

## Вичерпний конформаційний аналіз 2'-дезокситимідину квантово-хімічним методом функціоналу густини

Р.О. Жураківський\*, Д.М. Говорун<sup>1</sup>

Національний університет імені Тараса Шевченка  
просп. Академіка Глушкова, 2, Київ, 03127, Україна

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

**Резюме.** Уперше квантово-хімічним методом функціоналу густини на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p) проведено вичерпний конформаційний аналіз 2'-дезокситимідину. Представлено основні геометричні, енергетичні й полярні характеристики всіх його 92 стійких конформерів, а також конформаційні рівноваги за нормальних умов.

**Ключові слова:** нуклеозиди, конформаційний аналіз, теорія функціоналу густини, 2'-дезокситимідин.

**Вступ.** Здатність біополімерів та їх компонентів змінювати свою конформацію під дією міжмолекулярних взаємодій є їх основною властивістю [1]. Експериментальне вивчення цих властивостей дифракційними, резонансними та оптичними методами стикається зі значними методологічними труднощами, які пов'язані з тим, що при цьому «за кадром» залишається чимала кількість конформерів досліджуваних структур, які не є енергетично найвигіднішими, а отже, і не проявляються в досліді, але які можуть бути біологічно компетентними.

У зв'язку з цим останнім часом для подолання цих труднощів з арсеналу сучасної обчислювальної біології все частіше й ефективніше залучають теоретичні методи, зокрема квантово-хімічні. Нині їх точність завдяки використанню новітніх інформаційних технологій стала такою, що вони вже розглядаються як комплементарне доповнення до реального фізико-хімічного експерименту чи навіть як

його альтернатива, особливо в тих випадках, коли реалізація експерименту з тих чи інших причин унеможливлена.

У попередніх наших роботах [2, 3] започатковано новий підхід до повноформатного конформаційного аналізу 2'-дезоксирибонуклеозидів — сполук, біологічна значущість яких не потребує коментарів [4, 5]. Квантово-хімічним методом функціоналу густини нами вперше отримано повне конформаційне сімейство 1',2'-дезоксирибози — модельного цукрового залишку вищезгаданих нуклеозидів, яке налічує 58 структур [2], і на його основі вперше проведено вичерпний конформаційний аналіз 2'-дезоксисуридину [3].

Ця робота є логічним продовженням попередньої [3]. Ми маємо на меті отримати й охарактеризувати повне конформаційне сімейство одного з найпростіших канонічних нуклеозидів ДНК — 2'-дезокситимідину. На наше переконання (і це показано у наших публікаціях), саме такий підхід дає змогу зрозуміти «молекулярну логіку» [6] як біологічної активності модифікованих нуклеозидів, так і просторової будови ДНК під кутом зору її функціонування.

**Матеріали й методи.** Методика розра-

\*Corresponding author.

Tel./fax: +38044-5262014

E-mail address: zhr@univ.kiev.ua

хунків детально викладена у попередніх роботах [2, 3]. При цьому використано програмний пакет «GAUSSIAN03» для платформи Win32. Внутрішньомолекулярні водневі зв'язки у деяких конформерах ми ідентифікували шляхом аналізу топології електронної густини [7], вважаючи, що необхідною і достатньою умовою їх існування є наявність відповідної критичної точки та додатне значення Лапласіана електронної густини в ній. У роботі використано загальнозв'язані позначення атомів та конформаційних змінних [8]. За міру конформаційної мінливості того чи іншого структурного параметра — довжини зв'язку, величини валентного й торсійного кута — використано безрозмірну величину  $\Delta$ , що є відношенням стандартного відхилення цієї величини до її середнього значення.

Коефіцієнти лінійної кореляції між торсійними кутами, які змінюються від 0 до 360°, обчислювали за методикою, запропонованою і реалізованою в роботі [11].

**Результати й обговорення.** Здобуті результати подано в табл. 1 та на рис. 1–5. Їх аналіз дає змогу зробити такі висновки.

Уперше встановлено, що ізольований 2'-дезокситимідин (dThd) має 92 конформери, які лежать у діапазоні відносних енергій Гіббса 0–7,49 ккал/моль за нормальних умов. За своїми класичними конформаційними ознаками (номенклатурні кути  $\chi$ ,  $P$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$  і  $\delta$  [8]) та кількістю вони розподілені таким чином.

*Syn*-орієнтація цукрового залишку відносно нуклеотидної основи зафіксована у 39 конформерах ( $56,7^\circ \leq \chi_{syn} \leq 81,8^\circ$ ), а 53 конформери мають *anti*-орієнтацію ( $-172,1^\circ \leq \chi_{anti} \leq -114,1^\circ$ ). Переважна кількість *anti*-конформерів і значно більший діапазон їх торсійних кутів  $\chi$  свідчать про те, що для них мають місце менші стеричні обмеження, зумовлені невалентною взаємодією між цукровим залишком та основою, ніж для *syn*-конформерів.

Загальна кількість конформерів, які мають північну (N) конформацію фуранозного кільця цукрового залишку ( $4,3^\circ \leq P_N \leq 48,9^\circ$ ) (їх 46), така ж, як і конформерів з південною (S) конформацією фуранозного кільця цукрового залишку ( $135,0^\circ \leq P_S \leq 215,5^\circ$ ). Один з конформерів з  $P=48,9^\circ$  формально не належить до підсімейства N, проте, враховуючи, що значення його кута

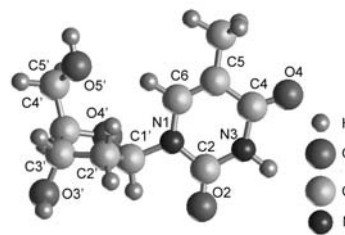


Рис. 1. Структура і позначення атомів молекули 2'-дезокситимідину.

