

Abb. 3. Seitliche Sicht auf die Molekülschicht im Kristall von 3.

assoziiert. Die Zahl der Kontakte zwischen den Molekülen ist geringer, da der Pentamethylcyclopentadienylrest die Tetrahedranmoleküle stärker abschirmt.

Experimentelles

1 und **2**: 2.00 g $(t\text{BuSb})_4$ und 0.91 g $[(\text{C}_5\text{H}_5(\text{CO})_3\text{Mo})_2]$ werden in 70 mL Toluol ca. 6 h unter Rückfluß gerührt. Die dunkelrote Lösung wird abdekantiert und der schwarze Niederschlag mit 50 mL Toluol gewaschen. Die vereinigten Extrakte werden im Vakuum zur Trockene eingeengt und der Rückstand mit 2 \times 80 mL Petrolether gewaschen. Das purpurrote, in Petrolether unlösliche Pulver wird in 20 mL Toluol aufgenommen, mit 10 g Al_2O_3 versetzt, zur Rieselfähigkeit im Vakuum getrocknet und auf eine Chromatographiesäule aufgetragen (3 \times 10 cm neutrales Al_2O_3 nach Brockmann, Koragröße 0.063–0.200 mm, Aktivitätsstufe II). Mit Petrolether/Toluol (10/1) wird **2** als gelbe Fraktion eluiert und nach dem Einengen der Lösung kristallisiert. Ausbeute 50 mg (2.3%). $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, C_6D_{6} , 25°C): $\delta = 4.22$ (s, C_5H_5); IR (Toluol): $\nu = 1962, 1910 \text{ cm}^{-1}$ (C=O); MS (EI, 70 eV): m/z : 584 (90) [M^+], 556 (50) [$M^+ - \text{CO}$], 528 (100) [$M^+ - 2\text{CO}$]. Anschließend erhält man eine breite, rote Fraktion aus der beim Einengen **1** kristallisiert. Ausbeute 0.96 g, 76 %. Die $^1\text{H-NMR}$ -, IR- und MS-Daten stimmen mit den Literaturwerten [2] überein.

3: Die Umsetzung von 1.63 g $(t\text{BuSb})_4$ und 0.85 $[(\text{C}_5\text{Me}_5(\text{CO})_3\text{Mo})_2]$ und Aufarbeitung erfolgt ähnlich wie oben beschrieben. Das Rohprodukt wird nicht mit Petrolether gewaschen. Bei der Chromatographie werden mit Petrolether, Petrolether/Toluol (12/1), Petrolether/Toluol (1/8), Petrolether/Toluol (1/2) nacheinander vier Fraktionen erhalten. Die erste Fraktion enthält 65 mg $(t\text{BuSb})_4$, die dritte 0.37 g $[(\text{C}_5\text{Me}_5\text{Mo}(\text{CO})_3)_2]$. Aus der vierten Fraktion kristallisieren nach dem Einengen bei -20°C rote Nadeln von **3** (0.47 g, 27%). Schmp. 198–199°C (Zers.); $^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, C_6D_{6} , 25°C): $\delta = 1.70$ (s, CH_3); IR (Toluol): $\nu = 1951, 1897 \text{ cm}^{-1}$ (C=O); MS (EI, 70 eV): m/z : 654 (40) [M^+], 626 (20) [$M^+ - \text{CO}$], 596 (100) [$M^+ - 2\text{CO}$].

Eingegangen am 8. Juli 1997 [Z10651]

