

## КОНФОРМАЦІЙНА ЄМНІСТЬ 2',3'-ДИДЕГІДРО-2',3'-ДИДЕЗОКСІАДЕНОЗИНУ ЯК КЛЮЧ ДО РОЗУМІННЯ ЙОГО БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ: РЕЗУЛЬТАТИ КВАНТОВО-ХІМІЧНОГО МОДЕЛЮВАННЯ

А. Г. ПОНОМАРЬОВА<sup>1</sup>, Є. П. ЮРЕНКО<sup>1</sup>, Р. О. ЖУРАКІВСЬКИЙ<sup>1</sup>, Д. М. ГОВОРУН<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ;

<sup>2</sup>Інститут високих технологій, Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка, Україна;  
e-mail: yevgen.yurenko@gmail.com

На рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p) вперше проведено вичерпний конформаційний аналіз біологічно активного нуклеозиду 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксіаденозину (d4A). Представлено основні геометричні, енергетичні та полярні характеристики 21 конформера d4A, а також основні конформаційні рівноваги за нормальних умов. Методом аналізу топології електронної густини встановлено, що молекула d4A стабілізується вісьмома типами внутрішньомолекулярних взаємодій: O5'H...N3, O5'H...C8, C8H...O5', C2'H...N3, C5'H1...N3, C5'H2...N3 та C8H...H1/2C5'. Результати конформаційного аналізу дозволяють припустити, що біологічна активність d4A, швидше за все, полягає в тому, що він є термінатором синтезу полінуклеотидного ланцюга у напрямку 5'-3', конкуруючи з канонічним 2'-дезоксіаденозином за зв'язування з активним центром відповідних ензимів.

**Ключові слова:** 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксіаденозин, конформаційний аналіз, квантово-хімічні розрахунки, водневі зв'язки, біологічна активність.

Із розвитком обчислювальної техніки та удосконаленням методів молекулярного дизайну лікарських препаратів дедалі актуальнішою стає проблема пошуку *in silico* нових, ефективніших інгібіторів ВІЛ-І зворотньої транскриптази (ЗТ) — ензиму, який транскрибує одноланцюгову молекулу РНК вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) у двоспиральну ДНК. Крім практичного значення, ця задача є важливою і для фундаментальної біології, оскільки дослідження природи і характеру взаємодій різних інгібіторів з активними центрами ензимів збагачує існуючі знання про мікроструктурні фізико-хімічні механізми протеїново-нуклеїнового впізнавання на нанорозмірному рівні. У науковій літературі описано чимало типів сполук, що інгібують ЗТ ([1–3]), серед яких на сьогоднішній день найбільш широко використовуються аналоги нуклеозидів [3].

Конформаційні властивості модифікованих нуклеозидів відіграють ключову роль у їхньому зв'язуванні з активними центрами ензимів-мішеней [4]. На шляху до клітини, нуклеозидний препарат має пройти декілька стадій біомолекулярного впізнавання, взаємодіючи з протеїнами-рецепторами, транспортерами, фосфорилуючись кіназами

та/або 5'-нуклеотидазами і у формі трифосфату провзаємодіяти з активним центром ензиму-мішені [5, 6]. Загалом, нуклеозидні аналоги конкурують з канонічними нуклеозидами за зв'язувальні сайти ензимів [3]. На кожній з вищезгаданих стадій вони набувають унікальної тривимірної молекулярної структури (конформації), яка *a priori* не відома [4]. Знання конформаційної “ємності” (повного набору конформерів) є запорукою успішного дизайну біологічно активних препаратів. Першим кроком на цьому шляху є повний конформаційний аналіз, який дозволяє, зокрема, ідентифікувати глобальний та локальні мінімуми на гіперповерхні потенціальної енергії молекули.

Ця робота присвячена конформаційному аналізу 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксіаденозину (d4A) — модифікованого за цукровим залишком аналогу канонічного 2'-дезоксіаденозину. Характерною ознакою цієї сполуки є наявність подвійного зв'язку C2' = C3', завдяки якому гнучке піримідинове кільце стає конформаційно жорсткішим. Відомо, що d4A та його похідні проявляють активність не лише у відношенні ВІЛ-І [7], але і вірусів імунодефіциту африканської зеленої мавпи та гепатиту В [8]. Дані рентгеноструктурно-

го аналізу [9] засвідчили, що в елементарній кристалічній комірниці d4A міститься лише один конформер, який, не є ДНК-подібним і, ймовірно, не належить до біологічно активних. Тому теоретичне дослідження конформаційних можливостей цієї сполуки є безальтернативним підходом для встановлення її конформаційної ємності.

Головна мета роботи – знайти повне конформаційне сімейство d4A та дослідити природу внутрішньомолекулярних взаємодій, які стабілізують всі його можливі конформери. Ця інформація дозволить відібрати потенційно активні структури, що будуть в подальшому використовуватися у разі молекулярно-динамічного моделювання докінгу в системах ензим-субстрат та окреслити можливі механізми біологічної дії цієї сполуки.

### Матеріали і методи

Просторова будова молекули d4A, нумерація її атомів та позначення торсійних кутів [10] зображені на рис. 1.

Для вивчення конформаційної ємності d4A використано теорію функціоналу густини (DFT) із застосуванням гібридного обмінно-кореляційного функціоналу електронної густини в узагальненому градієнтному наближенні B3LYP. Оптимізацію геометрії здійснювали з використанням набору базисних функцій 6-31G(d,p). Усі оптимізовані конформери перевірено на стійкість за

відсутністю уявних частот в їхніх коливальних спектрах, які одержані на згаданому рівні теорії у гармонічному наближенні. Розрахунок електронних енергій в одній точці проводили у наближенні теорії збурень Меллера-Плессета другого порядку MP2, який краще, ніж DFT, враховує ефекти електронної кореляції з базисом 6-311++G(d,p). Значення відносної вільної енергії Гіббса  $\Delta G$  для конформерів визначали як суму електронної енергії на рівні MP2 та поправки на рівні B3LYP, яка включає енергію нульових коливань, а також термічний та ентропійний внески. Для одержання повного конформаційного сімейства d4A ми оптимізували 36 стартових структур, які згенерували шляхом перебору трьох діапазонів значень для конформаційних змінних  $\gamma$  та  $\beta$ , що дозволяють побудувати незатінені структури, а також чотирьох діапазонів (syn, anti, high-syn, high-anti) для змінної  $\chi$ .