псевдообертання близьке до граничного  $45,0^\circ$ , ми включили його до числа N-конформерів. Ширший діапазон кутів псевдообертання  $P$  та вужчий діапазон змін максимального вигину фуранозного кільця  $\nu_{max}$  (амплітуди псевдообертання) свідчить про те, що S-конформери стерично менше обмежені, ніж N-конформери. При цьому S- та N-конформери не зводяться лише до «класичних» C2'-endo та C3'-endo конформерів відповідно. Хоча кількість останніх у загальній чисельності свого підсімейства є максимальною (32 та 38 відповідно), проте поряд з ними спостерігаються й інші — 12 конформерів C3'-exo та 2 конформери C1'-exo в підсімействі S-конформерів та 8 конформерів C4'-exo серед N-конформерів.

Розподіл значень торсійних кутів  $\gamma$  для всіх можливих конформерів dThd — тримодальний. При цьому він займає три доволі вузькі сектори:  $g^+$  ( $43,1^\circ \leq \gamma \leq 64,8^\circ$ ) (29 конформерів),  $t$  ( $158,1^\circ \leq \gamma \leq 180,0^\circ$ ;  $-180,0^\circ \leq \gamma \leq -169,7^\circ$ ) (33 конформери) і  $g^-$  ( $-75,0^\circ \leq \gamma \leq -54,5^\circ$ ) (30 конформерів).

Тримодальний розподіл також має місце і

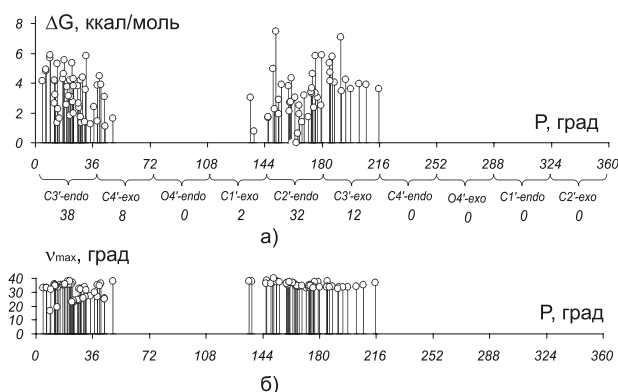


Рис. 2. Залежність відносної вільної енергії Гіббса  $\Delta G$  (а) і максимального вигину кільця цукрового залишку  $\nu_{max}$  (б) від кута псевдообертання цукрового залишку  $P$  повного конформаційного сімейства 2'-дезокситимідину.

Деякі структурні, енергетичні й полярні характеристики всіх конформерів 2'-дезокситимідину