Stichwörter: Antimon • Molybdän • Sb-Liganden • Strukturaufklärung

- [1] O. J. Scherer, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1137–1155; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1104–1122; M. Scheer, E. Herrmann, *Z. Chem.* **1990**, *30*, 41–55; A.-J. DiMaio, A. L. Rheingold, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 169–190.
- [2] J. R. Harper, A. L. Rheingold, *J. Organomet. Chem.* **1990**, *390*, C36.
- [3] W. J. Evans, S. L. Gonzales, J. W. Ziller, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1138–1139.
- [4] U. Bolle, W. Tremel, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 217–219; S. Charles, B. W. Eichhorn, A. L. Rheingold, S. G. Bott, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8077–8086.
- [5] J. Ellermann, A. Veit, *J. Organomet. Chem.* **1985**, *290*, 307–319; H. J. Breunig, J. Pawlik, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1995**, *621*, 817–822.
- [6] J. Queisser, H. Oesen, D. Fenske, B. Lehari, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1994**, *620*, 1821–1831; J. Queisser, H. Oesen, D. Fenske, H. Schottmüller, *ibid.* **1996**, *622*, 1731–1739; O. M. Kekia, R. L. Jones, Jr., A. L. Rheingold, *Organometallics* **1996**, *15*, 4104–4106.
- [7] a) K. Isleib, B. Hamann, L. Schmidt, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1965**, *339*, 298–303; b) O. Mundt, G. Becker, H.-J. Wessely, H. J. Breunig, K. Kischkel, *ibid.* **1982**, *486*, 70–89.
- [8] Kristallstrukturanalysen: Siemens-P4-Vierkreisdiffraktometer, $\text{MoK}\alpha$ -Strahlung, $\lambda = 71.073 \text{ pm}$, Scan-Modus ω^2/θ , $T = 173(2) \text{ K}$, Absorptionskorrektur DIFABS, Strukturlösungsverfahren Direkte Methoden, Strukturlösungsprogramm SHELXS-86, Verfeinerungsverfahren Volle-Matrix-kleinste-Fehlerquadrate-Verfeinerung gegen F^2 , Verfeinerungsprogramm SHELXL-93, Wasserstoffatome geometrisch positioniert und mit einem Reitermodell verfeinert. – 2: Kristallabmessungen $0.6 \times 0.5 \times 0.1 \text{ mm}^3$, triklin, Raumgruppe $P\bar{1}$, $a = 715.60(10)$, $b = 1243.3(2)$, $c = 1387.7(2) \text{ pm}$, $\alpha = 105.490(10)$, $\beta = 96.330(10)$, $\gamma = 104.329(10)^\circ$, $V = 1.1321(3) \text{ nm}^3$, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 3.416 \text{ Mg m}^{-3}$, $\theta_{\text{max.}} = 27.50^\circ$, Zahl der gemessenen Reflexe 10436, davon 5137 unabhängig ($R_{\text{int.}} = 0.0752$), Absorptionskoeffizient 8.130 mm^{-1} , Zahl der freien Parameter 237, endgültige R -Werte ($I > 2\sigma I$), $R1 = 0.0600$, $wR2 = 0.1448$. – 3: Kristallabmessungen $0.7 \times 0.3 \times 0.3 \text{ mm}^3$, orthorhombisch, Raumgruppe $Pbca$, $a = 1256.00(10)$, $b = 906.80(10)$, $c = 2874.4(3) \text{ pm}$, $V = 3.2738(6) \text{ nm}^3$, $Z = 8$, $\rho_{\text{ber.}} = 2.647 \text{ Mg m}^{-3}$, $\theta_{\text{max.}} = 27.48^\circ$, Zahl der gemessenen Reflexe 4137, davon 3142 unabhängig ($R_{\text{int.}} = 0.0306$), Absorptionskoeffizient 5.638 mm^{-1} , Zahl der freien Parameter 170, endgültige R -Werte ($I > 2\sigma I$), $R1 = 0.0387$, $wR2 = 0.0757$. – Die kristallographischen Daten (ohne Struktur faktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no. CCDC-100534“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: The Director, CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Telefax: Int. + 1223/336-033; E-mail: deposit@chemcrys.cam.ac.uk).
- [9] J. Ellermann, E. Köck, H. Burzlaff, *Acta Cryst. Sect. C* **1985**, *41*, 1437–1439.
- [10] G. Huttner, U. Weber, B. Sigwarth, O. Scheidsteiger, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 210–211; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 215–216; *Angew. Chem. Suppl.* **1982**, 414–416.
- [11] O. Mundt, H. Riffel, G. Becker, A. Simon, *Z. Naturforsch. B* **1984**, *39*, 317–322; A. J. Ashe III, E. G. Ludwig, J. Oleksyszyn, J. C. Huffman, *Organometallics* **1984**, *3*, 337–338.
- [12] G. Becker, H. Freudenblum, C. Witthauer, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1982**, *492*, 37–51.
- [13] M. Ates, H. J. Breunig, S. Gülec, W. Offermann, K. Häberle, M. Dräger, *Chem. Ber.* **1989**, *122*, 473–478.

