

## 7-Desaza-2'-desoxyxanthosin-Dihydrat bildet H<sub>2</sub>O-haltige Nanoröhren mit C-H...O-Wasserstoffbrücken\*\*

Frank Seela,\* Thomas Wiglenda, Helmut Rosemeyer, Henning Eickmeier und Hans Reuter\*

Die Festkörperstruktur des 7-Desaza-2'-desoxyxanthosin-Dihydrrats **1**·2H<sub>2</sub>O<sup>[1]</sup> deckt einige interessante Befunde auf: Neben einer intramolekularen Wasserstoffbrücke (N3-H...OH-5') treten weitere Wasserstoffbrücken auf, die ein supramolekulares Aggregat aus vier Molekülen **1** stabilisieren. Dabei entsteht ein nahezu flaches Tetramer (Abbildung 1) mit einem ovalen Hohlraum der ungefähren Abmessung 9.5 × 6.5 × 3.0 Å ( $\pm 0.5$  Å). Übereinander gestapelte Tetramere bilden eine columnare, Nanoröhren-artige Struktur (Abbildung 2).

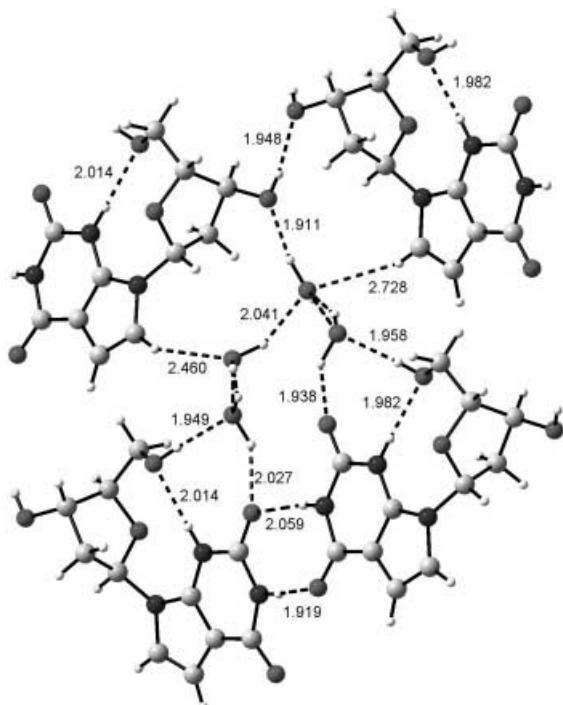


Abbildung 1. Länge der Wasserstoffbrücken im H<sub>2</sub>O-haltigen Tetramer aus vier Molekülen **1**.

[\*] Prof. Dr. F. Seela, Dipl.-Chem. T. Wiglenda, Dr. H. Rosemeyer  
Laboratorium für Organische und Bioorganische Chemie  
Institut für Chemie, Universität Osnabrück  
Barbarastraße 7, 49069 Osnabrück (Deutschland)  
Fax: (+49) 541-969-2370  
E-mail: Frank.Seela@uni-osnabrueck.de

Prof. Dr. H. Reuter, H. Eickmeier

Anorganische Chemie II  
Institut für Chemie, Universität Osnabrück  
Barbarastraße 7, 49069 Osnabrück (Deutschland)  
Fax: (+49) 541-969-3323  
E-mail: hreuter@uni-osnabrueck.de

[\*\*] Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Unterstützung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



Abbildung 2. Nanoröhre aus gestapelten Tetrameren (siehe Abbildung 1).

Die Synthese von **1**<sup>[2]</sup> wurde wie früher beschrieben<sup>[3]</sup> durchgeführt. **1** kristallisiert aus iPrOH/H<sub>2</sub>O/MeOH (3:1:1) in Gegenwart geringer Anteile Essigsäure als Dihydrat in der monoklinen Raumgruppe *P*2<sub>1</sub> (siehe Hintergrundinformationen).<sup>[4]</sup> Die Molekülstruktur im Kristall zeigt, dass **1** in der 2,4-Dioxoform vorliegt (Abbildung 3); die beiden Oxogruppen liegen etwas außerhalb der Ringebene.