Конформер	$\Delta G$	D	P	$v_{max}$	$\chi$	$\gamma$	$\beta$	$\delta$	$\epsilon$	Конформер	$\Delta G$	D	P	$v_{max}$	$\chi$	$\gamma$	$\beta$	$\delta$	$\epsilon$
1	0,00	4,45	161,0	36,4	61,8	45,5	63,0	-95,5	-177,1	47	3,43	5,54	173,2	33,5	-125,1	52,1	-84,2	-96,6	56,9
2	0,01	4,28	163,8	36,5	61,8	44,7	63,6	-90,1	-65,1	48	3,46	5,84	192,3	33,7	-163,7	163,1	51,3	-86,7	172,2
3	0,65	6,80	164,6	34,4	-129,5	51,3	176,2	-95,6	174,1	49	3,55	2,59	31,4	26,5	68,3	-170,3	-173,2	-148,0	-161,7
4	0,78	4,27	137,1	37,7	-119,1	61,4	69,5	-110,3	-177,5	50	3,62	5,77	198,1	33,7	-167,8	171,6	178,8	-85,6	171,6
5	1,10	4,40	43,6	25,7	61,8	45,7	41,5	-146,6	-151,1	51	3,64	4,46	215,5	36,7	-169,7	174,3	179,1	-84,3	51,5
6	1,26	2,43	34,6	27,5	66,1	-59,3	168,9	-147,0	-62,1	52	3,65	4,36	173,5	34,5	66,0	-64,8	-68,2	-91,0	-177,0
7	1,34	5,97	13,7	34,2	-158,8	52,9	175,6	-153,9	-168,8	53	3,76	2,87	20,0	37,8	-167,3	-70,0	42,2	-160,3	-174,5
8	1,35	4,11	28,7	32,6	-131,1	64,3	67,8	-154,3	-166,3	54	3,80	3,42	158,8	36,2	-136,1	-64,0	-67,6	-101,0	60,0
9	1,38	7,93	167,2	34,2	-125,6	50,3	174,9	-90,6	-65,4	55	3,81	4,72	26,6	24,3	68,0	-175,2	64,2	-145,5	-161,1
10	1,41	4,65	31,1	33,5	-128,8	61,8	66,7	-152,0	-85,1	56	3,81	1,99	23,7	23,6	66,1	-169,7	-166,5	-141,2	-81,5
11	1,46	3,84	39,1	26,9	60,6	43,4	42,2	-145,5	-88,3	57	3,86	3,94	39,1	35,1	76,2	47,5	167,6	-154,1	-100,6
12	1,64	5,74	48,9	37,6	-121,7	-57,3	178,2	-156,9	-55,3	58	3,91	4,12	41,4	36,1	71,7	-69,3	39,8	-158,8	-166,4
13	1,65	7,01	15,1	35,3	-157,0	49,4	167,7	-152,3	-89,1	59	3,91	5,20	207,9	35,4	-164,5	166,0	53,9	-86,1	54,5
14	1,68	3,64	146,3	38,4	-170,3	53,2	64,5	-103,5	176,8	60	3,92	5,49	154,6	37,4	-136,1	-72,1	84,5	-95,2	-58,5
15	1,72	5,07	146,1	36,4	-114,1	63,8	69,7	-100,9	-65,4	61	3,97	6,83	203,2	34,1	-168,3	173,2	-179,0	-80,4	-62,5
16	1,74	3,94	28,1	24,8	68,4	179,5	-57,3	-145,8	-160,3	62	4,07	4,00	188,0	34,2	-166,6	-67,2	-178,7	-90,4	55,2
17	1,75	5,70	171,3	33,2	-125,3	50,1	178,1	-97,5	60,0	63	4,13	4,12	184,9	37,8	57,6	158,9	-73,5	-87,0	33,0
18	1,82	6,10	21,9	36,2	-164,3	-58,9	178,2	-155,5	-56,2	64	4,14	4,70	4,3	33,0	-172,1	177,2	62,3	-151,1	-173,4
19	1,94	4,79	152,7	37,7	-132,8	172,3	-47,7	-100,0	178,2	65	4,15	6,52	12,3	34,0	-160,7	56,4	-79,2	-150,2	-78,8
20	1,95	4,22	165,6	34,4	62,8	43,1	64,9	-99,0	48,1	66	4,19	3,14	21,7	37,6	-165,7	-68,5	49,9	-164,3	62,8
21	1,96	2,93	24,0	23,1	67,5	179,0	-56,6	-140,4	-83,8	67	4,20	4,67	12,1	34,8	-170,9	-174,4	176,4	-154,8	-175,0
22	2,13	4,90	159,2	36,8	-127,5	171,6	-47,4	-92,8	-61,6	68	4,21	3,46	28,3	31,8	81,8	53,5	179,5	-152,8	-158,1
23	2,27	6,41	14,0	33,9	-158,5	53,9	179,6	-157,6	67,9	69	4,25	7,25	194,9	33,8	-162,6	162,8	49,6	-81,9	-65,7
24	2,29	6,45	150,0	37,0	-134,9	-68,4	-179,1	-98,0	-65,6	70	4,28	4,16	23,7	23,9	66,8	-176,5	59,1	-141,9	-90,2
25	2,36	4,21	27,4	32,3	-130,3	64,8	67,5	-157,9	63,9	71	4,29	4,83	17,1	35,4	-168,1	-172,4	178,4	-160,2	65,0
26	2,37	2,85	175,1	34,0	65,6	-69,6	173,9	-87,1	-64,7	72	4,36	4,24	160,7	37,1	-165,3	-74,6	72,7	-95,8	172,0
27	2,40	4,21	36,9	29,8	67,1	-58,9	-76,8	-149,8	-67,7	73	4,39	3,33	29,9	25,8	67,1	-169,8	-172,9	-151,3	56,4
28	2,49	4,60	179,2	37,6	56,7	158,2	-70,8	-82,4	-58,9	74	4,51	4,93	40,3	34,5	70,5	-67,5	49,8	-161,3	55,8
29	2,53	6,97	165,6	34,6	-130,0	53,5	-84,4	-95,3	172,6	75	4,65	4,78	174,1	34,6	66,6	-70,7	88,3	-91,0	179,8
30	2,56	2,78	19,5	35,8	-164,9	179,5	-54,5	-156,7	-173,8	76	4,66	5,99	17,9	35,1	-168,5	-173,2	-177,4	-152,3	-79,0
31	2,64	4,84	26,9	24,2	67,6	-179,5	-59,0	-149,3	56,3	77	4,73	1,70	185,1	34,3	69,1	-69,4	172,5	-90,4	41,4
32	2,65	5,67	11,7	35,6	-160,5	54,1	-84,0	-155,9	-178,7	78	4,83	5,44	6,8	33,1	-171,3	175,8	56,9	-148,3	-83,5
33	2,70	2,72	159,8	35,2	-128,1	171,6	-47,8	-101,7	54,3	79	4,93	5,35	6,7	33,0	-171,0	177,4	64,0	-155,7	68,2
34	2,76	4,36	160,1	36,9	-163,0	-64,7	-67,5	-95,7	176,4	80	4,96	3,18	149,1	36,4	-138,1	-75,0	68,0	-107,4	55,7
35	2,76	5,58	23,4	36,8	-163,5	-58,8	-78,0	-156,8	-60,8	81	5,31	3,32	13,6	19,0	68,1	-68,5	167,3	-142,1	48,6
36	2,92	5,64	152,7	37,2	-133,5	-67,8	-76,1	-96,2	-68,5	82	5,37	5,60	22,8	23,2	67,3	-175,7	66,8	-148,3	59,6
37	3,02	4,92	163,1	36,9	-164,7	-67,3	-177,2	-93,7	176,6	83	5,37	3,97	184,7	33,5	68,8	-64,7	-68,3	-91,8	47,8
38	3,03	5,76	177,0	37,2	57,1	158,1	-69,4	-87,6	-178,7	84	5,55	4,79	18,2	35,8	-165,1	-74,4	175,9	-160,1	49,2
39	3,04	3,10	135,0	38,0	-165,0	52,9	63,3	-116,1	67,0	85	5,68	5,76	9,1	16,7	69,2	-54,5	-53,2	-139,6	61,9
40	3,09	6,04	43,4	25,3	61,8	46,6	40,5	-150,4	58,5	86	5,81	3,26	186,5	33,8	69,6	-72,8	87,7	-91,0	39,2
41	3,10	3,70	22,3	35,7	-163,5	178,7	-53,2	-153,2	-79,6	87	5,87	5,16	31,7	31,2	79,5	55,6	-172,7	-156,5	61,9
42	3,14	2,96	21,0	35,8	-163,7	-179,3	-56,1	-160,9	64,5	88	5,87	5,69	176,0	32,9	67,8	-179,5	60,3	-91,8	179,3
43	3,21	7,72	168,8	34,4	-126,1	53,0	-81,7	-89,8	-60,3	89	5,90	5,53	179,9	33,6	68,5	-179,9	60,2	-85,7	-63,5
44	3,25	6,02	12,2	35,3	-159,4	53,6	-84,5	-159,7	67,5	90	5,91	3,88	9,3	32,0	-168,6	-67,9	-175,8	-150,0	-169,4
45	3,31	4,37	175,9	34,4	65,6	-68,2	-75,2	-86,4	-66,9	91	7,10	4,38	191,7	32,5	72,3	179,0	62,1	-91,3	47,7
46	3,33	3,12	173,6	35,0	66,3	-67,4	176,1	-90,2	-175,9	92	7,49	5,71	150,9	40,1	79,3	50,8	-80,4	-100,2	177,5

Примітка. Позначення кутів  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\chi$ ,  $P$ , і  $v_{max}$  — стандартні [9], величини наведені у градусах,  $\Delta G$  — відносна вільна енергія Гіббса за нормальних умов, ккал/моль,  $D$  — дипольний момент, Дебай. Структурні характеристики отримано на рівні теорії DFT B3LYP/6-31G(d,p), енергетичні — на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p). Конформації пронумеровано в порядку зростання їх відносної вільної енергії Гіббса.