Hochpräzise Gestaltnachahmung durch ein Difluortoluol-Desoxynucleosid – ein replikationsfähiger Ersatz für Thymidin**

Kevin M. Guckian und Eric T. Kool*

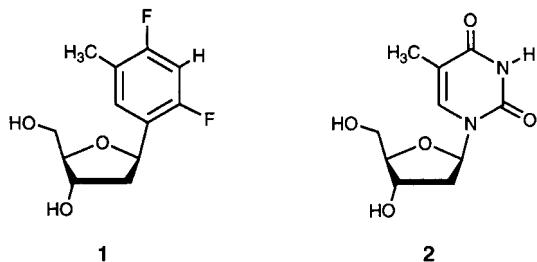
Bis vor kurzem führten die meisten Untersuchungen zur Genauigkeit der Replikation von DNA zu dem Schluß, daß in den komplementären Wasserstoffbrückenbindungen die Hauptursache für die energetische Selektivität zwischen den vier Nucleotiden im Übergangszustand der beginnenden Insertion zu suchen ist.^[1,2] Im Rahmen dieser Studien wurden zahlreiche modifizierte Nucleosidanaloge in DNA eingeführt, um die Ursachen von Mutagenese und DNA-Replikations-treue aufzuklären.^[3] Fast alle dieser Analoga unterschieden

[*] Prof. E. T. Kool, K. M. Guckian
Department of Chemistry, University of Rochester
Rochester, NY 14627 (USA)
Telefax: Int. + 716/473-6889
E-mail: etk@etk.chem.rochester.edu

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health gefördert (GM 52956). Wir danken Prof. T. R. Krugh für hilfreiche Diskussionen, Prof. W. D. Jones und Dr. R. Lachicotte für die Unterstützung bei der Bearbeitung der Kristallstrukturdaten sowie Dr. J. Perlstein für die Hilfe beim Anfertigen der Zeichnungen.

sich von ihren natürlichen Vorbildern sowohl in Gestalt und Größe als auch, was die Anordnung ihrer Wasserstoffbrückenbindungsstellen angeht. Obwohl diese Untersuchungen wertvolle Einblicke bescherten, ist es mit diesen Analoga äußerst schwierig, zwischen sterischen Effekten und Wasserstoffbrückenbindungen als Ursache ihrer verschiedenen Replikationseigenschaften zu unterscheiden.^[4,5]

Um dieses Problem anzugehen, entwarfen wir vier Nucleosidanaloge, welche die Struktur der natürlichen Nucleoside mit größtmöglicher Ähnlichkeit nachbilden sollten, ohne aber in der Lage zu sein, polare Wasserstoffbrückenbindungen zu bilden. Verbindung **1** etwa, ein Difluortoluol-Desoxynucleosid, wurde so entworfen, daß es die Gestalt des natürlich vorkommenden Nucleotids Thymidin **2** möglichst genau nachahmt. Seine Difluortoluol-„Base“ ist isoelektronisch mit Thymin, und der Ersatz der Carbonylgruppen durch C-F und der polaren N-H-Gruppen durch C-H sollte sicherstellen, daß **1** auch isoster zu **2** ist.^[4]



Eine Untersuchung der Eigenschaften von **1** ergab, daß diese Verbindung recht unpolär ist und die Difluortoluyleinheit in wässrigen sowie in organischen Lösungen keine Wasserstoffbrückenbindungen bildet. So kann man bei ihrer Titration mit Adeninderivaten in Chloroform keine Komplexbildung nachweisen. Außerdem bewirkt der Austausch von Thymin durch Difluortoluol in der Mitte eines 12 Basenpaare langen DNA-Doppelstrangs eine starke Destabilisierung, wobei der Difluortoluylrest zu keiner bevorzugten Paarung mit Adenin neigt, ganz im Unterschied zu Thymin, das Adenin um $3\text{--}4 \text{ kcal mol}^{-1}$ gegenüber den anderen drei Basen bevorzugt.^[6,7] Auf der Grundlage des Modells der komplementären Wasserstoffbrückenbindungsstellen als Ursache für die Replikationsgenauigkeit war erwartet worden, daß entsprechende Analoga bei der Replikation nur als sehr schlechte Enzymsubstrate dienen und eine sehr geringe Selektivität für die bevorzugte Einführung einer der natürlichen Basen aufweisen. Abweichend von dieser Erwartung bewies aber eine vor kurzem durchgeführte Studie, in der das Difluoranalogon als Ersatz für Thymidin in Templat-DNA-Strängen eingebaut war, daß **1** als exzellentes und hochspezifisches Templat für die Replikation wirkt. Das Klenow-Fragment (KF) der *E. coli*-DNA-Polymerase I akzeptiert diese Verbindung im Templat mit beinahe derselben Effizienz wie Thymin, und das Enzym inseriert Adenin mit hoher Selektivität in den komplementären Strang.^[5] Es behandelt dieses Nucleosid-Isoster also trotz seiner fehlenden Fähigkeit zur Bildung von H-Brücken so, als handele es sich um Thymidin. Unter der Voraussetzung, daß Größe, Gestalt und Konformation des Analogs denjenen von Thymidin entsprechen, drängt sich die Schlußfolgerung auf, daß die Bildung von H-Brücken für die Replikationstreue eine geringere Bedeutung hat, als bisher angenommen, und sterische Effekte eine wesentlich unmittelbarere Rolle spielen. Allerdings hängt dieser Schluß maß-

geblich davon ab, wie genau Größe, Gestalt und Konformation des unpolaren Isosters **1** mit denen von Thymidin übereinstimmen. Wir berichten hier über die Ergebnisse einer eingehenden Untersuchung der Struktur von **1** im Vergleich mit der von Thymidin. Dazu führten wir eine Röntgenstrukturanalyse von **1** sowie $^1\text{H-NMR}$ -Studien mit **1** und mit Thymidin in Lösung durch.