Н-зв'язки ідентифікували методом квантово-механічного аналізу топології електронної густини за Бейдером [11], використовуючи програмний пакет AIMAll [12]. Хвильові функції розраховано на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p), що відповідає рівноважним геометріям конформерів. Наявність критичної точки (3,-1) між воднем і атомом-акцептором Н-зв'язку та позитивний знак лапласіана електронної густини вважали необхідними умовами наявності Н-зв'язку. Крім того, усі контакти-кандидати на Н-зв'язок

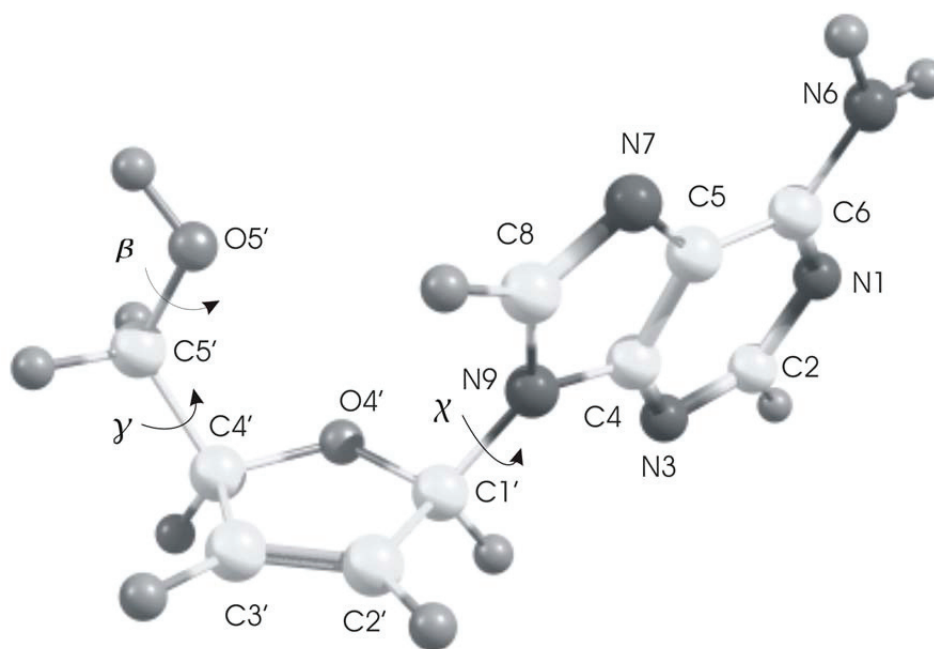


Рис. 1. Просторова будова, нумерація атомів та номенклатура торсійних кутів d4A

перевіряли за геометричними та додатковими електронно-топологічними критеріями.

Енергію класичного (O5'N...N3) Н-зв'язку оцінювали за емпіричною формулою Йогансена [13]:

$$-\Delta H_{freq} = 0,33(\Delta\nu - 40)^{1/2}, \quad (1)$$

де  $-\Delta H$  – енергія Н-зв'язку в ккал/моль,  $\Delta\nu$  – зсув частоти (в  $\text{см}^{-1}$ ) валентного коливання  $\nu(\text{OH})$  у червону область за наявності Н-зв'язку. У цьому разі використано процедуру адресного дейтерування, що дозволило чітко відокремити бажані моди в ІЧ-спектрі. Для порівняння брали структурно найближчі конформери без відповідного Н-зв'язку.

Інший метод Еспінози-Молінса-Леконта (ЕМЛ) [14] дозволив нам оцінити енергію усіх Н-зв'язків на основі розподілу електронної густини в його критичній точці (3,-1) за формулою:

$$E_{\text{НВ}} = 0,5V(r), \quad (2)$$

де  $V(r)$  – значення локальної потенціальної енергії у критичній точці (3,-1).

Усі квантово-механічні розрахунки проведено з використанням програмного пакету «GAUSSIAN03» для платформи Win32.

### Результати та обговорення

*Енергетичні та конформаційні характеристики d4A.* Уперше встановлено, що ізольований d4A має 21 конформер (табл. 1), що займають діапазон відносних енергій Гіббса 0–5,16 ккал/моль за нормальних умов. Це досить невелике сімейство у порівнянні з канонічними 2'-дезоксі- [15, 16] і рибонуклеозидами [17] та їхніми аналогами, модифікованими за нуклеотидною основою [18]. Для порівняння зазначимо, що, приміром, канонічний 2'-дезоксіаденозин (dA) має 88 стійких конформерів [16]. Пояснити цей факт можна тим, що саме цукровий залишок ДНК чи РНК є основним джерелом структурної лабільності складових нуклеїнових кислот. У d4A доволі жорсткий залишок 2,5-дигідрофурану набуває практично пласкої конфігурації, що узгоджується з даними рентгеноструктурного аналізу [19]. Розрахунки показали, що значення максимальної амплітуди вигину цукрового кільця  $\nu_{\text{max}}$  для конформерів d4A лежать у межах  $0,3^{\circ}$ – $9,1^{\circ}$ . Зазначимо, що за даними рентгеноструктурного аналізу [10], середні значення  $\nu_{\text{max}}$  цукрових залишків ДНК та РНК набагато вищі і дорівнюють  $35,2^{\circ}$  та  $37,1^{\circ}$  відповідно.

Syn-орієнтація нуклеотидної основи відносно цукру зафіксована у 6 конформерах ( $55,3^{\circ} \leq \chi_{\text{syn}} \leq 68,8^{\circ}$ ), 6 конформерів мають anti-орієнтацію ( $-178,2^{\circ}; 167,9^{\circ} \leq \chi_{\text{anti}} \leq 178,5^{\circ}$ ), а 9 конформерів мають high-anti-орієнтацію ( $-134,2^{\circ} \leq \chi_{\text{anti}} \leq -103,1^{\circ}$ ) (рис. 2). Тобто у d4A, на відміну від dA, проявляється чітка тенденція до high-anti – орієнтації основи відносно цукру. Крім того, у цукровому залишку реалізуються всі 9 можливих комбінацій кутів  $\gamma$  та  $\beta$ .

Розподіл значень торсійних кутів  $\gamma$  (рис. 2) для всіх можливих конформерів d4A – тримодальний. У цьому разі вони займають три доволі вузькі сектори:  $g^+$  ( $35,4^{\circ} \leq \gamma_{g^+} \leq 62,5^{\circ}$ ) (5 конформерів),  $t$  ( $169,3^{\circ} \leq \gamma_t \leq 179,7^{\circ}; -179,5^{\circ} \leq \gamma_t \leq -170,4^{\circ}$ ) (7 конформерів) і  $g^-$  ( $-69,5^{\circ} \leq \gamma_{g^-} \leq -65,3^{\circ}$ ) (9 конформерів).

