изучения нуклеозидов в растворе является  $^1\text{H}$ -ЯМР, особенно КССВ vicинальных протонов, величина которых зависит от двугранного угла между этими протонами.

В связи с этим необходимо решить две задачи: а) независимо определить двугранные углы между протонами, б) рассчитать ожидаемые для этих углов КССВ.

Решение первой задачи осложнено тем, что положение атомов водорода в рассчитанных структурах недостоверно как вследствие малости силовой постоянной валентных углов, образованных С-Н-связями, так и в результате неоднозначности в выборе этой постоянной. Что же касается РСА, то в этом случае координаты атомов водорода определяются на порядок менее точно, чем координаты тяжелых атомов. Кроме того, именно положение протонов наиболее сильно искажается силами кристаллической упаковки. Учитывая все это, мы определяли двугранные углы между атомами водорода по торсионным углам углеводного цикла в предположении идеальной тетраэдрической конфигурации атомов углерода.

Вторую задачу обычно решают с помощью уравнения Карплуса. В конформационном анализе нуклеозидов наиболее часто используют следующее уравнение [10]:

$$J = 9,8 \cos^2 \varphi - 0,9 \cos \varphi. \quad (3)$$

Однако не следует забывать, что параметры уравнения весьма чувствительны к электроотрицательности лигандов, величине валентных углов, конфигурации.

#### *Конформационно гомогенные ангидронуклеозиды*

$8,5'$ -aAdo,  $8,5'$ -(R-OH)aAdo и  $8,5'$ -(S-OH)aAdo. Прежде чем перейти к рассмотрению этих соединений, следует остановиться на одном досадном недоразумении, связанном с определением абсолютной конфигурации при С(5')-атоме углеводного остатка. Во всех опубликованных до настоящего времени статьях (см., например, [1, 2]) символом R обозначают эпитер  $8,5'$ -(S-OH)aAdo (рис. 1). Однако нетрудно видеть, что вторым по старшинству заместителем является заместитель при С(8)-атоме (напомним, что атом, связанный двойной связью, считается за два атома). Тогда очевидно, что R-эпитером является  $8,5'$ -(R-OH)aAdo. Мы считаем необходимым восстановить истину, поскольку само название стереохимической номенклатуры — «абсолютная» — требует от авторов абсолютно точного следования принятым правилам — «*durum lex, sed lex*»\*.

Рассчитанные конформационные параметры  $8,5'$ -aAdo,  $8,5'$ -(R-OH)aAdo и  $8,5'$ -(S-OH)aAdo приведены в табл. 1. Каждое из соединений реализуется лишь одним конформером, причем геометрия всех трех форм практически одинакова (отличия двугранных углов не превышают  $3^\circ$ ).

Для всех структур конформация рибозы близка к O(4')-экзо (слегка искажена в сторону  $^1T_0$ ). Отметим, что такая конформация соответствует максимуму энергии на пути псевдовращения в случае природных нуклеозидов. Это неудивительно, поскольку образование ангидроцикла требует замыкания непосредственной связи между С(5') и С(8), т. е. максимального сближения в пространстве основания и экзоциклической оксиметильной группы, что возможно, когда оба заместителя находятся на аксиальных связях (R близок к  $270^\circ$ ).

\* Закон суров, по это закон (*laar.*).

Расчетные структуры конформационно гомогенных ангидронуклеозидов в сравнении с данными РСА

Соединение	Конформер	Конформационные параметры, град														$\Delta E$ , ккал/моль		
		$\chi$	$\xi$	$P$	$\tau_m$	$\tau_0$	$\tau_1$	$\tau_2$	$\tau_3$	$\tau_4$	$\omega_1$	$\omega_2$	$\omega_3$	$\omega_4$	$\omega_5$		$\omega_6$	$\omega_7$
8,5'-aAdo		99,2		279	49,7	49,1	-33,2	7,2	20,7	-44,4	-67,3	29,0	0,0	8,7	-44,6	74,9		
8,5'-(R-OH)aAdo РСА <sup>a</sup>		99,5		278	49,8	49,0	-32,6	6,5	21,3	-44,7	-67,1	29,2	0,0	8,2	-43,9	74,5		
		99,4		288,6	47,7	48,6	-38,5	14,4	13,3	-38,1	-69,1	27,4	3,9	6,5	-47,6	83,6		
		98,2		279	50,9	50,3	-33,5	7,3	21,1	-45,4	-66,2	27,4	0,0	10,6	-46,7	75,6		
8,5'-(S-OH)aAdo РСА <sup>b</sup>		101,8		289	49,0	50,6	-40,6	15,9	12,5	-39,1	-65,1	29,8	-4,9	15,9	-52,9	81,3		
8,3'-S-aAdo <sup>x</sup>	gosh+	142	61	351	46,4	19,5	-41,2	45,9	-35,6	10,4		-37,7	0,0	-1,4	40,8	-76,3	0,30	
	trans	144	181	346	46,0	23,2	-42,7	44,6	-32,2	5,9		-35,8	0,0	-3,2	42,7	-76,8	0,0	
	gosh-	144	298	347	45,9	22,6	-42,3	44,7	-32,5	6,5		-35,8	0,0	-3,2	42,8	-77,1	0,04	
	РСА <sup>b</sup>	147,5	74,3	344,6	44,2	24,1	-41,3	42,6	-29,2	3,6		-36,0	0,2	-2,6	42,9	-80,6		
8,3'-O-aAdo <sup>x</sup>	gosh+	143	64	349	51,0	23,6	-46,1	50,1	-37,1	8,8		-36,8	0,0	-0,9	38,2	-67,6	0,68	
	trans	145	181	345	50,0	26,1	-46,6	48,4	-33,9	5,3		-35,4	0,0	-2,4	39,5	-67,5	0,0	
	gosh-	145	299	344	50,1	26,8	-47,0	48,2	-33,4	4,5		-35,0	0,0	-3,2	40,5	-67,9	0,04	
8,5'-S-aAdo	Конформер (1)	130		245	32,0	23,4	-5,2	-13,4	26,8	-31,8	-97,8	66,1	0,0	-47,6	61,9	-73,2	92,4	0,0
	Конформер (2)	111		318	34,1	29,4	-33,3	23,6	-7,2	-13,7	-94,3	48,1	0,0	-28,4	47,5	-77,9	109,4	4,2

a-b - Данные РСА взяты из работ [1]-[3] соответственно.

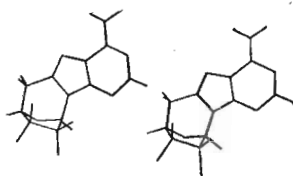


Рис. 2

Рис. 2. Рассчитанная структура 8,5'-aAdo

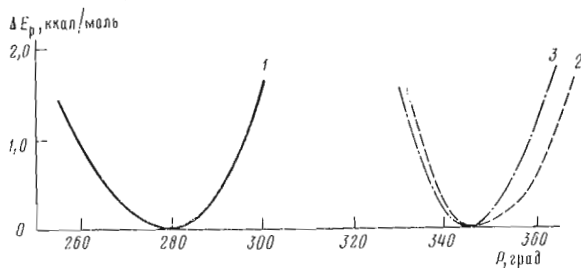


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость потенциальной энергии от фазового угла псевдоповращения: 1 — 8,5'-aAdo; 2 — *gosh*<sup>+</sup>-конформер 8,3'-S-aAdo<sup>+</sup>; 3 — *gosh*<sup>+</sup>-конформер 8,3'-O-aAdo<sup>+</sup>

Шестичленный ангидроцикл (рис. 1) существует в конформации, средней между формой полукресла и конверта (атом С(4') выведен в *apo*-, а О(4') — в *peri*-направлении из плоскости, образованной четырьмя остальными атомами, на ~0,15 и ~0,55 Å соответственно). На рис. 2 представлена рассчитанная структура 8,5'-aAdo.