Für eine Einkristall-Röntgenstrukturanalyse geeignete Kristalle von **1** erhielten wir aus Ethanol. Eine Auswertung der Festkörperstruktur ergibt, daß das Nucleosidanalogon **1** die Struktur von Thymidin bemerkenswert gut nachbildet. Es kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1$, wobei sich drei Moleküle in der asymmetrischen Einheit befinden. Alle drei Moleküle nehmen die *anti-glycosidische* Konformation ein; die Zuckereinheiten liegen gefaltet vor: zwei in einer *S*-Konformation ($\text{C}2'\text{-endo}$) und eines in einer *N/S*-Zwischenkonformation ($\text{C}4'\text{-exo}$). Die mittleren Bindungslängen von **1** sowie entsprechende Literaturdaten für Thymidin^[8,9] sind in Abbildung 1 wiedergegeben, und in Tabelle 1 sind für eines der Moleküle in der asymmetrischen Einheit die Diederwin-

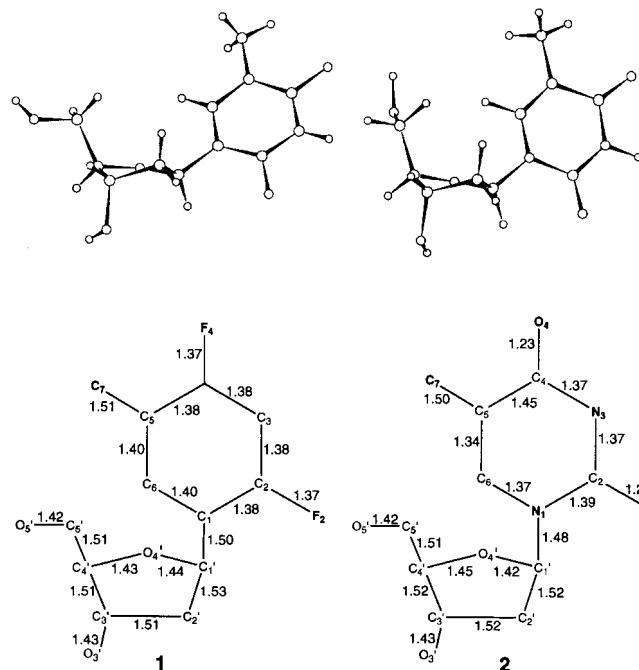


Abb. 1. Struktur des Difluortoluol-Desoxynucleosids **1** im Kristall im Vergleich mit der in Lit.[8,9] beschriebenen Struktur von Thymidin **2**. Oben: Strukturen der Nucleoside. In der asymmetrischen Einheit von **1** befinden sich drei unterschiedliche Moleküle. Unten: Bindungslängen [\AA] von **1** (über die drei Moleküle der asymmetrischen Einheit gemittelt) und von **2**.

Tabelle 1. Röntgenstrukturanalytisch bestimmte Strukturdaten von **1** und von Thymidin.

Nucleosid	Diederwinkel [$^\circ$][d]					
	C6-C2'	O4'-C3'	C1'-C4'	C2'-C5'	C(N)1-C3'	C3'-C1'
1[a]	-97.6	+32.2	-36.7	-91.5	+153.2	-9.0
Thymidin [b]	-79.5	+28.4	-37.2	-87.3	+147.8	-16.8
1[c]	H1'-H2'	H1'-H2''	H2'-H3'	H2''-H3'	H3'-H4'	C(N)1-H2'
Thymidin [c]	+157.2	+35.5	-73.4	+84.2	-93.9	+34.0
	+149.2	+21.9	-41.7	+87.2	-88.5	+33.8

[a] Daten für eines der drei Moleküle in der asymmetrischen Einheit (siehe Abb. 1).