для номенклатурних кутів  $\beta$  і  $\epsilon$ , які займають сектори  $g^+$ ,  $t$  і  $g^-$ . Для кута  $\beta$  маємо:  $g^+$  ( $39,8^\circ \leq \beta \leq 88,3^\circ$ ) (34 конформери),  $t$  ( $167,3^\circ \leq \beta \leq 180,0^\circ$ ;  $-180,0^\circ \leq \beta \leq -166,5^\circ$ ) (30 конформерів) і  $g^-$

( $-84,5^\circ \leq \beta \leq -47,4^\circ$ ) (28 конформерів); для кута  $\epsilon$ :  $g^+$  ( $33,0^\circ \leq \epsilon \leq 68,2^\circ$ ) (31 конформер),  $t$  ( $171,6^\circ \leq \beta \leq 180,0^\circ$ ;  $-180,0^\circ \leq \epsilon \leq -151,1^\circ$ ) (31 конформер) і  $g^-$  ( $-100,6^\circ \leq \epsilon \leq -55,3^\circ$ ) (30 конформерів). В останньому випадку лише два значення кута  $\epsilon$  ( $-100,6^\circ$  і  $-90,2^\circ$ ) формально не потрапляють у сектор  $g^-$ , проте, враховуючи їхню близькість до граничного кута  $-90,0^\circ$  цього сектора, ми включили їх до числа конформерів з  $\epsilon \in g^-$ . Розподіл значень торсійних кутів  $\delta$  для всіх можливих конформерів dThd — бімодальний. Вони займають два сектори — один (вужчий) ( $-164,3^\circ \leq \delta \leq -139,6^\circ$ ) поблизу верхньої межі сектора  $t$  (46 конформерів), інший (ширший) ( $-116,1^\circ \leq \delta \leq -80,4^\circ$ ) — поблизу нижньої межі сектора  $g^-$  (46 конформерів). При цьому вужчий сектор представлений лише N-конформерами, а ширший — S-конформерами фуранозного кільця цукрового залишку. Це не випадково, бо кути  $P$  і  $\delta$  взаємозалежні. Саме тому в рентгеноструктурному аналізі нуклеозидів конформацію фуранозного кільця цукрового залишку однозначно визначають за кутом  $\delta$  [8]. Таким чином, спостерігається майже рівномірний кількісний розподіл усіх можливих конформерів dThd за номенклатурними торсійними кутами  $\gamma$ ,  $\beta$  і  $\epsilon$  в секторах  $g^+$ ,  $t$  і  $g^-$  і кутом  $\delta$  поблизу секторів  $t$  і  $g^-$ .

Здобуті результати дають змогу зрозуміти баланс внутрішньомолекулярних взаємодій dThd, що відповідають за його *syn*- та *anti*-конформаційні підсімейства. Стабільність *syn*-конформерів і діапазон їх кутів  $\chi$  визначається, в основному, конформаційно-залежним балансом таких взаємодій: кулонівським відштовхуванням атома O2 з атомами O4' і O5' та атомів водню при атомах C6 і C1', з одного боку, і Н-зв'язками атома O2 з групами O5'H (у першу чергу) і C2'H, C3'H, C5'H1 та C5'H2, з іншого.

Так, енергетично найвигідніший ( $\Delta G=0$ ) конформер ( $\chi=61,8^\circ$ ;  $P=161,0^\circ$ ;  $\gamma=45,5^\circ$ ;  $\beta=63,0^\circ$ ) стабілізується трійкою внутрішньомолекулярних Н-зв'язків — O5'H...O2, C2'H2...O2 і C2'H2...O5'. Очевидно, у цьому випадку баланс відштовхувальних та притягувальних взаємодій оптимальний. *Syn*-конформер з найменшим значенням кута  $\chi$  ( $\Delta G=2,49$  ккал/моль) ( $\chi=56,7^\circ$ ;  $P=179,2^\circ$ ;  $\gamma=158,2^\circ$ ;  $\beta=-70,8^\circ$ ) теж стабілізується трійкою Н-зв'язків — O5'H...O2, C2'H2...O2 і C5'H1...O2. Але в цьому випадку

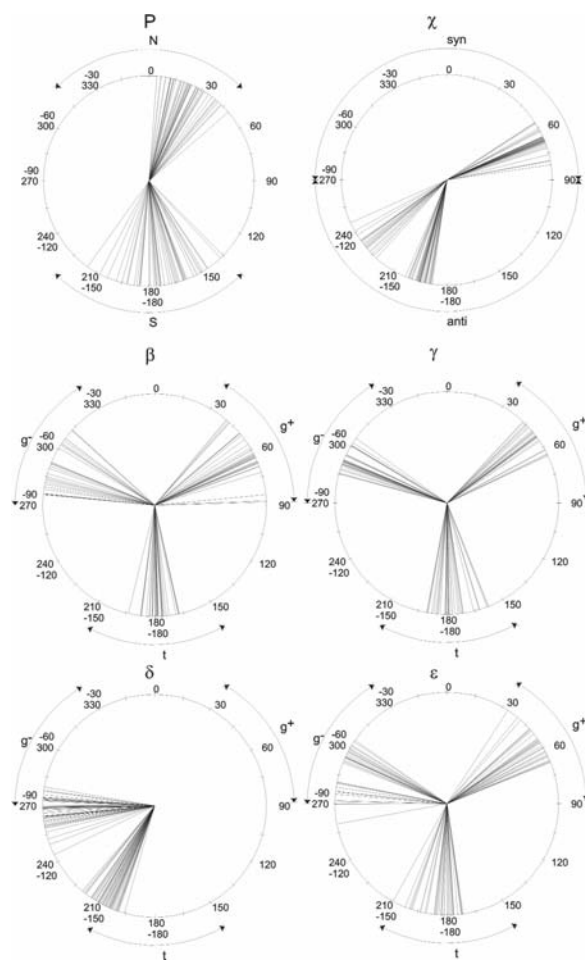


Рис. 3. Конформаційні кільця для номенклатурних структурних параметрів.