Конформеры 8,5'-ангидронуклеозидов обладают относительно невысокой конформационной жесткостью. Как видно из рис. 3, изменение  $P$  на  $10^\circ$  увеличивает энергию молекулы на ~0,25 ккал/моль, а изменение на  $20^\circ$  — на 1–1,5 ккал/моль. Дальнейший сдвиг по  $P$  сопровождается резким возрастанием энергии. Пологое дно энергетического минимума является следствием компенсации напряжений в ангидроцикле понижением энергии рибозы при изменении  $P$  в ту или другую сторону от  $270^\circ$ .

Из табл. 1 видно, что различия между рассчитанными структурами и структурами, полученными методом РСА, хотя и не являются принципиальными, все же достаточно заметны. Прежде всего это касается конформации сахара, которая для РСА-структур является почти чистым твистом  ${}^1T_4$  ( $P$  увеличивается на  $\sim 10^\circ$ ). Одновременно у РСА-конформеров  $\tau_m$  уменьшается на  $\sim 2^\circ$ . Рассчитанная и определенная РСА величина гликозидного угла одинакова для 8,5'-(*R*-ОН)aAdo, но различается на  $\sim 4^\circ$  в случае 8,5'-(*S*-ОН)aAdo. Шестичленные ангидроциклы всех пяти структур 8,5'-ангидронуклеозидов, приведенных в табл. 1, имеют в принципе сходную геометрию, среднюю между С(4')-*apo*-О(4')-*peri*-полукреслом и О(4')-*peri*-конвертом. Расстояние атома О(4') от плоскости, образованной атомами С(1'), N(9), С(8) и С(5'), практически одинаково для всех конформеров и составляет 0,54–0,59 Å. Это неудивительно, поскольку атомы С(4'), О(4') и С(1') принадлежат как ангидроциклу, так и рибозе. Различия в конформации ангидроцикла наглядно проявляются в величине отклонения от плоскости атома С(4') (напомним, что в идеальном полукресле атомы С(4') и О(4') выведены из плоскости на равные расстояния, а в идеальном конверте атом С(4') лежит в плоскости). В порядке изменения конформации в направлении от конверта к полукреслу обсуждаемые соединения, согласно РСА [1] и нашим расчетам, можно расположить в ряд: РСА-структура 8,5'-(*R*-ОН)aAdo (0,11 Å) < 8,5'-aAdo  $\approx$  8,5'-(*R*-ОН)aAdo (0,16 Å) < 8,5'-(*S*-ОН)aAdo (0,21 Å) < РСА-структура 8,5'-(*S*-ОН)aAdo (0,32 Å).

Столь сильное различие кристаллических структур ангидронуклеозидов при практически идентичной конформации рибозного цикла трудно объяснить из общих стереохимических соображений. Как всегда, когда не находится разумных объяснений, вину сваливают на особенности кристаллической упаковки, что и сделано в работе [1]. Однако важно отметить, что та же тенденция, хотя и не столь четко выраженная, наблюдается и для рассчитанных структур. Еще одна интересная особенность выявляется при сравнении параметров ангидроцикла, полученных в результате расчета конформеров. Замена *pro-R* (но не *pro-S*) атома во-

дорода в 8,5'-аАдо на оксигруппу не влияет на геометрию ангидро-нуклеозида.

Заметное отличие от нуля величины  $\omega_3$  в РСА-структурах указывает на то, что принятое в расчете приближение  $\omega_3=0$  является, по-видимому, недостаточно корректным при рассмотрении 8,5'-ангидро-нуклеозидов.

Основываясь на геометрии конформеров, приведенных в табл. 1, мы рассчитали по уравнению (3) теоретически ожидаемые КССВ. Эти константы в сравнении с определенными экспериментально приведены в табл. 2.

Видно, что теоретические КССВ хорошо согласуются с экспериментальными, за исключением  $J_2$ , для которой расхождение составляет  $\sim 3$  Гц. Сразу отметим, что  $J_2$  соответствует единственным в рибозном цикле цисоидным протонам Н(2') и Н(3').

Заметное различие в величинах  $J_2$  нельзя объяснить неточностью конформационного расчета, поскольку: а) остальные четыре КССВ согласуются с экспериментом достаточно хорошо, б) величина константы, равная 6 Гц, при расчете по общепринятым уравнениям соответствует  $\omega_2$ , равному  $\sim 35^\circ$ . Такое значение двугранного угла может реализоваться только в конформациях рибозы типа  $E_3-{}^2T_3-{}^2E$  или  ${}^3E-{}^3T_2-E_2$ , что невозможно по условию замыкания цикла.

С другой стороны, рассматриваемые соединения принципиально отличаются от природных нуклеозидов. Они обладают относительно жестким рибозным циклом, конформация которого может меняться лишь в небольших пределах, причем это уникальная конформация, никогда не реализующаяся в природных соединениях. Поэтому есть все основания отнести расхождение между теорией и экспериментом на счет неприменимости уравнения Карплуса.

Вообще говоря, тот факт, что вычисленные по общепринятым уравнениям Карплуса КССВ между цисоидными протонами завышены по сравнению с экспериментальными, отмечался и раньше, в частности для 6,5'-ангидро-6-оксиуридина [13] и арабинонуклеозидов [14].

В связи с этим мы рассчитывали значения  $J_2$  по упрощенному уравнению Карплуса:

$$J=6,1 \cos^2 \varphi \quad (4)$$

(приведены в табл. 2 в скобках).

Безусловно, это очень грубое приближение, которое будет иметь право на существование только при условии, что оно удовлетворительно опишет сходные ситуации (жесткая конформация углеводного цикла, цисоидные протоны) в ряду всех изученных соединений. Но даже и в этом случае вряд ли можно рекомендовать его экстраполяцию даже на соединения близкой химической природы.

8,3'-S-aАдо<sup>x</sup> и 8,3'-O-aАдо<sup>x</sup>. Так же как и в случае 8,5'-ангидро-нуклеозидов, бициклическая система 8,3'-S(O)-ангидро-нуклеозидов состоит из пятичленного углеводного цикла и шестичленного ангидроцикла. Три общих атома обоих циклов в данном случае являются С(3'), С(2') и С(1'), а не С(4'), О(4') и С(1'), как в случае 8,5'-ангидро-нуклеозидов. Таким образом, можно ожидать, что оба типа ангидро-нуклеозидов будут иметь сходную конформацию, сдвинутую по пути псевдотворения на  $72^\circ$ . Другими словами, можно ожидать для 8,3'-S(O)-ангидро-нуклеозидов конформацию сахара, близкую к С(2')-экзо-конверту, а конформацию ангидроцикла — близкую к С(2')-ано-С(3')-пери-полукреслу.

Действительно (табл. 1), конформация углеводного цикла в рассчитанных конформерах 8,3'-S-aАдо<sup>x</sup> представляет собой конверт  $E_2$ . Геометрия ангидроцикла также близка к ожидаемой, хотя и более близка к конверту, чем в случае 8,5'-ангидро-нуклеозидов (атомы С(2') и С(3') выведены из плоскости четырех остальных на 0,7 и 0,07 Å соответственно). На рис. 4 приведена структура *gosh*<sup>+</sup>-конформера 8,3'-S-aАдо<sup>x</sup>.