Тримодальний розподіл також має місце і для кута  $\beta$  (рис. 2), який займає ті ж самі сектори  $g^+$ ,  $t$  і  $g^-$ :  $g^+$  ( $54,4^{\circ} \leq \beta_{g^+} \leq 90,0^{\circ}$ ) (9 конформерів),  $t$  ( $163,3^{\circ} \leq \beta_t \leq 177,9^{\circ}; -177,2^{\circ} \leq \beta_t \leq -167,2^{\circ}$ ) (6 конформерів) і  $g^-$  ( $-74,7^{\circ} \leq \beta_{g^-} \leq -54,1^{\circ}$ ) (6 конформерів).

Вивчення структурних особливостей всіх можливих конформерів d4A, показало конформаційну мінливість структурних параметрів, а саме: довжину хімічних зв'язків, величину валентних і торсійних кутів, що описують неплосинність гетероциклу основи та вихід глікозидного зв'язку із її середньої площини.

Гетероцикл нуклеотидної основи у складі нуклеозиду  $\epsilon$ , строго кажучи, непласким – ми не зафіксували жодного із 21 конформера, в якому б основа мала плаский гетероцикл, хоча у конформації із найпласкішим гетероциклом внутрішньоциклової торсійні кути не перевищують  $0,5^{\circ}$  (нагадаємо для порівняння, що ізольований аденін є плоско-симетричною молекулою з пласким гетероциклом). Найнепланарнішим є гетероцикл у конформері **5**: у ньому максимальне значення –  $1,5^{\circ}$  спостерігається для кута N7C8N9C4.

Іншою структурною особливістю конформерів d4A є відносно невеликий вихід глікозидного зв'язку C1'N9 із середньої площини імідазольного кільця основи. Середньою площиною кільця вважається така, яка проведена через його атоми таким чином, щоб забезпечити мінімальне значення суми квадратів відстаней від них до цієї площини. Згідно одержаним результатам кут виходу зв'язку C1'N9 із площини імідазольного кільця основи змінюється від  $0,3^{\circ}$  до  $3,9^{\circ}$ .

Також ми встановили, що модуль кута між екзоциклічним зв'язком C6N6 амінного фраг-

Таблиця 1. Енергетичні, структурні та полярні характеристики всіх конформерів d4A, одержані на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p)

Конформер	$\Delta G_{298,15}$	D	P	$v_{\max}$	$\chi$	$\gamma$	$\beta$	$\tau_{\max}$	$\tau_1$
1	0,00	3,34	100,4	7,7	55,3	35,4	54,5	0,8	0,5
2	1,77	2,54	57,6	3,3	-106,1	62,5	62,9	-0,6	1,6
3	2,14	3,43	180,0	1,5	68,8	175,5	-59,4	0,9	3,1
4	2,15	3,06	63,7	0,5	-103,6	174,5	-54,1	0,6	3,0
5	2,49	4,72	64,6	1,7	-120,8	45,5	163,3	-0,6	1,1
6	2,78	2,08	88,4	2,0	167,9	49,6	56,2	-1,5	3,9
7	3,03	3,60	73,2	2,8	-104,4	-66,1	-177,2	0,6	3,0
8	3,23	1,25	158,7	1,1	67,4	-69,5	168,7	0,9	1,2
9	3,45	4,16	126,5	2,4	-134,2	50,9	-60,3	-0,7	0,2
10	3,60	2,67	78,3	2,9	-104,6	-65,3	-74,7	0,6	3,1
11	3,63	2,58	268,9	2,3	175,5	-67,7	177,9	-0,9	2,9
12	3,99	2,78	165,1	1,2	66,8	-67,7	-73,5	0,9	1,2
13	4,10	2,24	221,5	1,4	68,8	-66,0	90,0	1,0	1,5
14	4,17	2,96	264,4	9,1	178,5	178,6	-176,2	-0,7	2,3
15	4,24	2,87	266,4	1,7	176,7	-66,5	-74,2	-0,8	2,8
16	4,38	4,46	60,5	1,6	-105,3	-170,4	-167,2	0,7	3,3
17	4,65	3,44	79,4	2,4	-105,6	-67,9	80,4	0,6	3,0
18	4,71	3,40	262,5	8,5	-178,2	169,3	57,3	-0,5	2,0
19	4,83	0,98	264,4	3,7	173,8	-67,6	81,5	-1,0	3,5
20	5,14	4,10	88,4	4,2	-108,8	179,7	60,1	0,7	2,7
21	5,17	3,17	222,8	1,7	68,5	-179,4	62,8	1,1	2,0

Примітка. Позначення кутів P,  $v_{\max}$ ,  $\chi$ ,  $\gamma$  і  $\beta$  – стандартні [10], їхні величини наведено у градусах;  $\Delta G_{298,15}$  – відносна вільна енергія Гіббса (25 °C), ккал/моль; D – дипольний момент, дебаї;  $\tau_{\max}$  – максимальне значення серед усіх торсійних кутів усередині пуринового кільця;  $\tau_1$  – кут між глікозидним зв'язком C1'N9 та площиною імідазольного кільця основи, градуси. Структурні характеристики одержано на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p), а енергетичні – на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p). Конформації пронумеровано в порядку зростання їхньої відносної енергії

мента та площиною шестичленного кільця основи змінюється в межах від 0,7° до 1,6°. Крім того значення кутів між зв'язком C6N6 та площиною аміногрупи лежать у межах від 12,5° до 21,6° в залежності від конформації. Отже, екзоциклічний фрагмент CNH<sub>2</sub> є пірамідалізованим.

Показано кореляцію між торсійними кутами  $v_1$  та  $v_4$  (коефіцієнт лінійної кореляції – 0,92),  $v_1$  та  $v_3$  (0,81),  $v_2$  та  $\chi$  (-0,74),  $v_3$  та  $v_4$  (0,98),  $v_3$  та  $\chi$  (0,59),  $v_4$  та  $v_0$  (-0,99). Також, встановлено, що торсійні кути  $\gamma$ ,  $\beta$  та  $\chi$  практично не корелюють між собою (значення відповідних коефіцієнтів лінійної кореляції не перевищує по модулю 0,21). Слід зазначити, що подібні кореляційні закономірності спостерігаються і для канонічного 2'-дезоксіденозину [16].