відштовхування атомів O2 і O4' посилюється, бо вони зближуються, і відносна енергія конформера зростає. Іще більше зростає відносна енергія *syn*-конформера з максимальним значенням кута  $\chi$  ( $\Delta G=4,21$  ккал/моль) ( $\chi=81,8^\circ$ ;  $P=28,3^\circ$ ;  $\gamma=53,5^\circ$ ;  $\beta=179,5^\circ$ ), який стабілізується двома Н-зв'язками — C3'H...O2 та C2'H2...O2. У цьому випадку енергетичний баланс теж складається на користь відштовхувальних взаємодій. Таким чином, допустимий діапазон кутів  $\chi$  для *syn*-конформерів визначається такими стеричними чинниками: з боку малих значень ( $\chi < 56,7^\circ$ ) — відштовхуванням атомів O2 і O4' при їх зближенні; з боку великих значень ( $\chi > 81,8^\circ$ ) — відштовхуванням атома O2 та атомів водню при атомах C2' і C3' (для S- і N-конформерів фуранозного кільця цукрового залишку відповідно) за їх зближення (в останньому випадку Н-зв'язки перетворюються у стеричні перепони).

Стабільність *anti*-конформерів і діапазон їх

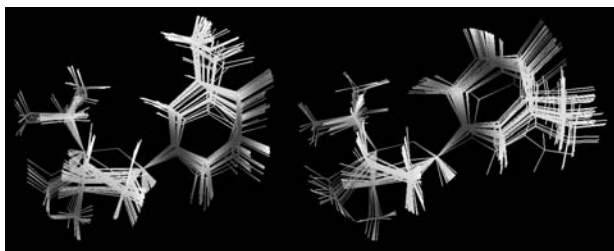


Рис. 4. Просторова структура повного сімейства конформерів 2'-дезокситимідину для *anti*- (ліворуч) та *syn*-підсімейств (праворуч).

кутів  $\chi$  здебільшого визначається конформаційно-залежним балансом таких взаємодій: внутрішньомолекулярними Н-зв'язками С6Н...О4', С6Н...О5' та С1'Н...О2, з одного боку, та кулонівським відштовхуванням атомів О2 і Н2 (при атомі С2') та О4' і О2 під час їх зближення, з іншого.

Так, енергетично найвигідніший ( $\Delta G = 0,65$  ккал/моль) *anti*-конформер ( $\chi = -129,5^\circ$ ;  $P = 164,6^\circ$ ;  $\gamma = 51,3^\circ$ ;  $\beta = 176,2^\circ$ ) стабілізується трійкою внутрішньомолекулярних Н-зв'язків С6Н...О5', С1'Н...О2 і С2'Н2...О5'. *Anti*-конформер із найменшим значенням кута  $\chi$  ( $\Delta G = 4,14$  ккал/моль) ( $\chi = -172,1^\circ$ ;  $P = 4,3^\circ$ ;  $\gamma = 177,2^\circ$ ;  $\beta = 62,3^\circ$ ) стабілізуються парою Н-зв'язків С6Н...О4' і С2'Н2...О2. Таким чином, допустимий діапазон кутів  $\chi$  з боку малих значень ( $\chi < -172,1^\circ$ ) *anti*-конформерів визначається стеричними перепонами при зближенні атомів О2 і Н2 (при атомі С2'), при цьому Н-зв'язок С2'Н2...О2 переходить у стеричне ускладнення. *Anti*-конформер з найбільшим значенням кута  $\chi$  ( $\Delta G = 1,72$  ккал/моль) ( $\chi = 61,8^\circ$ ;  $P = 161,0^\circ$ ;  $\gamma = 45,5^\circ$ ;  $\beta = 63,0^\circ$ ) стабілізується парою Н-зв'язків С1'Н...О2 і О5'Н...НС6. Подальше збільшення кута  $\chi$  призводить до кулонівського відштовхування атомів О2 і О4' та атомів водню при атомах С6 і С2' (в останньому випадку — Н2).

Детальніше з'ясувати інформацію про структурні перепони (стеричні обмеження), які виникають при *syn/anti*-інтерконверсії dThd, можна, лише спираючись на природу їх перехідних станів.

Вивчаючи структурні особливості всіх можливих конформерів dThd, ми не обмежилися лише аналізом їх основних (номенклатурних) характеристик, а дослідили конформаційну мінливість усіх без винятку структур-

них параметрів, а саме: довжин хімічних зв'язків, величин валентних кутів, торсійних кутів, що описують неплосцинність гетероциклу основи та вихід глікозидного зв'язку із середньої площини гетероциклу основи.

Аналіз отриманих даних дає змогу зробити такі висновки.

Гетероцикл нуклеотидної основи у складі нуклеозиду є непласким. Ми не зафіксували жодного конформера із 92, в якому б основа мала плаский гетероцикл (у конформації їх найпласкішим гетероциклом внутрішньоциклові торсійні кути не перевищують  $0,68^\circ$ ) (нагадаємо для порівняння, що ізольований Thu є плоскосиметричною молекулою з пласким гетероциклом). Аналіз конформаційної мінливості шести торсійних кутів, які описують вихід атомів гетероциклу з площини основи (С6Н1С2Н3, С5С6Н1С2, Н1С2Н3С4, С4С5С6Н1, Н3С4С5С6 та С2Н3С4С5), указує на те, що конформаційно найчутливішими з-поміж них є перші три. Вони змінюються в найширших межах:  $-3,86^\circ \div +5,23^\circ$ ;  $-4,72^\circ \div +3,48^\circ$  і  $-2,94^\circ \div +3,08^\circ$  відповідно. Для трьох наступних торсійних кутів ці межі дещо менші: відповідно  $-1,28^\circ \div +1,23^\circ$ ;  $-0,64^\circ \div +1,12^\circ$  і  $-1,16^\circ \div +0,44^\circ$ . Конформаційні зміни шести вищезгаданих торсійних кутів скорельовані таким чином, що їх алгебраїчна сума для кожного конформера близька до нуля і не перевищує загалом  $0,25^\circ$ .