[b] Daten aus Lit.[9]. [c] Die H-H-Diederwinkel resultieren aus der Kristallstruktur, wobei Atome zur Vervollständigung von sp^3 - und sp^2 -Geometrien ergänzt wurden. [d] Angegeben sind jeweils nur die Atome an den beiden Enden jeder, einen Diederwinkel definierenden Sequenz: z.B. C6-C2' für C6-C(N)1-C1'-C2'.

kel im Vergleich mit denen von Thymidin aufgeführt. Anhand dieser Daten wird deutlich, daß die Konformationen der Fünfringe in beiden Verbindungen im wesentlichen identisch sind. Die Diederwinkel C6-C(N)1-C1'-C2' (in der Tabelle kurz mit C6-C2' bezeichnet; sie entsprechen dem Drehwinkel um die glycosidische Bindung C(N)1-C1') sind sehr ähnlich, der Unterschied beträgt lediglich 18°. Die Bindungslängen der Thymin- und der Difluortoluolbase gleichen sich fast alle bis auf weniger als 0.07 Å. Der Hauptunterschied liegt in den im Vergleich mit den C=O-Bindungen (1.23 und 1.21 Å) längeren C-F-Bindungen (im Mittel 1.37 bzw. 1.37 Å).

Bedeutsam sind auch die nichtkovalenten Wechselwirkungen, die bei Thymidin und beim Difluortoluol-Desoxynucleosid im Kristall auftreten (Abb. 2). In beiden Strukturen bilden die 3'- und 5'-Hydroxygruppen intermolekulare H-Brücken. Bei **1** handelt es sich dabei allerdings um H-Brücken zwischen den Hydroxygruppen verschiedener Zuckerreste. In Thymidin binden die Carbonyl- und NH-Gruppen, die in der DNA die Watson-Crick-H-Brücken bilden, über H-Brücken an die Hydroxygruppen benachbarter Zuckerreste.^[9] Das Desoxynucleosid **1** geht keine H-Brücken oder starke nichtkovalente Wechselwirkungen^[10] mit den Fluoratomen des

aromatischen Rings ein (es treten lediglich mehrere nichtkovalente F-H-Wechselwirkungen mit F-H-Abständen von 2.49–2.79 Å auf).^[10,11] In der Kristallpackung liegen die unpolaren Difluortolygruppen und die polareren, H-Brückenbildenden Furanosegruppen in voneinander getrennten Bereichen vor (Abb. 2B). Schließlich sind in der Kristallstruktur von Thymidin die heterocyclischen Basen linear gestapelt; dagegen tritt bei den Difluortolyringen keine Stapelung auf.

Um diese Struktureinzelheiten auch in Lösung zu untersuchen, führten wir eine Konformationsanalyse von **1** und von Thymidin in D₂O durch Messung der NMR-Kopplungskonstanten der Furanoseringe durch (Tabelle 2).^[12,13] Die Pro-

Tabelle 2. ¹H-NMR-Daten (in D₂O) für **1** und Thymidin.

Chemische Verschiebung δ	H1'	H2'	H2''	H3'	H4'	H5'
1	5.42	2.21	2.33	4.48	4.08	3.75
Thymidin	6.35	2.42	2.42	4.52	4.06	3.85
Kopplungs-konstanten J [Hz]	H1'-H2'	H1'-H2''	H2'-H3'	H2''-H3'	H3'-H4'	H2'-H2''
1	10.37	5.80	5.79	ca. 1.0	2.44	13.58
addierte J-Werte [Hz]	Σ(2'3'+2''3') Σ(1')	Σ(2')	Σ(2'')	Σ(3')		
1	6.80	16.17	29.74	20.88	9.73	
Thymidin	10.68	13.74	[a]	[a]	14.65	

[a] Nicht bestimmt.

tonensignale der Zuckerringe wurden für beide Verbindungen vollständig zugeordnet und die Kopplungskonstanten mit einem 500-MHz-Spektrometer bestimmt. Der Hauptunterschied bezüglich der Furanosesignale beider Verbindungen besteht in der Lage der H1'-Protonensignale: Das Signal für Thymidin ist im Vergleich mit dem von **1** um $\Delta\delta = 0.93$ tieffeldverschoben, was mit den stark unterschiedlichen Polaritäten der glycosidischen Bindungen im Einklang ist.