Кількість конформерів у повному сімействі d4A (21) виявилася дещо меншою ніж теоретично очікуване число, одержане шляхом перебору всіх можливих комбінацій торсійних кутів (36). На нашу думку, цей факт можна пояснити існуванням доволі сильних Н-зв'язків типу C8H...O5' та O5'Н...N3, які «виморожують» потенційні конформери без відповідних Н-зв'язків (завдяки своєму стабілізуючому впливу). Крім того, велику роль можуть відігравати й інші види взаємодій, зокрема, електростатичне відштовхування однаково заряджених атомних груп.

На основі енергетичних характеристик усіх без винятку конформерів d4A, ми чисельно охарактеризували конформаційні рівноваги. Виявилася, що рівновага syn:anti сильно зсу-

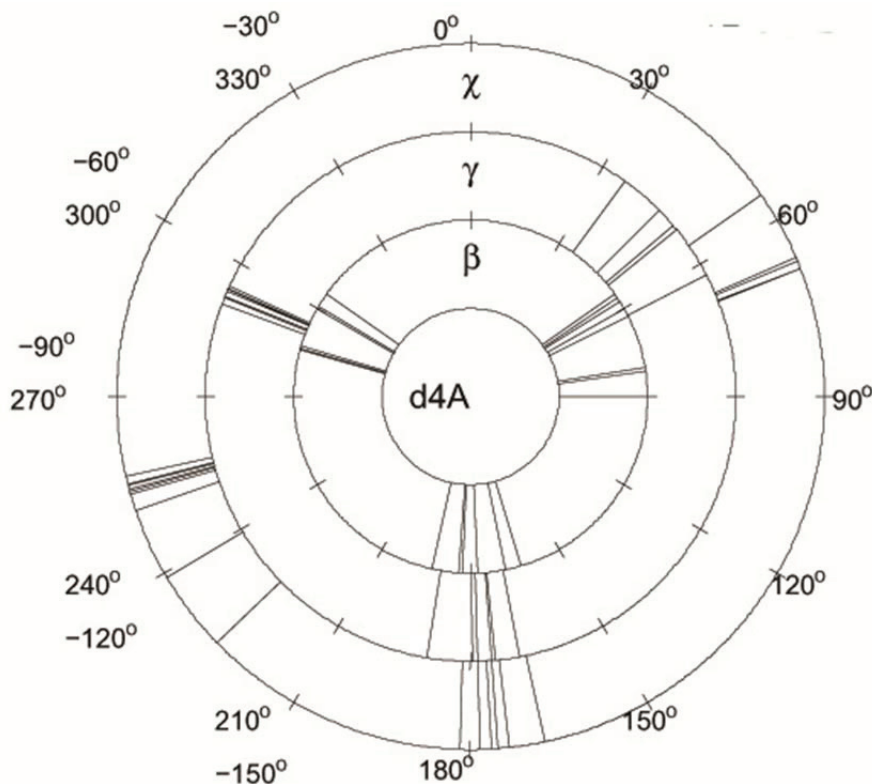


Рис. 2. Конформаційні «кільця» для трьох основних торсійних кутів у d4A:  $\chi$ ,  $\gamma$  та  $\beta$

нута за кімнатної температури (25 °C) у бік syn конформерів (syn:anti = 88,2%:11,8%). Що стосується підсімейств цукрового залишку, то розподіл має такий вигляд: O4'-endo (88,2%), C4'-exo (7,6%), C2'-exo (2,8%), C1'-exo (0,6%), C2'-endo (0,6%), O4'-exo (0,1%). Загалом же співвідношення E:N:S:W у процентах є таким – 96,4:2,8:0,6:0,1. Це можна пояснити відсутністю енергетичних бар'єрів під час зміни конформації цукрового кільця молекули d4A, внаслідок чого кут псевдообертання може приймати практично довільні значення.

Конформери з  $\gamma \in g^+$  (93,6%) сильно домінують над конформерами з  $\gamma \in t$  (5,7%) та – з  $\gamma \in g^-$  (0,6%). Ситуація з кутом  $\beta$  аналогічна: структури з  $\beta \in g^+$  (92,6%) вносять суттєвіший внесок у заселеність в порівнянні з  $\beta \in g^-$  (6,6%) та  $\beta \in t$  (0,8%).

Чотири енергетично найвигідніші конформери d4A зображено на рис. 3. Глобальному мінімуму на енергетичному ландшафті d4A відповідає конформер 1 anti/O4'-endo (табл. 1, рис. 3), який стабілізується міцним водневим зв'язком O5'H'...N3.

Порівняння результатів розрахунку з даними рентгеноструктурного аналізу [9] показало (табл. 2), що в кристалі реалізується конформер 4 ( $\Delta G_{298,15} = 2,15$  ккал/моль),

який не є ні енергетично найвигіднішим, ні ДНК-подібним. Слід зазначити, що в кристалічній комірці він сильно деформується у порівнянні з вільним станом завдяки силам міжмолекулярної взаємодії (особливо відчутно змінюються значення кутів  $P$  та  $\beta$ ).

Важливо відзначити, що повне конформаційне сімейство d4A містить лише один конформер 5 ( $\Delta G = 2,49$  ккал/моль), який можна умовно вважати ДНК-подібним –  $\chi \in anti$ ,  $\gamma \in g^+$ ,  $\beta \in t$  (на відміну від канонічного dA, у ньому відсутні номенклатурні кути  $\delta$  та  $\epsilon$ ). Він стабілізується Н-зв'язком C8H...O5' з енергією 3,05 ккал/моль. Щоб краще зрозуміти конформаційний вплив на можливі механізми біологічної активності d4A, було розраховано дві структури з фіксованим кутом  $\chi$  для  $\chi = -158,5^\circ$  та  $\chi = -102,4^\circ$ , що відповідають експериментальним значенням цього кута в А- та В- формах ДНК [20]. Виявилось, що В-ДНК-подібна структура має відносну вільну енергію, що суттєво менша за  $\Delta G$  для конформера 5 (1,9 ккал/моль у порівнянні з 2,49 ккал/моль (табл. 3)). Для А-ДНК-подібної структури енергія складає 3,55 ккал/моль (тобто на 1,06 ккал/моль більша ніж у конформера 5). Обидві структури з фіксованим кутом  $\chi$  теж мають Н-зв'язок C8H...O5', який,