Іншою структурною особливістю конформерів dThd є вихід глікозидного зв'язку С1'Н1 із середньої площини гетероциклу нуклеотидної основи. Середньою площиною гетероциклу тут і надалі вважається площина, проведена через його атоми таким чином, щоб забезпечити мінімальне значення суми квадратів відстаней від атомів до цієї площини. Згідно із здобутими результатами кут виходу зв'язку С1'Н1 із площини гетероциклу основи змінюється від  $-3,32^\circ$  до  $+7,09^\circ$  (знак «+» відповідає випадку, коли вектори Н1С2, Н1С6 та Н1С1' утворюють праву трійку векторів), а торсійні кути С1'Н1С2Н3 і С1'Н1С6С5 — від  $-172,5^\circ$  до  $176,7^\circ$  та від  $-176,3^\circ$  до  $172,4^\circ$  відповідно.

Раніше неплосцинність гетероциклу основ у піримідинових нуклеозидах та вихід глікозидного зв'язку із площини гетероциклу основи в них фіксувалися у кристалічному стані рентгеноструктурним аналізом [9]. Однак було не

зрозуміло, чи цей ефект зумовлений силами кристалічного пакування, чи він має і внутрішньомолекулярну складову. Проведений нами конформаційний аналіз вільного нуклеозиду показує, що ці ефекти мають внутрішньомолекулярне походження і, переходячи в кристал, очевидно, додатково збурюються силами кристалічного пакування.

Зазначимо, що в усіх без винятку конформерах орієнтація метильної групи основи залишається незмінною за своїм характером: один її атом водню, що «дивиться» в бік зв'язку C5H, лежить у площині основи, а решта два, які «дивляться» на атом O4, розміщені симетрично до площини основи по обидва її боки.

З-поміж усіх хімічних зв'язків нуклеозиду конформаційно найчутливішим є глікозидний, для якого параметр  $\Delta$  становить 0,0074. При цьому довжина глікозидного зв'язку змінюється в межах 1,456÷1,499 Å, а середнє його значення складає 1,476 Å. Для порівняння зазначимо, що для зв'язків N1C2 та N1C6 основи  $0,002 \leq \Delta < 0,003$  для зв'язків C2O2, C5C6, C6H, C2N3 та N3C4  $0,001 \leq \Delta < 0,002$ , а зв'язки C4C5, C4O4, C5H, N3H, C5H1, C5H2 та C5H3 є конформаційно нечутливими ( $\Delta < 0,001$ ). У цукровому залишку максимальне значення  $\Delta = 0,0045$  спостерігається для зв'язку C1'O4', а мінімальне ( $0,001 \leq \Delta < 0,002$ ) — для O3'H та C2'H1. Зв'язки C2'H2, C1'H, O5'H, C4'H, C1'C2' ( $0,002 \leq \Delta < 0,003$ ) та C5'H1, C2'C3', C5'H2, C3'O3', C3'H, C3'C4', C5'O5', C4'C5', C4'O4' ( $0,003 \leq \Delta < 0,004$ ) мають проміжні значення  $\Delta$ . Таким чином, хімічні зв'язки цукрового залишку загалом конформаційно лабільніші, ніж хімічні зв'язки основи.

Така ж сама закономірність спостерігається і для валентних кутів: валентні кути цукрового залишку конформаційно лабільніші, ніж валентні кути основи. В основі параметр  $\Delta$  для них змінюється від 0,0004 (N1C5H2, H2C5H3, H3C5H1) до 0,006 (N1C2O2, N3C2O2). В цукровому залишку ці зміни значно більші — від 0,0036 (H1C5'H2) до 0,026 (C2'C3'O3'). При цьому ще п'ять валентних кутів мають велике значення  $\Delta$ : O3'C3'H (0,025), C4'C3'O3' (0,024), O5'C5'H1 (0,023), O5'C5'H2 та C4'C5'O5' (0,022).

Отже, за всіма структурними ознаками азотиста основа dThd є конформаційно консервативнішою, ніж цукровий залишок. Виявилось, що цей висновок, який раніше було

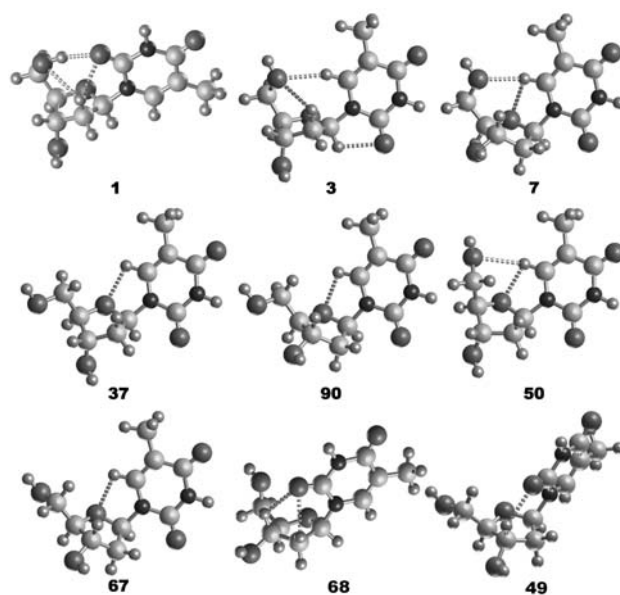


Рис. 5. Деякі біологічно важливі конформери 2'-дезокситимідину (внутрішньомолекулярні водневі зв'язки показані пунктиром). Позначення (див. також табл. 1): 1 — основний (енергетично найвигідніший) конформер; три пари конформерів 3 і 7, 37 і 90, 50 і 67, які можна розглядати як модельні структурні ланки спіральних одноланцюгових полінуклеотидів (з-поміж них перша пара — модельна структурна ланка двоспіральної ДНК); 68 — конформер — модельна структурна ланка ДНК з *syn*-орієнтацією основи відносно цукрового залишку; 49 — конформер — модельна структурна ланка Z-ДНК.