Trotz dieser großen Polaritätsunterschiede der Glycosidbindungen sind sich die Konformationen der Zuckerringe von **1** und **2** sehr ähnlich. Eine Analyse unter Verwendung bekannter Methoden^[13] ermöglichte uns die Zuordnung der Konformationen beider Desoxynucleoside zum *S*-Typ; der *S*-Charakter der Zuckerkonformation beträgt bei Thymidin 70% und bei **1** 90–100%. Zusätzliche NOE-NMR-Untersuchungen mit beiden Verbindungen lieferten weitere Hinweise auf die bevorzugten Glycosid-Konformationen in Lösung. Die Einstrahlung bei der Frequenz des H6-Signals führte zu einem NOE-Effekt an der C5-Methylgruppe, der größer ist als der an H1', wobei die Verstärkungsverhältnisse bei **1** und Thymidin sehr ähnlich sind. Dies stimmt mit der Annahme einer bevorzugten *anti*-glycosidischen Konformation beider Verbindungen in Lösung überein. Wir schließen daraus, daß das Difluortoluol-Nucleosid insgesamt nahezu die gleiche Gesamtkonformation einnimmt wie Thymidin, obwohl die natürliche (und stärker polarisierte) glycosidische C-N-Bindung durch eine C-C-Bindung ersetzt ist.

Diese Untersuchungen sind von einiger Bedeutung bei der Beantwortung der Frage, wie DNA mit so hoher Spezifität aufgebaut wird. Wie wir zeigten, wird das Difluortoluol-Nucleosid durch das KF mit einer Spezifität und Effizienz repliziert, die der von Thymidin beim Einbau in synthetische DNA-Template nahekommt.^[5] Es ist klar, daß die Fluoratome in **1**, welche die Thymidin-Carbonylgruppen ersetzen, beson-

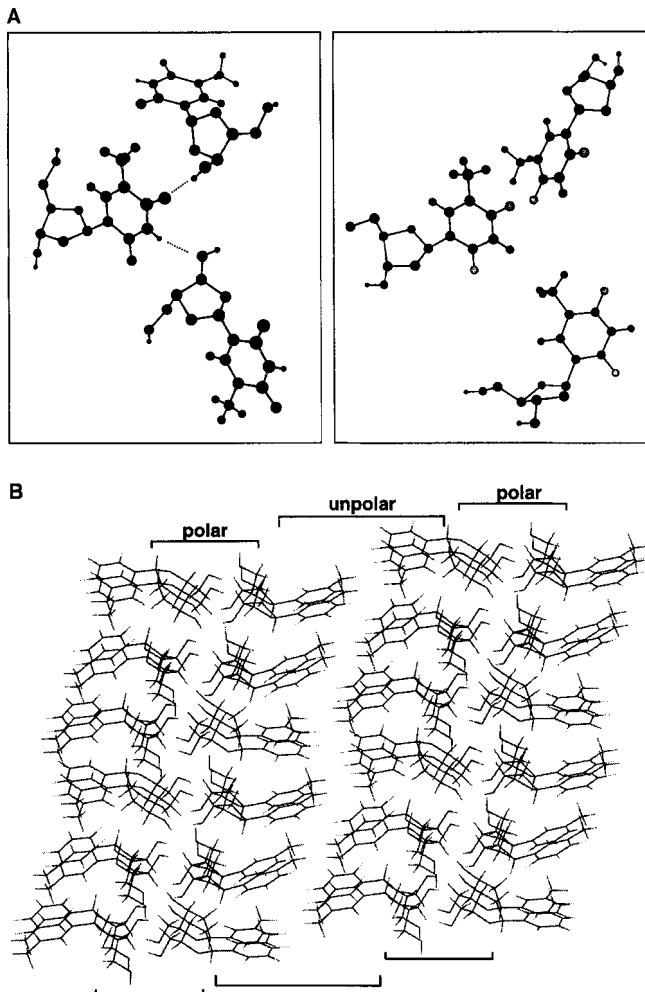


Abb. 2. Intermolekulare Anordnung in den Kristallstrukturen von Thymidin^[9] und vom Nucleosid **1**. A) Lokale Umgebung um die aromatischen „Basen“ der Nucleoside. Zu beachten sind die beiden H-Brücken zwischen den Thyminbasen sowie das Fehlen derartiger Wechselwirkungen bei **1**. B) Packung von **1** im Kristall. Deutlich erkennbar ist, daß die polaren Desoxyriboseeinheiten und die unpolaren Difluortolygruppen einander ausweichen und sich in getrennten Bereichen befinden.