Интересно, что из трех рассчитанных конформеров два (*транс* и *gosh*<sup>-</sup>) имеют практически одинаковую геометрию, в то время как *gosh*<sup>+</sup>, хотя и



Теоретически ожидаемые для конформационно гомогенных андронуклеозидов КСВ (теор.) в сравнении с экспериментально измеренными (эксп.)<sup>а</sup>

Соединение	Метод определения структуры	Двугранные углы между протонами, град						КСВ <sup>б</sup> , Гц								
		φ <sub>1</sub>	φ <sub>2</sub>	φ <sub>3</sub>	φ <sub>4</sub>	φ <sub>5</sub>	J <sub>1</sub>		J <sub>2</sub>		J <sub>3</sub>		J <sub>4</sub>		J <sub>5</sub>	
							теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.
8,5'-aAdo	Расчет	87	7	99	72	38	0,0	0	8,8(6,0)	6,0	0,4	0	0,7	0,8	5,4	5,3
8,5'-(R-OH)aAdo	Расчет	87	7	99	—	38	0,0	0	8,8(6,0)	6,2	0,4	0	—	—	5,4	5,9
	РСА	82	14	107	—	42	0,1	—	8,4(5,7)	—	1,1	—	—	—	4,7	—
8,5'-(S-OH)aAdo	Расчет	87	7	99	73	—	0,0	0	8,8(6,0)	5,9	0,4	0,9	0,6	1,1	—	—
	РСА	79	16	108	73	—	0,2	—	8,2(5,6)	—	1,2	—	0,6	—	—	—
8,3'-S-aAdo <sup>х</sup>	Расчет <sup>в</sup>	78±1	75±1	33±2	—	—	0,2±0,1	0	0,4±0,1	0	6,1±0,2 (4,3±0,2) 6,7(4,7)	4,0	—	—	—	—
	РСА	75	75	29	—	—	0,2	—	0,4	—	—	—	—	—	—	—
8,3'-O-aAdo <sup>х</sup>	Расчет <sup>в</sup>	73±1	71±1	34±2	—	—	0,6±0,1	0	0,7±0,1	0	6,0±0,2 (4,2±0,2)	3,8	—	—	—	—
	РСА	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8,5'-S-aAdo <sup>г</sup>	Расчет (1)	115	13	93	50	67	2,1	4,5	8,4(5,8)	6,0	0,1	0	3,5	2,0	1,1	1,5
	» (2)	87	24	127	47	72	0,0	—	7,4(5,1)	—	4,1	—	3,9	—	0,7	—

<sup>а</sup> Экспериментальные значения КСВ для 8,5'-aAdo взяты из работы [11], для 8,5'-(R-OH)aAdo и 8,5'-(S-OH)aAdo — из работы [2], для 8,3'-S-aAdo и 8,5'-S-aAdo — из работы [12]. Значения КСВ для 8,3'-O-aAdo<sup>х</sup> получены в данной работе.

<sup>б</sup> Рассчитаны по уравнению (3), приведенные в скобках — по уравнению (4).

<sup>в</sup> Приведены усредненные углы для конформационного семейства.

<sup>г</sup> Приведены результаты для обоих конформеров (1) и (2).



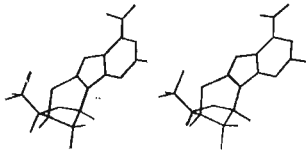


Рис. 4

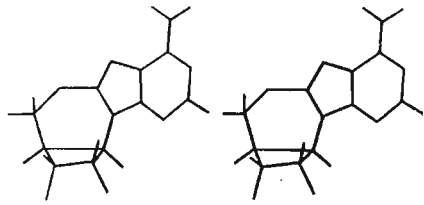
Рис. 4. Рассчитанная структура *gosh*<sup>+</sup>-конформера 8,3'-S-aAdo<sup>+</sup>

Рис. 5

Рис. 5. Рассчитанная структура оптимального конформера (1) 8,5'-S-aAdo

незначительно, но отличается от них по своим конформационным параметрам (см. табл. 1).

Определенная методом РСА геометрия 8,3'-S-aAdo<sup>+</sup> практически совпадает с рассчитанной, особенно в случае *транс*- и *gosh*<sup>-</sup>-конформеров. Возможно, это объясняется большей по сравнению с 8,5'-aAdo конформационной жесткостью рассматриваемого соединения (ср. кривые 1 и 2 на рис. 3).

В данном случае принятое в расчете приближение  $\omega_3=0$ , вероятно, вполне корректно, поскольку определенная методом РСА величина этого угла незначительно отличается от нуля.

Замена атома серы в ангидроцикле на кислород почти не влияет на геометрию ангидронуклеозида. Как видно из табл. 1, переход от 8,3'-S-aAdo<sup>+</sup> к 8,3'-O-aAdo<sup>+</sup> сопровождается лишь незначительным уменьшением *P* и увеличением  $\tau_m$ . Несколько повышается и конформационная жесткость (рис. 3).

При сравнении КССВ, ожидаемых для рассчитанной и РСА-геометрии 8,3'-ангидронуклеозидов, с экспериментально измеренными (табл. 2) мы сталкиваемся с ситуацией, отмеченной выше для 8,5'-ангидронуклеозидов. Хорошее соответствие для трансoidных протонов контрастирует с существенным различием КССВ между цисoidными протонами (>2 Гц). Это несоответствие легко устраняется использованием для расчета  $J_3$  уравнения (4). Отметим, что, судя по сумме  $J_4+J_5$ , в растворе преобладает *gosh*<sup>+</sup>-конформер.

**8,5'-S-aAdo.** Этот ангидронуклеозид существенно отличается от рассмотренных выше, поскольку содержит семичленный ангидроцикл (рис. 1). 8,5'-S-aAdo — единственное в данной работе соединение, для которого расчет дает два конформера с относительно большой разностью потенциальных энергий ( $\Delta E_p=4,2$  ккал/моль, см. табл. 1). Оптимальным является конформер (1) (рис. 5). Обе структуры заметно различаются величиной  $\chi$  (у конформера (1) он на 20° больше) и конформацией рибозы (средняя между <sup>4</sup>*E* и <sup>4</sup>*T*<sub>0</sub> у первого и между <sup>1</sup>*E* и <sup>1</sup>*T*<sub>2</sub> у второго конформера). В то же время геометрия ангидроцикла качественно схожа. В обоих случаях это искаженное кресло (*twist*-кресло), в котором атомы S(8), C(4') и C(1') занимают *ано*-, а атомы C(5') и O(4') — *перу*-позицию. Такое поведение 8,5'-S-aAdo понятно из общих стереохимических соображений. Мы уже говорили, что в случае 8,5'-aAdo условие замыкания цикла (длина C(8)—C(5')-связи) требует аксиального расположения C(1')—N(9)- и C(4')—C(5')-связей и с необходимостью закрепляет *E*<sub>4</sub>-конформацию рибозы (*P*~270°), которая для природных нуклеозидов отвечает максимуму энергии на пути псевдovращения. Увеличение расстояния между атомами C(8) и C(5') в 8,5'-S-aAdo позволяет рибозе сместиться с энергетического барьера, причем существуют две возможности изменения конформации либо в сторону <sup>4</sup>*E* (*P*~234°), либо в сторону <sup>1</sup>*E* (*P*~306°), которые сходны в том отношении, что лишь один из заместителей — 5'-CH<sub>2</sub>-группа или нуклеиновое основание — находятся на аксиальной связи. При этом ангидроцикл стремится сохранить наиболее выгодную конформацию *twist*-кресла.