встановлено для поодиноких конформерів dThd [10], поширюється без винятків на все його конформаційне сімейство.

Маючи структурні дані для повного сімейства конформерів dThd, ми застосували статистичні підходи, щоб виявити взаємозв'язок між номенклатурними конформаційними параметрами, а саме торсійними кутами.

Зафіксовано такі статистичні закономірності.

По-перше, має місце доволі сильна кореляція (за одним винятком, який наведемо останнім) між торсійним кутом  $\delta$  і торсійними кутами  $\nu_3$  (-1,00),  $\nu_2$  (0,99),  $\nu_1$  (0,94),  $\nu_4$  (-0,91),  $\nu_0$  (-0,52) (тут і нижче в дужках наведено коефіцієнти лінійної кореляції, що вираховувалися з урахуванням кругової корекції [11]). Окрім того, спостерігається доволі сильна кореляція між торсійними кутами  $\nu_1$  та  $\nu_2$  (0,98),  $\nu_3$  (-0,94),  $\nu_0$  (-0,78),  $\nu_4$  (-0,73),  $\nu_2$  та  $\nu_3$  (-0,99),  $\nu_4$  (-0,85),  $\nu_0$  (-0,64). Найслабше корелюють між собою кути  $\nu_0$  та  $\nu_3$  (0,51),  $\nu_4$  (0,14).

По-друге, встановлено, що торсійні кути  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\beta$  і  $\chi$  порівняно слабко корелюють як між собою, так і з торсійними кутами  $\nu_0 \div \nu_4$  (значення коефіцієнтів лінійної кореляції з урахуванням кругової корекції [11] не перевищує по модулю 0,24), тобто не залежать один від одного.

Це доволі важливий висновок з точки зору природи конформерів dThd. Ми сподіваємося, що він справедливий і для інших піримідинових нуклеозидів. Він істотно відрізняється від результатів, здобутих тим же самим методом для нуклеозидів у кристалічному стані [8, 11], що свідчить про сильну кореляцію (коефіцієнти лінійної кореляції в межах 0,77-0,89) між торсійними кутами  $\chi$  та  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\nu_0$  і між кутами  $\epsilon$  та  $\delta$ . Вочевидь, цей ефект зумовлений дією сил кристалічного пакування.

Конформаційний аналіз свідчить про те, що довжина глікозидного зв'язку dThd як конформаційний параметр тісніше корелює з довжинами хімічних зв'язків основи — N1C2 (-0,82), C5C6 (0,75), C4C5 (-0,75) та N3C4 (0,67), а не цукрового залишку, де найпомітніша кореляція з довжиною зв'язку C1'O4' досягає максимального значення і складає -0,68. Таку ж саму закономірність маємо і для кореляційного зв'язку між довжиною глікозидного зв'язку C1'N1 та величинами валентних кутів основи й цукрового залишку відповідно. Спостерігається значно вищий рівень лінійної кореляції з валентними кутами основи — C4N3H (0,87), N1C2N3 (0,73), C2N3C4 (-0,71) та N1C2O2 (-0,70), а не цукрового залишку, де кореляція сягає максимального значення з кутом C3'C2'H2 і становить 0,70. Найсильніше довжина глікозидного зв'язку корелює з двома торсійними кутами цукрового залишку — C4'O4'C1'H (0,84) і номенклатурним  $\nu_0$  (-0,83). Проте найвищий рівень кореляції з торсійним кутом C4'O4'C1'N1 (0,87). На противагу поширеній точці зору про наявність структурної кореляції між довжиною глікозидного зв'язку та торсійним кутом  $\chi$  в піримідинових нуклеозидах [8], зафіксованій, до речі, у кристалічному стані, ми такої кореляції в конформерах ізольованого dThd не зафіксували, принаймні її величина не перевищує -0,32.

Цікаві кореляційні закономірності зафіксовано для торсійного кута  $\chi$ : виявилось, що він доволі сильно корелює не з одним-двома, як це

вважалося раніше [8], а з цілою низкою структурних параметрів — довжин зв'язків, величин валентних та торсійних кутів. Так, кут  $\chi$  корелює з довжинами валентних зв'язків N1C6 (0,87), C1'H (0,83), C5C6 (-0,81), N3H (0,75), C5CMe (-0,75), C6H (0,74) та C4O4 (-0,72), валентних кутів C2N1C6 (-0,96), C5C6H (-0,94), N1C6C5 (0,93), N3C2O2 (-0,93), C1'N1C2 (0,92), H52C52H53 (0,90), C1'N1C6 (-0,89), C2'C1'H (-0,88), C4C5C52 (0,87), C2'C1'N1 (0,86), N3C4C5 (-0,86), C2N3H (-0,85), N1C1'H (-0,85), N3C4O4 (0,84), C2N3C4 (0,82), N1C2O2 (0,82), C4C5C6 (-0,82), C5C52H52 (-0,81), C5C52H3 (-0,72) та O4'C1'H (-0,70) і багатьох (26) торсійних кутів.

Подамо короткий коментар щодо полярних властивостей dThd: нуклеозид є полярною структурою, оскільки його дипольний момент лежить у межах 1,70D $\pm$ 7,93D.

На основі енергетичних характеристик усіх без винятку конформерів dThd нам уперше вдалося кількісно охарактеризувати їх конформаційні рівноваги. Виявилось, що за кімнатної температури рівновага *syn/anti* сильно зсунута в бік *syn*-конформерів (*syn:anti*=61,6%:38,4%), а рівновага S/N — у бік S-конформерів (S:N=74,5%:25,5%). Співвідношення між «класичними» та «некласичними» конформерами фуранозного кільця цукрового залишку є таким: для S-підсімейства — C2'endo (67,5 %), C1'exo (6,6 %) і C3'exo (0,3 %); для N-підсімейства — C3'endo (17,6 %) і C4'exo (7,9 %). Конформації C2'endo є *syn*-«любними» (49,6 % проти 17,9 %), а C1'exo і C3'exo — *anti*-«любними» (відповідно частка таких *anti*-конформерів складає 6,6 % та 0,3 % від загальної заселеності); конформації C3'endo — *anti*-«любні» (12,1 % проти 5,5 %), а конформації C4'exo — *syn*-«любні» (6,4 % проти 1,5 %). Таким чином, немає ніяких підстав нехтувати «некласичними» конформаціями фуранозного кільця цукрового залишку dThd як з огляду на їх загальну кількість, так і на їх сумарну заселеність.