ders in wäßriger Lösung nicht oder nur sehr wenig zur Bildung von H-Brücken neigen; dies wird durch das Fehlen entsprechender nichtkovalenter Wechselwirkungen im Kristall unterstrichen. Zudem deutet der im Vergleich mit Thymidin äußerst unpolare Charakter von **1** bei der Verteilung zwischen Octanol und Wasser auf große Unterschiede zwischen dem Thyminheterocylus und Difluortoluol hinsichtlich der Lokalisierung der elektrostatischen Ladungen hin.^[7] Diese Befunde stützen den Eindruck, daß eher die strukturelle als die elektrostatische Ähnlichkeit von **1** mit Thymidin die Ursache für seine spezifische Replikation ist.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse entwickelten wir ein neues Modell zur Klärung der physikalischen Ursprünge der DNA-Replikationstreue. Das KF baut bei der DNA-Synthese in nur einem von 10^3 bis 10^4 Fällen ein falsches Nucleotid ein, und nahezu die gleiche Selektivität wird für den Einbau von A (statt C, T, G) als Komplement von **1** beobachtet.^[5] Als Hauptfaktor für diese Selektivität sehen wir daher den sterischen Ausschluß der falschen Nucleotide an. In diesem Modell befindet sich die aktive Stelle des Enzyms in einer starren Tasche, die durch die umgebende Enzymstruktur und die DNA-Base des Templatstranges gebildet wird. Die Gegenwart von Thymin (oder von einem isosteren Ersatz) im Templat schließt durch sterische Hinderung ihrer DNA-Basen oder ihrer Solvathüllen Guanin-, Cytosin- und Thymin-Nucleotide aus. Lediglich Adenin kann aufgrund seiner perfekt passenden Größe und Gestalt in die Tasche eindringen und an die aktive Stelle des Enzyms gelangen. Diese Hypothese wird gegenwärtig in einer Reihe von Untersuchungen überprüft.

Die Befunde unserer Untersuchungen zu den sterischen Eigenschaften und zur Konformation von **1** in Lösung sowie im Festkörper deuten darauf hin, daß dieses Difluortoluol-Nucleosid ein nahezu perfektes Isoster von Thymin ist – sowohl im Hinblick auf die Bindungslängen als auch auf die Gesamtkonformationen. Daher könnte dieses unpolare Isoster unter anderem in Studien zur molekularen Erkennung (z. B. zur Protein-DNA-Erkennung) und zu katalytischen Vorgängen, bei denen Thymin eine Rolle spielt (z. B. zur enzymatischen Nucleinsäuresynthese), von allgemeinem Nutzen sein.

Experimentelles

Röntgenstrukturanalyse: Einkristalle des Komplexes wurden aus einer konzentrierten Ethanollösung gezüchtet. Ein farbloser Kristall der ungefähren Abmessungen $0.56 \times 0.24 \times 0.08$ mm³ wurde mit Epoxidharz auf eine Glasfaser montiert und bei Raumtemperatur in einem Röntgendiffraktometer vermessen. Die Röntgenintensitätsdaten wurden auf einem Standard-Siemens-SMART-CCD-Area-Detector-System mit einer Normalfokus-Molybdänanoden-Röntgenröhre gesammelt, die mit 1.5 kW (50 kV, 30 mA) betrieben wurde. Insgesamt 1321 Datensätze (1.3 Hemisphären) wurden unter Verwendung der Narrow-frame-Methode gesammelt, die ω -Scan-Schrittweiten betragen 0.3° und die Meßzeiten 10 s pro Datensatz bei einer Detektor-Kristall-Entfernung von 5.094 cm ($2\theta_{\max} = 56.52^\circ$). Die Datensätze wurden mit dem Programm SAINT der Firma Siemens integriert und ergaben insgesamt 10400 Reflexe, von denen 6606 unabhängig waren ($R_{\text{int}} = 4.25\%$, $R_{\text{sigma}} = 6.14\%$ mit $R_{\text{int}} = \sum |F_o^2 - F_c^2| / (\sum |F_o^2|)$ und $R_{\text{sigma}} = \sum [\sigma(F_o^2)] / (\sum |F_o^2|)$). Kristallstrukturdaten: monoklin, $a = 13.9262(2)$, $b = 6.4932(0)$ und $c = 19.8156(5)$ Å, $\beta = 104.574(1)^\circ$ und $V = 1753.18(5)$ Å³ ($T = 23^\circ\text{C}$); Kleinste-Fehlerquadrate-Verfeinerung eines dreidimensionalen Zentroids von mehr als 1000 Reflexen (das Integrationsprogramm SAINT liefert unvernünftig kleine Fehlerbereiche bei den Zellkonstanten, da systematische Fehler nicht berücksichtigt werden). Es wurde aufgrund des systematischen Fehlens von Reflexen und der Intensitätsstatistik unter Verwendung des Programms XPREP (Siemens SHELXTL 5.04) die Raumgruppe $P2_1$ zugeordnet. Die Struktur wurde mit Direkten Methoden (enthalten im Programm paket SHELXTL) gelöst und mit der Volle-Matrix-kleinste-Fehlerquadrat-Methode gegen F^2 verfeinert. Bei $Z = 6$ gibt es pro asymmetrischer Einheit drei unabhängige Moleküle. Zwar wurde bis $2\theta_{\max} = 56.52^\circ$ integriert, doch gab es im wesentlichen keine Daten mit $\theta > 45^\circ$. Daher wurden diese Datensätze bei