Рассчитанные структуры конформационно гетерогенных

Соединение	Конформер	Конформационные параметры, град							
		$\chi$	$\xi$	$P$	$\tau_m$	$\tau_0$	$\tau_1$	$\tau_2$	
8,2'-S-aAdo <sup>a</sup>	<i>N-перу-гош</i> <sup>+</sup>	196	62	11,0	36,7	2,7	-25,0	36,1	
	<i>N-перу-транс</i>	196	181	12,4	37,0	1,9	-24,5	36,1	
	<i>N-перу-гош</i> <sup>-</sup>	196	298	12,2	36,9	2,0	-24,5	36,0	
	<i>S-апо-гош</i> <sup>+</sup>	164	63	146,8	29,8	-23,0	29,8	-24,9	
	<i>S-апо-транс</i>	164	182	168,3	32,3	-15,3	29,4	-31,6	
	<i>S-апо-гош</i> <sup>-</sup>	164	298	167,4	31,9	-15,5	29,2	-31,1	
PCA <sup>a</sup>		186	163	232,5	33,7	19,4	2,0	-20,5	
8,2'-O-aAdo <sup>a</sup>	<i>N-перу-гош</i> <sup>+</sup>	190	62	27,9	36,1	-8,0	-15,9	31,9	
	<i>N-перу-транс</i>	189	181	31,7	36,3	-10,4	-13,8	30,9	
	<i>N-перу-гош</i> <sup>-</sup>	189	299	31,6	35,5	-10,1	-13,5	30,2	
	<i>S-апо-гош</i> <sup>+</sup>	168	62	162,9	29,7	-16,5	28,1	-28,1	
	<i>S-апо-транс</i>	168	181	184,2	33,4	-6,9	25,5	-33,3	
	<i>S-апо-гош</i> <sup>-</sup>	168	298	182,1	34,1	-8,4	26,8	-34,1	
PCA <sup>b</sup>		179	59	217,5	18,9	6,4	6,0	-15,0	
8,1'-O-aAdo <sup>b</sup>	<i>N-перу-гош</i> <sup>+</sup>	292	62	14,8	42,2	2,4	-26,4	38,8	
	<i>N-перу-транс</i>	290	181	0,6	40,6	12,2	-32,0	38,3	
	<i>N-перу-гош</i> <sup>-</sup>	290	298	-0,8	40,6	13,0	-32,4	38,2	
	<i>S-перу-гош</i> <sup>+</sup>	295	61	163,1	40,2	-23,0	37,4	-26,1	
	<i>S-перу-транс</i>	294	180	175,8	41,8	-15,8	34,9	-39,5	
	<i>S-перу-гош</i> <sup>-</sup>	295	295	174,7	41,9	-16,6	35,3	-39,3	
	<i>N-апо-гош</i> <sup>+</sup>	315	62	8,7	39,7	6,4	-27,8	37,1	
	<i>N-апо-транс</i>	315	181	12,8	40,5	3,7	-26,3	37,5	
	<i>N-апо-гош</i> <sup>-</sup>	315	297	11,6	40,2	4,5	-26,8	37,4	
	6,1'-O-aCyt <sup>b</sup>	<i>N-перу-гош</i> <sup>+</sup>	287	61	32,9	41,2	-10,6	-15,2	33,5
		<i>N-перу-транс</i>	286	181	30,0	40,9	-8,5	-16,9	34,1
		<i>N-перу-гош</i> <sup>-</sup>	286	297	27,8	39,4	-6,7	-17,6	33,5
<i>S-перу-гош</i> <sup>+</sup>		293	59	151,4	41,9	-30,4	40,3	-34,4	
<i>S-перу-транс</i>		292	180	170,8	43,9	-20,1	38,4	-39,9	
<i>S-перу-гош</i> <sup>-</sup>		291	295	174,0	41,2	-16,8	35,0	-38,7	
PCA <sup>b</sup>	<i>N-апо-гош</i> <sup>+</sup>	317	61	30,3	38,4	-8,2	-15,6	31,8	
	<i>N-апо-транс</i>	318	181	32,3	39,5	-9,8	-14,8	32,2	
	<i>N-апо-гош</i> <sup>-</sup>	318	297	31,8	39,5	-9,4	-15,2	32,4	
		304	179	23,9	34,0	-3,1	-18,0	31,1	

<sup>a,б</sup> Данные из работ [5], [6] соответственно.  
<sup>в</sup> Структура будет опубликована в ближайших номерах журнала «Докл. АН СССР».

К сожалению, данные PCA для 8,5'-S-aAdo весьма ограничены, однако те, что все-таки доступны [4] ( $\chi=128^\circ$ , S(8)-апо), лучше согласуются со структурой (1).

Как видно из табл. 2, данные ЯМР, за исключением КССВ между цисоидными протонами ( $J_2$ ), удовлетворительно описываются структурой (1). И в этом случае расчет по уравнению (4) дает хорошие результаты. Учитывая величины КССВ, ожидаемые для конформера (2), можно утверждать, что он не реализуется в растворе 8,5'-S-aAdo.

*Конформационно гетерогенные ангидроуклеозиды*

8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> и 8,2'-O-aAdo<sup>a</sup>. Рассматриваемые соединения могут существовать в виде двух популяций, различающихся конформацией сахара и ангидроцикла, каждая из которых представлена тремя ротамерами по C(4')—C(5')-связи.

## ангидронуклеозидов в сравнении с данными РСА

Конформационные параметры, град								$\Delta E$ , ккал/моль
$\tau_3$	$\tau_4$	$\omega_1$	$\omega_2$	$\omega_3$	$\omega_4$	$\omega_5$	$\omega_6$	
-35,3	20,9	-24,6	16,4	0,0	-13,2	22,5		0,05
-35,8	21,6	-24,2	16,1	0,0	-13,0	22,2		0,0
-35,7	21,6	-24,0	16,0	0,0	-12,8	22,0		0,05
12,4	6,5	24,2	-16,0	0,0	13,0	-22,3		1,4
23,7	-5,5	23,6	-15,6	0,0	12,6	-21,8		0,6
23,0	-4,9	23,7	-15,7	0,0	12,7	-21,8		0,7
32,2	-33,1	-2,5	3,0	-2,2	0,4	4,3		
-37,3	28,4	-16,5	10,2	0,0	-11,0	17,9		0,5
-37,7	30,4	-14,4	8,9	0,0	-9,5	15,6		0,4
-36,8	29,7	-14,4	8,9	0,0	-9,6	15,6		0,45
19,7	-2,2	20,4	-12,5	0,0	13,4	-22,2		0,7
30,4	-14,9	18,7	-11,5	0,0	12,3	-20,4		0,0
30,2	-13,9	20,2	-12,4	0,0	13,3	-22,0		0,2
18,9	-16,1	9,2	-8,1	4,0	2,7	-7,7		
-38,4	22,9	-121,0	-11,7	0,0	12,6	-20,6	18,9	0,3
-32,3	12,9	-112,0	-13,2	0,0	14,2	-23,2	21,3	0,08
-31,8	12,1	-111,0	-13,2	0,0	14,1	-23,1	21,2	0,1
23,4	-0,8	-144,4	-10,5	0,0	11,3	-18,4	16,9	0,4
31,2	-10,0	-136,8	-11,1	0,0	12,0	-19,6	17,9	0,27
30,7	-9,2	-138,0	-10,2	0,0	11,1	-18,1	16,5	0,46
-34,4	17,9	-119,6	11,9	0,0	-12,8	20,8	-19,2	0,0
-36,3	20,8	-122,2	12,0	0,0	-12,9	21,1	-19,4	0,05
-35,7	19,9	-121,5	12,1	0,0	-13,0	21,2	-19,6	0,1
-40,0	32,0	-135,0	-16,6	0,0	17,8	-28,8	26,9	1,3
-39,5	30,4	-133,0	-17,2	0,0	18,3	-29,6	27,7	1,2
-27,9	28,3	-132,0	-17,2	0,0	18,3	-29,7	27,7	1,3
17,9	7,7	-154,0	-12,4	0,0	13,3	-21,5	20,0	0,6
29,4	-6,7	-144,0	-12,7	0,0	13,6	-22,0	20,4	0,0
30,0	-8,6	-140,8	-12,9	0,0	13,8	-22,3	20,7	0,3
-37,1	28,7	-137,0	13,4	0,0	-14,3	23,1	-22,8	1,9
-38,3	30,4	-139,0	13,6	0,0	-14,6	23,4	-22,1	1,8
-38,2	30,2	-139,0	13,8	0,0	-14,7	23,7	-22,3	1,9
-33,9	23,5	-127,7	2,2		-5,3	8,9	-8,7	

Поскольку конформация углеводного цикла близка к обычно встречающейся для природных нуклеозидов, ниже для качественного ее описания мы использовали термины *N* (*C*(3')-эндо) и *S* (*C*(2')-эндо).