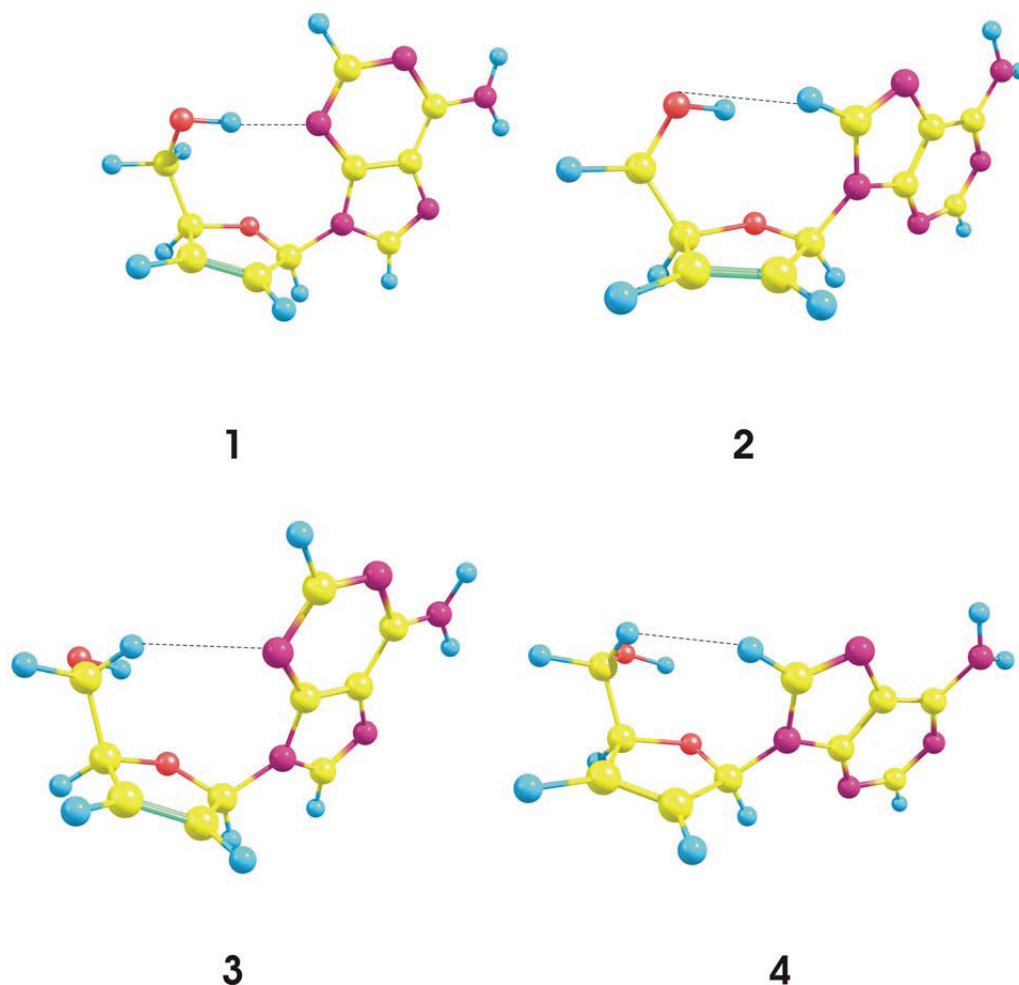


Рис. 3. Просторова структура чотирьох енергетично найвигідніших конформерів (1, 2, 3 та 4) d4A. Пунктиром позначено внутрішньомолекулярні Н-зв'язки

можливо, розпізнається полімеразами в парах нуклеозидмонофосфатів під час синтезу ДНК [21]. Отже, з конформаційної та енергетичної точок зору немає жодних перешкод для інкорпорації нуклеотиду d4A у структуру подвійної спіралі ДНК. Це дозволяє припустити, що біологічна активність d4A зумовлена, в першу чергу, відсутністю гідроксильної групи в С3'-положенні. Таким чином, d4A є конкурентним інгібітором оберненої транскриптази, принцип дії якого полягає у термінації про-

цесу біосинтезу дочірнього полінуклеотидного ланцюга в напрямку 5'-3'.

*Внутрішньомолекулярні взаємодії.* У 21 можливому конформері d4A методом квантово-механічного аналізу топології електронної густини за Бейдером було зафіксовано 8 типів (табл. 4) внутрішньомолекулярних взаємодій (їхня загальна кількість – 21): O5'H...N3 (1 конформер), O5'H...C8 (1), C8H...O5' (3), C2'H...N3 (5), C5'H1...N3 (2), C5'H2...N3 (3), C8H...N1'C5' (3) та C8H...H2'C5' (3). Усі вони,

Таблиця 2. Порівняння даних рентгеноструктурного аналізу d4A з результатами розрахунків

Конформер	$\rho$	$\chi$	$\gamma$	$\beta$
4 <sup>a</sup>	63,7	-103,6	174,5	-54,1
d4A <sup>b</sup>	146,5	-99,5	179,4	-71,6

Примітка. Позначення кутів ті ж, що у табл. 1 та на рис. 1. <sup>a</sup>Розрахований конформер 4. <sup>b</sup>Конформер, що спостерігається у кристалічному стані [9].

Таблиця 3. Енергетичні та конформаційні характеристики ДНК-подібного конформеру 5 та частково оптимізованих структур із фіксованим кутом  $\chi$ , що відповідає В (-158,5°) та А (-102,4°) формам ДНК [20]

Структура	D	P	$v_{\max}$	$\chi$	$\gamma$	$\beta$	$\tau_{\max}$	$\tau_1$	l(C1'-N9)	$\Delta G_{298,15}$
Конформер 5	4,72	64,6	1,7	-120,8	45,5	163,3	0,6	0,3	1,459	2,49
А-ДНК	4,85	67,6	4,6	-158,5	50,0	173,0	2,0	1,1	1,468	3,55
В-ДНК	4,40	282,3	1,7	-102,4	46,4	151,8	1,6	1,2	1,458	1,90

Примітка. Позначення D, P,  $v_{\max}$ ,  $\chi$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\tau_{\max}$ ,  $\tau_1$  і  $\Delta G_{298,5}$  ті ж, що у табл. 1; l(C1'-N9) – довжина глікозидного зв'язку (в Å).