der Verfeinerung weggelassen, so daß insgesamt 7118 Reflexe, davon 4101 unabhängig, erhalten wurden ($R_{\text{int}} = 3.68\%$, $R_{\text{sigma}} = 4.37\%$; 3548 Reflexe mit $> 2\sigma(I)$). Alle Nichtwasserstoffatome wurden anisotrop verfeinert und die Wasserstoffatome auf idealisierten Positionen eingefügt, so daß ein Daten: Parameter-Verhältnis von etwa 10:1 resultierte. GOF = 1.157, $R_i = 4.98\%$ ($I > 2\sigma(I)$), $wR_2 = 10.73\%$ ($I > 2\sigma(I)$) ($\text{GOF} = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)]^{1/2}$, wobei mit n und p die Zahl der Daten bzw. der Parameter bezeichnet sind; $R_i = (\sum |F_o| - |F_c|) / \sum |F_o|$; $wR_2 = [\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)]^{1/2}$ mit $w = 1 / [a^2(F_o^2) + (a \cdot P)^2 + b \cdot P]$ und $P = [\max(F_o^2, 0) + 2(F_c^2)] / 3$. Die kristallographischen Daten (ohne Struktur faktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-100522“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: The Director, CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Telefax: Int. + 1223/336-033; E-mail: deposit@chemcrys.cam.ac.uk).

Eingegangen am 11. Juni 1997 [Z 10533]

Stichwörter: Kohlenhydrate • Konformation • Nucleoside • Strukturaufklärung • Wasserstoffbrücken

- [1] a) A. Kornberg, T. A. Baker, *DNA Replication*, 2. Aufl., Freeman, New York, **1992**, S. 113; b) L. A. Loeb, T. A. Kunkel, *Ann. Rev. Biochem.* **1982**, 52, 429; c) M. F. Goodman, S. Creighton, L. B. Bloom, J. Petruska, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1993**, 28, 83.
- [2] Zur Replikationsgenauigkeit siehe auch folgende Lehrbücher: a) J. D. Watson, N. H. Hopkins, J. W. Roberts, J. A. Steitz, A. M. Weiner, *Molecular Biology of the Gene*, 4. Aufl., Benjamin/Cummings, Menlo Park, **1987**, S. 283; b) L. Stryer, *Biochemistry*, 4. Aufl., Freeman, New York, **1995**, S. 89.
- [3] Siehe z.B.: a) E. Freese, *J. Mol. Biol.* **1959**, 1, 87; b) L. C. Sowers, G. V. Fazakerley, R. Eritja, B. E. Kaplan, M. F. Goodman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, 83, 5434; c) R. Eritja, D. M. Horowitz, P. A. Walker, J. P. Ziehler-Martin, M. S. Boosalis, M. F. Goodman, K. Itakura, B. E. Kaplan, *Nucleic Acids Res.* **1986**, 14, 8135; d) B. Singer, S. Spenger, *Biochemistry* **1981**, 20, 1127; e) P. Strazewski, C. Tam, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 37; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 36; f) S. Shubutani, M. Takeshita, A. P. Groisman, *Nature* **1991**, 349, 431; g) D. C. Ward, E. Reich, *J. Biol. Chem.* **1972**, 247, 705.
- [4] B. A. Schweitzer, E. T. Kool, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7238.
- [5] S. Moran, R. X.-F. Ren, S. Rumney, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 2056.
- [6] B. A. Schweitzer, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 1863.
- [7] S. Moran, R. X.-F. Ren, E. T. Kool, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, 94, 10506.
- [8] D. W. Young, P. Tollin, H. R. Wilson, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1969**, 25, 1423.
- [9] A. N. Chekhlov, *J. Struct. Chem.* **1995**, 36, 155.
- [10] Als starke nichtbindende F-H-Wechselwirkungen werden hier solche mit F-H-Abständen ≤ 2.35 Å bezeichnet [11].
- [11] J. A. K. Howard, V. J. Hoy, D. O'Hagan, G. T. Smith, *Tetrahedron* **1996**, 52, 12613.
- [12] S. S. Wijmenga, M. M. W. Moeren, C. W. Hilbers in *NMR of Macromolecules: A Practical Approach* (Hrsg.: G. K. Roberts), Oxford University Press, Oxford, **1993**, S. 258.
- [13] L. J. Rinkel, C. Altona, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1987**, 4, 621.