Рассмотрим сначала конформационные свойства 8,2'-*S*-aAdo<sup>a</sup> (табл. 3). Если для конформеров *N*-*пери*-семейства характерна <sup>3</sup>*E*-конформация сахара и *C*(2')-*пери*-конформация ангидроцикла, то для *S*-*ано*-семейства — <sup>2</sup>*E*-конформация сахара и *C*(2')-*ано*-конформация ангидроцикла.

То, что из четырех возможных комбинаций — *N* и *S*, *ано* и *пери* — реализуются только две, определяется строением ангидронуклеозида. Поскольку ангидронуклеозид представляет собой конденсированную систему двух пятичленных циклов, имеющих общую *C*(4')—*C*(2')-связь, конформации обоих циклов взаимосвязаны.

Важно отметить, что конформация углеводного и ангидроцикла изменяются по разным механизмам. Конформационное поведение сахарного

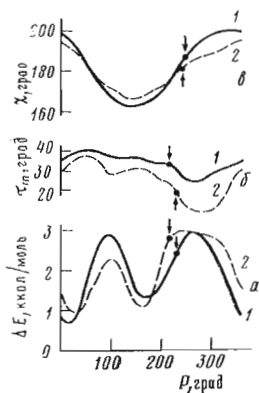


Рис. 6

Рис. 6. Зависимость потенциальной энергии (а),  $\tau_m$  (б) и  $\chi$  (в) *транс*-конформера 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> (1) и *гош*<sup>+</sup>-конформера 8,2'-O-aAdo<sup>a</sup> (2) от фазового угла псевдовращения (стрелками помечены параметры PCA-структур)

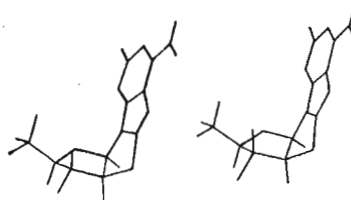


Рис. 7

Рис. 7. Рассчитанная структура *N-peri-gosh*<sup>+</sup>-конформера 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup>

цикла, так же как и в случае природных нуклеозидов, хорошо описывается концепцией псевдовращения. С другой стороны, С(2')-*ано*- и С(2')-*пери*-конформации ангидроцикла вследствие близости к нулю значения угла  $\omega_3$  взаимопревращаются путем инверсии, т. е. энергетическому барьеру соответствует плоский пятичленный цикл. Нетрудно видеть, что в идеализированной модели инверсия ангидроцикла связана с псевдовращением сахара следующими выражениями:

$$\begin{aligned} \omega_1 &= -\omega_5 = \tau_m \cos (P-144), \\ \omega_2 &= -\omega_4 = \tau_m \cos 144 \cos (P-144), \\ \chi &= \tau_m \cos 144 \cos (P-144) + 180. \end{aligned} \quad (5)$$

Поскольку  $\omega_3=0$ , плоская конформация ангидроцикла должна встречаться при значениях  $P$ , равных либо 54, либо 234° (при этом  $\chi=180^\circ$ ).

Как видно из рис. 6, идеализированная модель удовлетворительно согласуется с результатами теоретического расчета.

Конформеры обоих семейств обладают низкой конформационной жесткостью (отклонение  $P$  на 40° от положения равновесия увеличивает энергию молекулы лишь на ~0,5 ккал/моль). Барьеры межсемеjственных переходов весьма низки и близки к барьерам на пути псевдовращения природных нуклеозидов (2–3 ккал/моль).

Таким образом, по конформационным свойствам углеводного цикла 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> мало отличается от природных нуклеозидов. В то же время гликозидный угол может изменяться в относительно узкой области высокой *анти*-конформации от 164 до 194°.

Вновь *гош*<sup>+</sup>-конформер отличается от двух остальных, причем это отличие резко выражено для *S*-популяции сахара.

На рис. 7 приведена структура *N-peri-gosh*<sup>+</sup>-конформера 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup>.

Замена атома серы на кислород в 8,2'-ангидропроизводных сопровождается заметным изменением геометрии конформеров, большим, чем в случае 8,3'-ангидронуклеозидов, что, вероятно, связано с меньшей конформационной жесткостью рассматриваемых соединений. Изменения эти касаются как сахара, так и ангидроцикла и в меньшей степени величины  $\chi$ . Фазовый угол псевдовращения для обоих семейств 8,2'-O-aAdo<sup>a</sup> увеличивается на 20°, так что конформация углеводного цикла становится близкой к <sup>3</sup>T<sub>4</sub> в *N-peri*- и к <sup>2</sup>T<sub>3</sub> в *S-ано*-семействе. Изменение геометрии ангидроцикла ограничивается его уплощением. Если в случае 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup>

Теоретически рассчитанные (теор.) \* и экспериментальные (эксп.) \*\* значения КССВ для конформационно гетерогенных ангидроуклосозидов

Соединение	Метод определения структуры	Семейство	Другие углы между протонами, град						КССВ, Гц					
			$\varphi_1$		$\varphi_2$		$\varphi_3$		$J_1$		$J_2$		$J_3$	
			теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.	теор.	эксп.
8,2'-S-aAdo <sup>a</sup>	Расчет РСА	N-нери S-ано	25±1	156±1	156±1	156±1	7,1-7,3	6,7	8,9-9,1	2,7	8,9-9,1	3,3	8,9-9,1	3,3
			29±1 2	92±8 99	102±6 88	102±6 88	6,6-6,8 8,9	6,7	0,0-0,5 0,4	6,7	0,0-0,5 0,4	6,7	0,2-1,2 0	0,2-1,2 0
8,2'-O-aAdo <sup>a</sup>	Расчет РСА	N-нери S-ано	15±1	151±1	157±1	157±1	8,2±8,4	5,3	8,2-8,4	1,25	9,0-9,2	2,7	9,0-9,2	2,7
			27±2 6	89±3 105	95±5 101	95±5 101	6,9-7,2 8,8	5,3	0,0 0,9	5,3	0,0-0,5 0,5	5,3	0,0-0,5 0,5	0,0-0,5 0,5
8,1'-O-aAdo <sup>b</sup>	Расчет	N-нери S-нери N-ано	-	38±1	155±3	155±3	-	-	5,3-5,5	4,0	8,4-9,3	4,0	8,4-9,3	4,0
			-	33±7	93±4	93±4	-	-	5,1-7,1 5,4-5,6	-	5,1-7,1 5,4-5,6	-	0,0-0,3 8,8-9,0	-
6,1'-O-aCyt <sup>b</sup>	» РСА	N-нери S-нери N-ано	-	34±1	154±6	154±6	-	-	5,9-6,1	5,3	7,1-9,4	5,3	7,1-9,4	5,3
			-	37±3	96±6	96±6	-	-	5,1-6,0 6,2-6,4 6,4	-	5,1-6,0 6,2-6,4 6,4	-	0,0-0,6 9,2-9,4 8,7	-

\* Рассчитаны по уравнению (3).

\*\* Экспериментальные значения КССВ для 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> взяты из работы [12]. Для остальных производных — получены в данной работе.