окрім контактів СН...НС, задовольняють геометричним та електронно-топологічним критеріям Н-зв'язування [22]. Одну внутрішньомолекулярну взаємодію містить 19 із 21 конформерів. Виняток становлять лише два анти-конформери 6 та 18, перший з яких містить два Н-зв'язки (O5'Н'...C8 та C2'Н...N3), а другий – жодного. Цікаво, що у конформері 18 цукровий залишок є найнепланарнішим ( $v_{\max} = 8,5^\circ$ ) в усьому конформаційному сімействі. Це може свідчити про те, що диполь-дипольна взаємодія основи і цукрового залишку є доволі істотною у порівнянні з Н-зв'язками. Відзначимо, що у конформаційно лабільнішому канонічному нуклеозиді dA [16] зафіксовано 18 типів Н-зв'язків. Загалом взаємодії у d4A можна віднести до трьох категорій: канонічні (ОН...N, NH...O) і нетрадиційні (СН...O, ОН...С, СН...N) водневі зв'язки та контакти СН...НС. Характерною ознакою останніх є те, що в них взаємодія відбувається між атомами водню різних СН груп. Вони можуть належати як до слабких Н-зв'язків, так і до ван-дер-ваальсових взаємодій. Раніше методом аналізу топології електронної густини вони були зафіксовані у деяких амінокислотах [23]. Відомі також приклади експериментального спостереження подібних Н-зв'язків [24–26], їх продовжують інтенсивно вивчати квантово-хімічними методами [27]. Також зазначимо, що всі без винятку Н-зв'язки утворюються між основою та цукровим залишком, тобто, на відміну від канонічного dA [28], у d4A немає жодного внутрішньоцукрового Н-зв'язку.

Дослідження геометричних та енергетичних (методом ЕМЛ) характеристик усіх типів Н-зв'язків дозволяє класифікувати O5'Н'...N3 зв'язок за критеріями Джеффри [29] як середній за міцністю ( $E = 7,38$  ккал/моль за методом ЕМЛ та  $5,64$  ккал/моль за формулою Йогансена), інші ж типи Н-зв'язків

( $0,28 \leq -E \leq 3,27$  ккал/моль) можна віднести до слабких.

Значення електронної густини  $\rho$  для Н-зв'язків лежать у межах  $0,002 \div 0,045$  а.о., а Лапласіану електронної густини  $\nabla^2\rho$  –  $0,008 \div 0,109$  а.о., що розширює межі, постульовані раніше Кохом і Попельє [22]. Слід відзначити, що більшим значенням  $\rho$  і  $\nabla^2\rho$  відповідають сильніші зв'язки, що узгоджується з даними в роботі [30].

Зафіксовано прояви найміцнішого внутрішньомолекулярного Н-зв'язку O5'Н'...N3, який стабілізує енергетично найвигідніший конформер 1, в ІЧ коливальному спектрі. Під час його утворення інтегральна інтенсивність валентного коливання  $\nu(O5'Н)$  зростає в середньому в 52 рази порівняно із середньою інтенсивністю цього ж коливання, не втягнутого у Н-зв'язок, в той час як його частота зсувається в червону область на  $332 \text{ см}^{-1}$ .

Аналіз геометричних характеристик усіх Н-зв'язків дозволив виявити, що значення кута Н-зв'язування АНВ лежить у межах  $103,5^\circ \div 174,9^\circ$ , відстань між атомами донором та акцептором А...В –  $2,738 \div 3,856$  Å, водночас між воднем та акцептором Н...В  $\div 1,766 \div 2,911$  Å. Сума ван-дер-ваальсових радіусів Бонді  $\Sigma_{\text{vdW}}$  водню та атома-акцептора перевищує відстань Н...В для всіх зв'язків, за винятком шести взаємодій СН...НС, енергії яких (обчислені методом ЕМЛ) знаходяться в діапазоні  $0,28 \div 1,17$  ккал/моль.

Шість СН...НС взаємодій у d4A не задовольняють повною мірою геометричним критеріям Н-зв'язування, тому їхня природа потребує подальшого дослідження. Раніше було показано, що СН...НС контакти в тимідині задовольняють квантово-механічному критерію взаємної проникності, який є аналогом вищезгаданої класичної вимоги  $\Sigma_{\text{vdW}} > d_{\text{H...B}}$ . Відзначимо, що для зв'язків СН...НС відстані між критичними точками ВСР (3,-1) та РСР

Таблиця 4. Геометричні, енергетичні та електронно-топологічні характеристики внутрішньомолекулярних взаємодій у конформерах d4A

Конформер / $\chi/\beta/\gamma$	Н-зв'язок	d(A...B), Å	d(H...B), Å	$\angle$ АНВ, град	$\rho$ , а.о.	$\nabla^2 \rho$ , а.о.	100- $\epsilon$ , а.о.	d(BCP- RCP), Å	E <sub>НВ</sub> <sup>*</sup> ккал/моль
1 syn/g <sup>+</sup> /g <sup>+</sup>	O5'H...N3	2,848	1,867	174,9	0,036	0,087	4	1,149	7,38
2 anti/g <sup>+</sup> /g <sup>+</sup>	C8H...O5'	3,294	2,586	122,3	0,008	0,031	83	0,986	1,60
3 syn/g <sup>-</sup> /t	C5'H1'...N3	3,571	2,614	145,1	0,009	0,025	1	0,973	1,58
4 anti/g <sup>-</sup> /t	C8H...H1'C5'	3,341	2,641	121,9	0,003	0,010	8	0,567	0,37
5 anti/t/g <sup>+</sup>	C8H...O5'	3,305	2,326	149,7	0,013	0,039	5	0,988	3,05
6 anti/g <sup>+</sup> /g <sup>+</sup>	O5'H...C8	3,790	2,849	164,6	0,004	0,016	89	0,256	0,63
	C2'H...N3	3,141	2,613	109,3	0,010	0,033	36	0,604	1,71
7 anti/t/g <sup>-</sup>	C8H...H2'C5'	3,413	2,711	122,3	0,003	0,009	12	0,494	0,32
8 syn/t/g <sup>-</sup>	C5'H2'...N3	3,541	2,586	145,0	0,010	0,027	2	0,990	1,69
9 anti/g <sup>-</sup> /g <sup>+</sup>	C8H...O5'	3,306	2,301	153,7	0,014	0,040	5	0,943	3,27
10 anti/g <sup>-</sup> /g <sup>-</sup>	C8H...H2'C5'	3,463	2,744	123,8	0,002	0,008	21	0,422	0,29
11 anti/t/g <sup>-</sup>	C2'H...N3	3,218	2,723	107,5	0,008	0,027	58	0,457	1,37
12 syn/g <sup>-</sup> /g <sup>-</sup>	C5'H2'...N3	3,522	2,586	143,2	0,009	0,027	1	0,979	1,67
13 syn/g <sup>+</sup> (90)/g <sup>-</sup>	C5'H2'...N3	3,531	2,560	147,2	0,010	0,028	3	1,007	1,79
14 anti/t/t	C2'H...N3	3,269	2,818	105,0	0,007	0,024	131	0,279	1,17
15 anti/g <sup>-</sup> /g <sup>-</sup>	C2'H...N3	3,229	2,737	107,4	0,008	0,027	62	0,432	1,33
16 anti/t/t	C8H...H1'C5'	3,350	2,674	120,1	0,003	0,009	11	0,496	0,35
17 anti/g <sup>+</sup> /g <sup>-</sup>	C8H...H2'C5'	3,408	2,699	122,7	0,003	0,009	10	0,506	0,33
18 anti/g <sup>+</sup> /t	відсутні								
19 anti/g <sup>+</sup> /g <sup>-</sup>	C2'H...N3	3,188	2,689	107,6	0,008	0,029	50	0,507	1,47
20 anti/g <sup>+</sup> /t	C8H...H1'C5'	3,490	2,743	126,0	0,002	0,008	29	0,397	0,28
21 syn/g <sup>+</sup> /t	C5'H1'...N3	3,539	2,577	146,5	0,009	0,027	3	0,989	1,67