Нам вдалося зафіксувати такі закономірності інших номенклатурних конформаційних характеристик (у дужках наведено заселеності).

Конформери з  $\gamma \in g^+$  (86,0 %) сильно домінують над конформерами з  $\gamma \in g^-$  (8,1 %) та конформерами з  $\gamma \in t$  (5,9 %); при цьому параметр  $\gamma$  є *syn*-«любним» (54,4 % проти 31,6 % для  $\gamma \in g^+$ , 3,1 % проти 2,7 % для  $\gamma \in t$  і 4,0 % проти 4,1 % для

$\gamma \in g^-$ . Конформери з  $\gamma \in g^+$  асоціюються в більшості випадків (63,4 %) з конформацією фуранозного кільця цукрового залишку C2'endo. Конформери з  $\beta \in g^+$  (69,3 %) сильно домінують над конформерами з  $\beta \in t$  (23,3 %) і конформерами з  $\beta \in g^-$  (7,5 %). При цьому конформери з  $\beta \in g^+$  є *syn*-«любними» (54,5 % проти 14,8 %), конформери з  $\beta \in t$  — *anti*-«любними» (19,7 % проти 3,6 %), конформери з  $\beta \in g^-$  також *anti*-«любні» (4,0 % проти 3,5 %). Незалежно від параметра  $\beta$  конформери в переважній своїй більшості асоціюються з конформацією фуранозного кільця цукрового залишку C2'endo: 51,2 % для конформерів із  $\beta \in g^+$ , 12,9 % для конформерів із  $\beta \in t$  і 3,4 % для конформерів з  $\beta \in g^-$ . Конформери з  $\varepsilon \in g^+$  (52,9 %) і з  $\varepsilon \in g^-$  (42,6 %) сильно домінують над конформерами з  $\varepsilon \in g^+$  (4,5 %); при цьому домінуючі конформери є *syn*-«любними»: 29,5 % проти 23,4 % та 30,7 % проти 11,9 % для конформерів з  $\varepsilon \in t$  і конформерів з  $\varepsilon \in g^-$  від-

повідно. Незалежно від параметра  $\varepsilon$  більшість конформерів асоціюється з конформацією фуранозного кільця цукрового залишку C2'endo: 35,5 % для конформерів з  $\varepsilon \in t$ , 29,5 % для конформерів з  $\varepsilon \in g^-$  і 2,5 % для конформерів з  $\varepsilon \in g^+$ .

**Висновки.** Уперше проведено вичерпний конформаційний аналіз 2'-дезокситимідину квантово-хімічним методом функціоналу густини на рівні теорії MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p). Представлено основні геометричні, енергетичні та полярні характеристики всіх його 92 стійких конформерів, а також конформаційні рівноваги за нормальних умов.

Автори висловлюють подяку корпорації «GAUSSIAN» (США) за люб'язно наданий грант — програмний пакет «GAUSSIAN03» для платформи Win32, а також Є.П. Юренку за технічну допомогу та увагу до роботи.

Надійшла до редакції 19.08.2006 р.

### Comprehensive conformational analyses of 2'-deoxythymidine by quantum-chemical density functional method

R.O. Zhurakivsky, D.M. Hovorun<sup>1</sup>

Taras Shevchenko National University  
2 Glushkova Ave., Kyiv, 03127, Ukraine

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine  
150 Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine

**Summary.** For the first time the comprehensive conformational analyses of 2'-deoxythymidine has been performed by means of quantum-chemical density functional method on MP2/6-311++G(d,p)//DFT B3LYP/6-31G(d,p) theory level. Main geometric, energetical and polar characteristics are provided for all of its 92 stable conformers as well as conformational equilibrium at normal conditions.

**Keywords:** nucleosides, conformational analysis, density functional theory, 2'-deoxythymidine.

### Перелік літератури

1. Структура и стабильность биологических макромолекул / Под ред. М.В. Волькенштейна. — М.: Мир, 1973. — 584 с.
2. Жураківський Р.О., Юренко Є.П., Говорун Д.М. Конформаційні властивості 1',2'-дезоксирибози — модельного цукрового залишку 2'-дезоксирибонуклеозидів: результати неемпіричного квантово-механічного дослідження // Доповіді НАН України. — 2006. — № 8. — С. 207-213.
3. Жураківський Р.О., Говорун Д.М. Вичерпний конформаційний аналіз 2'-дезоксигуанидину квантово-хімічним методом функціоналу густини // Біополімери і клітина. — 2006. — Т. 22, № 5. — С. 384-395.
4. Микельсон А. Химия нуклеозидов и нуклеотидов. — М.: Мир, 1966. — 668 с.
5. Химия биологически активных природных соединений / Под. ред. Н.А. Преображенского и Р.П. Евстигнеевой. — М.: Химия, 1970. — 512 с.
6. Ленинджер Л. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки. — М.: Мир, 1974. — 960 с.
7. Бейдер Р. Атомы в молекулах. Квантовая теория. — М.: Мир, 2001. — 532 с.
8. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот. — М.: Мир, 1987. — 584 с.
9. Преображенская Н.Н., Шабарова З.А. Пространственное строение нуклеозидов, нуклеотидов и их производных // Успехи химии. — 1969. — 38, вып. 2. — С. 222-247.
10. Shishkin O.V., Pelmeshnikov A., Hovorun D.M., Leszczynski J. Molecular structure of free canonical 2'-deoxyribonucleotides: a density functional study // J. Mol. Struct. — 2000. — V. 526. — P. 329-341.
11. Kitamura K., Wakahara A., Mizuno H., Baba Y., Tomita K. Conformationally «concerted» changes in nucleotide structures. A new description using circular correlation and regression analyses // J. Am. Chem. Soc. — 1981. — Vol. 103. — P. 3899-3904.