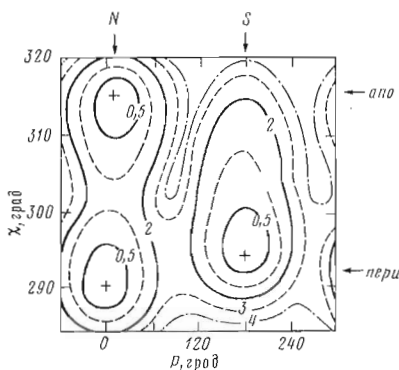


Рис. 8

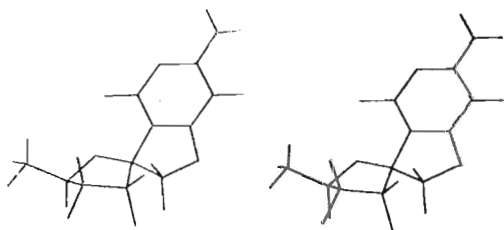


Рис. 9

Рис. 8. Зависимость потенциальной энергии от фазового угла псевдовращения и гликозидного угла для *транс*-конформера  $8,1'-O-aAdo^B$

Рис. 9. Рассчитанная структура *N*-апо-*транс*-конформера  $8,1'-O-aCyt^B$

$C(2')$ -атом выведен из плоскости остальных на  $\sim 0,37 \text{ \AA}$ , то для  $8,2'-O-aAdo^a$  — лишь на  $\sim 0,30 \text{ \AA}$ .

Вновь проявляется отмеченное выше отличие *gosh*<sup>+</sup>-конформеров от *транс*- и *gosh*<sup>-</sup>, которое, так же как и в случае  $8,2'-S-aAdo^a$ , резко выражено для *S*-популяции.

Как видно из рис. 6, конформационная жесткость и барьеры межсеме-йственных переходов мало зависят от замены атома серы на кислород.

В противоположность конформационно гомогенным ангидронуклеозидам для обсуждаемых соединений рассчитанные структуры резко отличаются от кристаллических. Первое, что бросается в глаза, — это почти плоская конформация ангидроцикла РСА-структур. Как уже указывалось, плоская конформация должна наблюдаться при  $\chi \sim 180^\circ$  и  $P$ , близком либо к  $54^\circ$ , либо к  $234^\circ$ . Действительно, в РСА-структурах  $8,2'-S-aAdo^a$  и  $8,2'-O-aAdo^a$  гликозидный угол равен  $186$  и  $179^\circ$ , а фазовый угол псевдовращения —  $233$  и  $218^\circ$ . Таким образом, кристаллические структуры по своей геометрии занимают как бы промежуточное положение между двумя рассчитанными семействами.

Столь резкое различие между рассчитанными и кристаллическими структурами  $8,2'$ -ангидронуклеозидов может быть обусловлено двумя причинами: неприменимостью использованного метода для расчета конформационно гетерогенных ангидронуклеозидов и искажением структуры силами кристаллической упаковки.

Вообще говоря, уже проведенное выше обсуждение достаточно убедительно свидетельствует в пользу второй причины. В частности, как видно из рис. 6, точки, соответствующие данным РСА, расположены практически на одной вертикальной линии как в случае  $8,2'-S-aAdo^a$ , так и в случае  $8,2'-O-aAdo^a$ . Данный факт указывает на то, что использованный метод расчета правильно передает изменение энергии вдоль координаты конформации. Однако окончательный выбор можно сделать лишь сравнением с экспериментальными данными для раствора.

В табл. 4 представлены КССВ, вычисленные для усредненной геометрии двух семейств и кристаллических структур в сравнении с экспериментально измеренными. Данные РСА как  $8,2'-S-aAdo^a$ , так и  $8,2'-O-aAdo^a$  находятся в явном противоречии с экспериментом для раствора. Ожидаемые значения всех КССВ отличаются от экспериментальных на  $2-3,5$  Гц. С другой стороны, рассчитанные структуры хорошо описывают конформационное поведение  $8,2'$ -ангидронуклеозидов в предположении равновесия *N*-*пери*- и *S*-апо-состояний с преобладанием последнего. Относительный вес *S*-апо-популяции увеличивается от  $\sim 0,7$  до  $\sim 0,9$  при переходе от  $8,2'-S-aAdo^a$  к  $8,2'-O-aAdo^a$ .

И в этом случае рассчитанные по уравнению (3) КССВ между цисоидными протонами ( $J_1$ ) несколько выше экспериментальных, однако разли-

Расстояния и энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий между атомами *транс*-конформеров 8,1'-O-aAdo<sup>P</sup> и 6,1'-O-aCyt<sup>P</sup>  
Подчеркнуты тесные контакты

Пары атомов	Расстояние между атомами, Å (ΔE, ккал/моль)			
	8,1'-O-aAdo <sup>P</sup>			
	<i>N-перу</i>	<i>N-ано</i>	<i>S-перу</i>	<i>S-ано</i> *
N(3) [O(2)], C(6')	3,62(0,02)	4,44(0,02)	3,86(0,0)	4,24(0,01)
N(3) [O(2)], C(3')	3,80(0,0)	3,54(0,03)	3,64(0,02)	2,91(1,08)
N(3) [O(2)], H(3')	3,79(0,03)	3,19(0,0)	3,06(0,01)	2,56(0,54)
O(3'), H(1')	2,40(0,25)	2,51(0,0)	2,49(0,02)	2,40(0,25)
O(3'), C(1')	3,91(0,0)	4,21(0,01)	3,39(0,01)	3,59(0,01)
Пары атомов	Расстояние между атомами, Å (ΔE, ккал/моль)			
	6,1'-O-aCyt <sup>P</sup>			
	<i>N-перу</i>	<i>N-ано</i>	<i>S-перу</i>	<i>S-ано</i> *
N(3) [O(2)], C(6')	3,78(0,0)	4,38(0,02)	3,38(0,01)	3,55(0,01)
N(3) [O(2)], C(3')	3,31(0,0)	2,97(0,35)	3,22(0,06)	2,54(3,75)
N(3) [O(2)], H(3')	3,23(0,0)	2,54(0,2)	2,62(0,1)	2,08(5,01)
O(3'), H(1')	2,31(0,6)	2,40(0,25)	2,48(0,0)	2,40(0,25)
O(3'), C(1')	3,59(0,01)	4,11(0,01)	3,28(0,03)	3,92(0,0)

\* Поскольку этому конформеру не соответствует локальный минимум потенциальной энергии, конформация рассчитана с закрепленными углами  $\chi(\sim 315^\circ)$  и  $P(\sim 180^\circ)$ .

чие заметно меньше, чем в случае конформационно гомогенных ангидропуклеозидов, что, вероятно, связано с высокой конформационной подвижностью сахарного кольца 8,2'-ангидропуклеозидов.

На то, что 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> в растворе представляет собой равновесную смесь конформеров, указывает заметная температурная зависимость КССВ углеводного цикла 3'-фосфата 8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> [15]. При повышении температуры от 22 до 70°С  $J_2$  и  $J_3$  уменьшаются от 2,8 до 2,5 и от 4,1 до 3,5 Гц соответственно, при этом  $J_1$  практически не меняется. Такое поведение величин КССВ хорошо объясняется в предлагаемой модели. Отсутствие температурной зависимости  $J_1$  связано с тем, что эта константа мало различается у обоих состояний. В то же время уменьшение  $J_2$  и  $J_3$  указывает на увеличение относительного вклада *S-перу*-состояния с повышением температуры.

8,1'-O-aAdo<sup>P</sup> и 6,1'-O-aCyt<sup>P</sup>. Максимальными конформационными возможностями из рассмотренных ангидропуклеозидов обладает 8,1'-O-aAdo<sup>P</sup>. Поскольку это соединение представляет собой спираповую систему, псевдовращение углеводного цикла не связано непосредственно с инверсией ангидроцикла и можно было бы ожидать реализации всех четырех конформационных семейств — *N-ано*, *N-перу*, *S-ано* и *S-перу* (всего 12 конформеров). Однако расчеты показывают (табл. 3), что пространственно разрешены лишь три семейства. Область потенциальной поверхности, соответствующая *S-ано*-семейству, не обнаруживает локального минимума, но представляет собой пологий склон, ведущий к *S-перу*-семейству (рис. 8). Это связано с тесными контактами между N(3)-атомом аденина и H(3')- и C(3')-атомами углеводного цикла, которые возникают именно в *S-ано*-семействе (табл. 5).