Таблиця 5. Атомні характеристики (заряд  $q$ , дипольна поляризація  $M$ , об'єм  $v$ , енергія  $E$ , радіус  $r$ ) атомів водню, залучених у взаємодії  $C8H...1H/2C5'$ , одержані на рівні теорії  $B3LYP/6-31G(d,p)$ ;  $Min.$  і  $Max.$  – мінімальне та максимальне значення параметрів відповідно

Конформер d4A ( $\chi/\beta/\gamma$ )	$q(C8H)$	$q(C5'N1/2)$	$M(C8H)$	$M(C5'N1/2)$	$v(C8H)$	$v(C5'N1/2)$	$-E(C8H)$	$-E(C5'N1/2)$	$r(C8H)$	$r(C5'N1/2)$
<b>4</b> (anti/g/t)	0,062	-0,019	0,127	0,149	46,9	51,8	-0,605	-0,641	2,508	2,514
<b>7</b> (anti/t/g)	0,067	-0,014	0,130	0,152	46,9	51,6	-0,602	-0,639	2,575	2,579
<b>10</b> (anti/g/g)	0,064	0,014	0,127	0,143	47,2	49,4	-0,603	-0,630	2,617	2,608
<b>16</b> (anti/t/t)	0,054	-0,018	0,125	0,143	47,4	51,4	-0,608	-0,642	2,554	2,531
<b>17</b> (anti/g <sup>+</sup> /g <sup>-</sup> )	0,057	-0,017	0,127	0,146	47,6	51,5	-0,607	-0,641	2,564	2,565
<b>20</b> (anti/g <sup>+</sup> /t)	0,064	0,014	0,128	0,139	47,5	49,2	-0,604	-0,631	2,609	2,612
$Min.$	0,054	-0,019	0,125	0,139	46,9	49,2	-0,608	-0,642	2,508	2,514
$Max.$	0,067	0,014	0,13	0,152	47,6	51,8	-0,602	-0,63	2,617	2,612

(так звана кільцева критична точка, (3,+1)) є досить малими (0,223–0,567 Å), що, очевидно, свідчить про їхню динамічну нестійкість.

Якщо припустити, що взаємодії  $CN...NC$  можуть бути  $H$ -зв'язками, то у даному випадку неможливо визначити *a priori*, яка із двох груп  $CN$  є донором, а яка – акцептором  $H$ -зв'язування. Щоб дослідити це питання, ми у кожному випадку інтегрували атоми водню обох груп навколо атомних басейнів у натуральних координатах (табл. 5). Виявилося, що атом водню азотистої основи несе на собі більший позитивний заряд (0,054÷0,102) та більшу енергію (-0,608÷-0,598 Хартрі) ніж водень цукрового залишку (-0,019÷0,023 та -0,642÷-0,627 Хартрі відповідно). Це свідчить про те, що у всіх випадках група-донор знаходиться в основі, а група-акцептор – у цукровому залишку. Нарешті відзначимо, що досліджені  $N...N$  контакти мають енергію, яка вписується у сучасні уявлення про слабкі  $H$ -зв'язки:  $E_{NB} \geq 1$  кДж/моль  $\approx 0,25$  ккал/моль [31,32].

Одержані результати свідчать про складну систему стабілізації конформерів d4A як класичними, так і нестандартними внутрішньомолекулярними  $H$ -зв'язками, які співіснують з неспецифічними електростатичними взаємодіями між нуклеотидною основою і цукровим залишком.

Таким чином, вперше проведено повний квантово-хімічний конформаційний аналіз модифікованого нуклеозиду d4A, який використовують в антиретровірусній терапії. На рівні теорії  $MP2/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d,p)$  встановлено, що d4A має 21 конформер, які лежать в діапазоні вільних енергій 0÷5,16 ккал/моль і стабілізуються вісьмома типами внутрішньомолекулярних взаємодій.

Повне конформаційне сімейство d4A містить лише один ДНК-подібний конформер ( $\chi \in anti, \gamma \in g^+, \beta \in t$ ). Біологічна активність d4A, швидше за все, полягає у тому, що він є термінатором синтезу полінуклеотидного ланцюга у напрямку 5'-3', конкуруючи з канонічним dA за зв'язування з активним центром відповідних ензимів.

**КОНФОРМАЦИОННАЯ  
ЕМКОСТЬ 2',3'-ДИДЕГИДРО-2',3'-  
ДИДЕЗОКСИАДЕНОЗИНА КАК  
КЛЮЧ К ПОНИМАНИЮ ЕГО  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ:  
РЕЗУЛЬТАТЫ КВАНТОВО-  
ХИМИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

*А. Г. Пономарева<sup>1</sup>, Е. П. Юренко<sup>1</sup>,  
Р. А. Жураковский<sup>1</sup>, Д. Н. Говорун<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии  
и генетики НАН Украины, Киев;  
e-mail: yevgen.yurenko@gmail.com;

<sup>2</sup>Институт высоких технологий,  
Киевский национальный университет  
имени Тараса Шевченко, Украина

На уровне теории MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p) впервые проведен исчерпывающий конформационный анализ биологически активного нуклеозида 2',3'-дидегидро-2',3'-дидезоксиаденозина (d4A). Представлены основные геометрические, энергетические и полярные характеристики 21 конформера d4A, а также основные конформационные равновесия при нормальных условиях. Методом анализа топологии электронной плотности установлено, что молекула d4A стабилизируется восьмью типами внутримолекулярных взаимодействий: O5'H...N3, O5'H...C8, C8H...O5', C2'H...N3, C5'H1...N3, C5'H2...N3 и C8H...H1/2C5'. Результаты конформационного анализа позволяют предположить, что биологическая активность d4A, скорее всего, заключается в том, что он является терминатором синтеза полинуклеотидной цепи в направлении 5'-3', конкурируя с каноническим 2'-дезоксиаденозином за связывание с активным центром соответствующих энзимов.