Конформация углеводного цикла в *N-перу*-семействе представляет собой почти чистый твист  ${}^4T_3$  (вновь исключение составляет *gosh*<sup>+</sup>-конформер, для которого *P* больше на  $\sim 15^\circ$ ). В *N-ано*-семействе *P* несколько больше и конформация сахара ближе к  ${}^4E$ . В *S-перу*-семействе сахар находится в  ${}^3T_4$ -конформации (для *gosh*<sup>+</sup>-конформера — в  ${}^3E$ ). Конформация ангидроцикла представляет собой конверт, в котором атом C(1') выведен из плоскости четырех остальных на  $\pm 0,3$  Å. Гликозидный угол меняется от  $\sim 290$  в *перу*- до  $\sim 315^\circ$  в *ано*-семействах. Поскольку гликозидная связь входит в ангидроцикл, величина гликозидного угла зависит от степени искажения ангидроцикла. Нетрудно видеть, что в идеализированной модели эта зависимость имеет вид

$$q = 1,5 \sin 72 \sin (\chi - 306), \quad (6)$$

где *q* — расстояние C(1') от плоскости, образованной четырьмя остальными атомами. На рис. 9 приведена структура *N-ано-gosh*<sup>+</sup>-конформера 8,1'-O-aAdo<sup>p</sup>.

К сожалению, в настоящее время данные РСА 8,1'-O-aAdo<sup>p</sup> отсутствуют. В связи с этим мы предприняли расчет 6,1'-O-aCyt<sup>p</sup>, РСА-структура которого скоро будет опубликована \*. Как видно из табл. 3, замена аденина на цитозин вызывает принципиальные изменения геометрии ангидро-нуклеозида. В *S-перу*-семействе практически не меняется ни конформация сахара, ни конформация ангидроцикла. В *N*-семействах 6,1'-O-aCyt<sup>p</sup> фазовый угол псевдодвращения несколько увеличен по сравнению с 8,1'-O-aAdo, так что конформация углеводного цикла становится близкой к  ${}^4T_3$ . Одновременно несколько увеличиваются неплоские искажения ангидроцикла (атом C(1') выведен из плоскости на 0,35 Å в *N-перу*- и на 0,42 Å в *N-ано*-семействе).

Так же как и в случае 8,2'-ангидронуклеозидов, РСА-структура 6,1'-O-aCyt<sup>p</sup> резко отличается от рассчитанных. Интересно, что сохраняется и характер этих отличий. Ангидроцикл кристаллической структуры сильно уплощен (C(1')-*ано*-конверт; атом C(1') выведен из плоскости на 0,13 Å). Как следствие этого (см. ур-ние (6)), гликозидный угол близок к  $306^\circ$ . Однако, поскольку конформации двух пятичленных циклов не взаимосвязаны, сахар находится в обычной *N*-конформации (близка к  ${}^4E$ ). Таким образом, мы имеем дело с искаженным *N-ано-транс*-конформером.

К сожалению, возможности сравнения с раствором весьма ограничены. Отсутствие в молекуле H(1') уменьшает число КССВ углеводного цикла. Тем не менее (табл. 4) геометрия кристаллической структуры находится в явном противоречии с данными ЯМР, в то время как рассчитанные структуры удовлетворительно описывают экспериментальные данные в предположении равновесия конформационных семейств.

Поскольку  $J_2$  практически не зависит от положения конформационного равновесия, соотношение популяций можно оценить лишь по величине  $J_3$ . Из данных табл. 4 видно, что в случае 8,1'-O-aAdo<sup>p</sup> несколько преобладает *S*-популяция, а в случае 6,1'-O-aCyt<sup>p</sup> — *N*-популяция, причем соотношение популяций близко к наблюдаемому для природных пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов.

Однако экспериментальных данных недостаточно, чтобы ответить на два важных вопроса: участвуют ли в равновесии оба семейства, обладающие *N*-конформацией углеводного цикла, и реализуется ли в растворе *S-ано*-семейство, для которого в соответствии с нашими расчетами отсутствует локальный минимум на потенциальной поверхности.

### Заключение

Проведенное исследование позволяет дать предварительные ответы на вопросы, поставленные во Введении.

1. По конформационным свойствам ангидронуклеозиды можно подразделить на два типа — конформационно гомогенные и конформационно

\* См. ближайшие номера журнала «Докл. АН СССР».

гетерогенные. Первые существуют в растворе в виде одного конформера или единственного конформационного семейства. Характерной особенностью строения таких соединений является *мостиковая* бициклическая система, содержащая шести- или семичленный ангидроцикл (8,5'-, 8,5'-X- и 8,3'-X-ангидропроизводные пуриновых, 6,5'-X-, 2,5'-X-, 6,3'-X- и 2,3'-X-ангидропроизводные пиримидиновых нуклеозидов, здесь X=O, S, NH). Теоретически можно представить себе и систему этого типа, состоящую из двух пятичленных циклов, например 8,3'-ангидроаденозин, но соединения подобного рода пока не синтезированы.

Ангидронуклеозиды второго типа существуют в растворе в виде равновесной смеси двух или более конформационных семейств. Поведение таких соединений определяется наличием *конденсированной* или *спирановой* бициклической системы. Практически все полученные до настоящего времени ангидронуклеозиды этого типа содержат два пятичленных цикла, однако увеличение размеров ангидроцикла до шести- или семичленного не должно принципиально менять конформационные свойства. Такие соединения, будь они синтезированы, представляли бы безусловный интерес для физикохимических и биологических исследований.

2. РСА-структуры конформационно гомогенных ангидронуклеозидов практически одинаковы с рассчитанными и с реализующимися в растворе. Тут все более или менее ясно и остается выяснить лишь непринципиальный вопрос: чем же вызваны небольшие несоответствия — искажением структуры силами кристаллической упаковки или же погрешностями модели, описывающей эксперимент в растворе?

Но однозначность исчезает, как только мы переходим к рассмотрению конформационно гетерогенных ангидронуклеозидов. Дело в том, что рассчитанные и РСА-структуры этих соединений резко различаются. Рассчитанные структуры характеризуются либо С(2')-*эндо*-, либо С(3')-*эндо*-конформацией сахара и С(2')-конвертом ангидроцикла (соответственно *peri* или *apo*). В противоположность этому в кристаллах встречаются структуры с С(4')-*эндо*- или С(4')-*экзо*-конформацией сахара и, как следствие (см. соотношения (5) в тексте), с практически плоским ангидроциклом.

Обе модели, и С(2')-*эндо*-С(3')-*эндо*, и С(4')-*эндо*-С(4')-*экзо*, в принципе могут быть использованы для интерпретации эксперимента в растворе. Сторонники второй модели (см., например, [5]) ссылаются на тот в общем-то убедительный факт, что все известные в настоящее время кристаллические структуры ангидронуклеозидов, содержащих два конденсированных пятичленного, относятся либо к С(4')-*эндо*-, либо к С(4')-*экзо*-семейству. Кроме обсуждавшихся в тексте приведем другие примеры: 2,2'-ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)-6-окси-5 - цитозинилдиметилсульфонийхлорид и 2,2'-ангидро-1-(3,5-О-диацетил-β-D-арабинофуранозил)-5-хлорцитозин [16], 2,2'-ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)-2-оксипиридон-4 [17], 2,2'-ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)урацил [18], 6,2'-ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)-6-оксицитозин [19]. Действительно, внушительный ряд.