**Ключевые слова:** 2',3'-дидегидро-2',3'-дидезоксиаденозин, конформационный анализ, квантово-химические расчеты, водородные связи, биологическая активность.

**CONFORMATIONAL CAPACITY  
OF 2',3'-DIDEHYDRO-2',3'-  
DIDEOXYADENOSINE AS A KEY TO  
UNDERSTANDING ITS BIOLOGICAL  
ACTIVITY: RESULTS OF QUANTUM  
CHEMICAL MODELLING**

*A. G. Ponomareva<sup>1</sup>, Ye. P. Yurenko<sup>1</sup>,  
R. O. Zhurakivsky<sup>1</sup>, D. M. Hovorun<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: yevgen.yurenko@gmail.com;

<sup>2</sup>Institute of High Technologies, Taras Shevchenko  
Kyiv National University, Ukraine

**S u m m a r y**

Comprehensive conformational analysis of the biologically active nucleoside 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyadenosine (d4A) has been performed at the MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p) level of theory. The energetic, geometrical and polar characteristics of twenty one d4A conformers as well as their conformational equilibrium were investigated. The electron density topological analysis allowed us to establish that the d4A molecule is stabilized by eight types of intramolecular interactions: O5'H...N3, O5'H...C8, C8H...O5', C2'H...N3, C5'H1...N3, C5'H2...N3 та C8H...H1/2C5'. The obtained results of conformational analysis lead us to think that d4A may be a terminator of the DNA chain sythesis in the 5'-3' direction. Thus it can be inferred that d4A competes with canonical 2'-deoxyadenosine in binding an active site of the corresponding enzyme.

**Key words:** 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyadenosine, conformational analysis, quantum chemical calculations, hydrogen bonds, biological activity.

1. Meadows D. C., Gervay-Hague J. // Chem. Med. Chem. — 2006. — 1, N 1. — P. 16–29.
2. De Clercq E. // Nature Rev. Drug. Discov. — 2007. — 6, N 12. — P. 1001–1018.

3. *Kukhanova M., Krayevsky A., Prusoff W., Cheng Y.-C.* // *Curr. Pharmac. Des.* – 2000. – **6**, N 5. – P. 585–598.
4. *Saran A.* // *Int. J. Quant. Chem.* – 1981. – **20**, N 2. – P. 439–447.
5. *King A. E., Ackley M. A., Cass C. E. et al.* // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2006. – **27**, N 8. – P. 416–425.
6. *Van Rompay A., Johansson M., Karlsson A.* // *Pharmacol. Therap.* – 2003. – **100**, N 2. – P. 119–139.
7. *Mitsuya H., Yarchoan R., Kageyama R., Broder S.* // *FASEB J.* – 1991. – **5**, N 10. – P. 2369–2381.
8. *Balzarini J., Kruijning J., Wedgwood O. et al.* // *FEBS Lett.* – 1997. – **410**, N 2–3. – P. 324–328.
9. *Hutcheon W. L. B., James M. N. G.* // *Acta Cryst.* – 1974. – **30**, N 7. – P. 1777–1782.
10. *Зенгер В.* Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. – М.: Мир, 1987. – 584 с.
11. *Бейдер Р.* Атомы в молекулах. Квантовая теория. – Москва: Мир. – 2001. – 532 с.
12. *AIMAll* (Version 10.12.08), Todd A. Keith, 2010 (aim.tkgristmill.com)
13. *Йогансен А. В.* Водородная связь / Ред. Н. Д. Соколова. – М.: Наука, 1981. – 286 с.
14. *Espinosa E., Molins E., Lecomte C.* // *Chem. Phys. Lett.* – 1998. – **285**, N3–4. – P. 170–173.
15. *Yurenko Ye. P., Zhurakivsky R. O., Ghomi M. et al.* // *J. Phys. Chem. B.* – 2007. – **111**, N 32. – P. 9655–9663.
16. *Жураківський Р. О., Говорун Д. М.* // *Biopolymers and Cell.* – 2007. – **33**, № 2. – С. 45–53.
17. *Жураківський Р. О., Говорун Д. М.* // *Ukr. Bioorg. Acta* – 2007. – № 2. – С. 44–51.
18. *Yurenko Y. P., Zhurakivsky R. O., Ghomi M. et al.* // *J. Phys. Chem. B.* – 2007. – **111**, N 22. – P. 6263–6271.
19. *Van Roey P., Taylor E. W., Chu C. K., Schinazi R. F.* // *J. Am. Chem. Soc.* – 1993. – **115**, N 13. – P. 5365–5371.
20. *Foloppe N., MacKerell Jr. A. D.* // *Biophys. J.* – 1999. – **76**, N 6. – P. 3206–3218.
21. *Summerer D., Marx A.* // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2001. – **40**, N 19. – 3693–3695.
22. *Koch U., Popelier P. L. A.* // *J. Phys. Chem.* – 1995. – **99**, N 24. – P. 9747–9754.
23. *Matta C., Bader R. F. W.* // *Proteins: Structure, Function and Genetics.* – 2000. – **40**, N 2. – P. 310–329.
24. *Пинчук В. М., Цыбулев Н. П., Пархоменко В. Д.* Квантовая химия межмолекулярных и ион-молекулярных взаимодействий при сольватации и адсорбции. – К.: Наук. думка, 1994. – 392 с.
25. *Shubina E. S., Belkova N. V., Krylov A. N. et al.* // *J. Am. Chem. Soc.* – 1996. – **118**, N 5. – P. 1105–1112.
26. *Epstein L. M., Shubina E. S.* // *Coord. Chem. Rev.* – 2002. – **231**, N 1–2. – P. 165181.
27. *Matta C.* Hydrogen-hydrogen bonding. The non-electrostatic limit of closed-shell interaction between two hydrogen atoms. A critical review. In: Grabowski S. (Ed.): *Hydrogen bonding- New insights.* – 2006. – P. 337–375.
28. *Жураківський Р. О., Говорун Д. М.* // *Biopolymers and Cell.* – 2007. – **33**, № 2. – С. 363–368.
29. *Jeffrey G., Saenger W.* // Springer-Verlag. – 1991.
30. *Grabowski S. J.* // *J. Phys. Chem. A.* – 2001. – **105**, N 47. – P. 10739–10746.
31. *Kaplan I.* Intermolecular interactions: physical picture, computational methods and model potentials. – Wiley. – 2006. – 380 p.
32. *Bakhtmutov V. I.* Dihydrogen bonds: principles, experiments and applications. – Wiley Interscience. – 2008. – 241 p.

Отримано 11.03.2011