Сторонники первой модели (см., например, [20]), к которым относим себя и мы, указывают на плохое соответствие данных РСА эксперименту в растворе. Рассчитанные для кристаллических структур КССВ протонов заметно отличаются от экспериментально наблюдаемых, особенно  $J_1$ , которая очень удобна для проверки адекватности модели, поскольку ее величина практически не зависит от положения конформационного равновесия. Вполне естественно, что нам хотелось бы верить, что приведенные в тексте аргументы убедительно свидетельствуют в пользу С(2')-*эндо*-С(3')-*эндо*-модели. Тем не менее мы прекрасно понимаем, что вопрос о конформационной ситуации в растворе гетерогенных ангидронуклеозидов еще ждет окончательного ответа. Хотелось бы привести в заключение один факт, который не следует рассматривать как аргумент, но лишь как «информацию к размышлению». В кристалле 2',3'-циклофосфата цитидина, соединения по стереохимической сущности очень близкого к обсуждаемому, поскольку оно также содержит бициклическую систему из двух конденсированных пятичленных, находятся две молекулы на асимметрическую ячейку [24].

Одна из этих молекул имеет практически плоский рибозный цикл. Однако вряд ли кто-нибудь станет утверждать, что такая структура реализуется в растворе.

3. Осталось рассмотреть вопрос относительно применимости уравнения Карплуса к ангидронуклеозидам. Судя по результатам данной работы, общепринятое в стереохимии нуклеозидов уравнение Карплуса удовлетворительно описывает все КССВ, кроме КССВ между цисоидными протонами углеводного цикла. В последнем случае рассчитанные величины КССВ всегда больше экспериментально измеренных, причем эта разница уменьшается при переходе от соединений, содержащих жесткий углеводный цикл, к соединениям с конформационно подвижным сахаром, от кислородсодержащих к серосодержащим и от пиримидиновых к пуриновым ангидронуклеозидам. В случае конформационно гомогенных ангидронуклеозидов хороший результат дает расчет КССВ между цисоидными протонами по уравнению (4).

### Экспериментальная часть

Конформационный расчет проведен в приближении «жестких» длин связей. Варьировали торсионные и валентные углы углеводного и ангидроцикла. Двугранный угол  $C(1')-N(9)-C(8)-X(\omega_3)$  полагали равным нулю. Использовали геометрию нуклеиновых оснований и длины связей, предложенные Арноттом [22]. При расчете замыкания сахарного и ангидроциклов применяли алгоритм, аналогичный описанному Луговским и Дашевским [23]. Потенциальные функции, необходимые для расчета вандер-ваальсовых взаимодействий и искажения валентных углов, описаны нами ранее [24, 25].

Авторы искренне благодарят Г. В. Гурскую за любезно предоставленные координаты РСА-структуры 6,1'-O-aCyt<sup>p</sup>, М. Ю. Покровскую за помощь при съемке спектров ЯМР и Ц. И. Левич за ряд ценных критических замечаний.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Haromy T. P., Releigh J., Sundaralingam M. *Biochemistry*, 1980, v. 19, № 8, p. 1718-1722.
2. Birnbaum G. I., Cygler M., Dudycz L., Stolarski R., Shugar D. *Biochemistry*, 1981, v. 20, № 11, p. 3294-3301.
3. Yoneda M., Tanaka K., Fujiwara T., Tomita K.-I. *Acta cryst.*, 1979, B35, № 10, p. 2355-2358.
4. Tomita K., Nishida T., Fujiwara T., Ikehara M. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1970, v. 41, № 4, p. 1043-1047.
5. Tanaka K., Fujii S., Fujiwara T., Tomita K.-I. *Acta cryst.*, 1979, B35, № 4, p. 929-933.
6. Neidle S., Taylor G. L., Cowling P. C. *Acta cryst.*, 1979, B35, № 3, p. 708-712.
7. Allona C., Sundaralingam M. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1972, v. 94, № 23, p. 8205-8212.
8. Полозов П. В. Метод полуэмпирического силового поля в конформационном анализе биополимеров. М.: Наука, 1981.
9. Lee C.-H., Tinoco I. *Biochemistry*, 1977, v. 16, № 25, p. 5403-5414.
10. Davies D. B. *Progress in NMR Spectroscopy*, 1978, v. 12, № 1, p. 135-225.
11. Dudycz L., Stolarski R., Pless R., Shugar D. *Z. Naturforsch.*, 1979, B. 34c, № 2, S. 359-373.
12. Ikehara M., Ogiso Y., Morii T. *Tetrahedron*, 1976, v. 32, № 1, p. 43-49.
13. Manor P. C., Saenger W., Davies D. B., Jankowski K., Rabcszenko A. *Biochim. et biophys. acta*, 1974, v. 340, № 4, p. 472-483.
14. Jaworski A., Ekiel I., Shugar D. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1978, v. 100, № 14, p. 4357-4361.
15. Dhingra M. M., Sarma R.-H., Uesugi S., Ikehara M. *Biochemistry*, 1981, v. 20, № 17, p. 5002-5001.
16. Yamagata Y., Koshibe M., Tokuoka R., Fujii T., Kanai T., Tomita K. *Acta cryst.*, 1979, B35, № 2, p. 382-389.
17. Hutcheon W. L. B., James M. N. G. *Acta cryst.*, 1977, B33, № 11, p. 2228-2232.
18. Suck D., Saenger W. *Acta cryst.*, 1973, B29, № 6, p. 1323-1330.
19. Yamagata Y., Fujii S., Kanai T., Ogawa K., Tomita K. *Acta cryst.*, 1979, B35, № 2, p. 378-382.
20. Dhingra M. M., Sarma R.-H., Uesugi S., Ikehara M. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1978, v. 100, № 21, p. 4669-4673.
21. Coulter C. L. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1973, v. 95, № 3, p. 570-575.

22. *Arnott S., Smith P. J. C., Chandrasekaran R.* In: Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, Nucleic Acids/Ed. Fasman G. D. Cleveland: CRC Press, 1976, v. 11, p. 411-422.
23. *Луговской А. А., Дашевский В. Г.* Молекулярн. биология, 1972, т. 6, № 3, с. 440-448.
24. *Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л.* Молекулярн. биология, 1980, т. 14, № 5, с. 1116-1130.
25. *Zhurkin V. B., Lysov Yu. P., Ivanov V. I., Florentiev V. L.* Nucl. Acids Res., 1982, v. 10, № 5, p. 1811-1830.

Поступила в редакцию  
6.V.1982

## CONFORMATIONAL PROPERTIES OF ANHYDRONUCLEOSIDES

LYSOV Yu. P., ZAVGORODNY S. G., ZHURKIN V. B., FLORENTIEV V. L.

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

Possible conformers of anhydronucleosides, containing five-, six- and seven-membered anhydrocycle, and their fluctuations were computed by force-field method. These compounds may be divided into two types by their conformational properties. The first group embraces those which exist either as a sole conformer, or a conformational family whose members share a similar sugar and anhydrocycle geometry but differ in the C(4')-C(5')-bond conformation. These are 8,5'-aAdo, 8,5'-(R-OH)aAdo, 8,5'-(S-OH)-aAdo, 8,5'-S-aAdo, 8,3'-S-aAdo<sup>x</sup>, and 8,3'-O-aAdo<sup>x</sup>. Anhydronucleosides of the second group are an equilibrium mixture of two (8,2'-S-aAdo<sup>a</sup> and 8,2'-O-aAdo<sup>a</sup>) or even three (8,1'-O-aAdo<sup>p</sup> and 6,1'-O-aCyt<sup>p</sup>) conformational families. Conformational analysis allows to describe the behaviour of anhydronucleosides in solution most adequately as shows comparison with the X-ray and NMR data.