Der Torsionswinkel  $\chi^1$  (O4'-C1'-N9-C4),<sup>[5]</sup> der die Orientierung der Base relativ zum Zuckerrest beschreibt (*syn/anti*), beträgt 61.9°; damit liegt das Nucleosid **1** in der *syn*-Konformation vor. Aus einer Übersicht<sup>[6]</sup> über nahezu 300 Kristallstrukturanalysen von Nucleosiden geht hervor, dass **1**

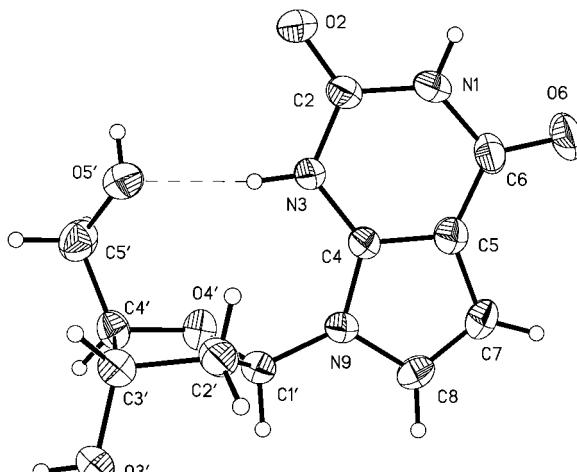
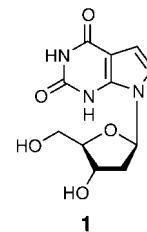


Abbildung 3. Molekülstruktur im Kristall von **1**·2H<sub>2</sub>O. Die intramolekulare H-Brücke, die die *syn*-Konformation fixiert, ist gestrichelt eingezeichnet. Ellipsoide repräsentieren 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit; H-Atome nicht maßstabsgetreu.

zu einer kleinen Gruppe von ca. 50 Strukturen mit N-glycosylierter *syn*-Konformation gehört. Die für 7-Desazapurin-Nucleoside ungewöhnliche<sup>[7]</sup> *syn*-Konformation wird in **1** durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem H-Atom an N3 und dem O-Atom der 5'-Hydroxygruppe (Abstand 1.98 Å)<sup>[8]</sup> fixiert. Dadurch wird der exocyclische 5'-CH<sub>2</sub>OH-Rest in eine +sc[+g]-Konformation mit einem Torsionswinkel  $\gamma = 52^\circ$  für C3'-C4'-C5'-O5' gezwungen. Der Furanosering nimmt eine <sup>2</sup>T<sub>3</sub>-Konformation („South“) mit der Puckering-Amplitude  $\phi_m = 35.9^\circ$  und dem Pseudorotations-Phasenwinkel  $P = 155.1^\circ$  ein.<sup>[9]</sup> Die Parameter liegen in einem für Nucleoside mit *syn*-Konformation typischen Bereich.<sup>[6]</sup> Die diskrete Struktur von **1** bleibt auch in wässriger Lösung erhalten, was durch eine Analyse der vicinalen <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-NMR-Kopplungen der Zuckereinheit von **1** und durch [<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H]-NOE-Differenzspektroskopie belegt werden konnte.<sup>[10]</sup>

Assoziate von Guanin- und Isoguanintetrameren mit mono- und divalenten Kationen wurden als grundlegendes Strukturelement in supramolekularen Materialien identifiziert.<sup>[11]</sup> Ähnliche Tetramere bilden auch die Grundeinheit von Guanin-, Isoguanin- und 7-Desazaisoguanin-haltiger telomerer Quadruplex-DNA und -RNA sowie von „Guanin-Drähten“.<sup>[12]</sup> Jeder der ovalen Hohlräume enthält vier H<sub>2</sub>O-Moleküle, von denen jeweils zwei durch Wasserstoffbrücken verknüpft sind. Die vier Gastmoleküle bilden ein Netzwerk aus Wasserstoffbrücken, durch das die Nucleosid-Wirte untereinander verbrückt werden. Zwei konventionelle und ein unkonventioneller Wasserstoffbrückentyp wurden identifiziert: Normale Wasserstoffbrücken findet man zwischen der 3'- und der 5'-OH-Gruppe und dem O-Atom eines H<sub>2</sub>O-Moleküls (O-H···O) sowie zwischen O2 und einem H<sub>2</sub>O-Molekül (=O···H-O). Ungewöhnliche Wasserstoffbrücken treten dagegen zwischen den O-Atomen von zweien der H<sub>2</sub>O-Moleküle und dem H-Atom an C8 auf (Abbildung 1; 2.460 und 2.728 Å).<sup>[13]</sup> Die beiden O-Atome sind unterschiedlich koordiniert: Das eine weist eine verzerrt tetraedrische, das andere eine verzerrt trigonal-bipyramidale Koordinationsphäre auf. In Abbildung 2 erkennt man, dass alle H<sub>2</sub>O-Moleküle des gleichen Typs entlang der Nanoröhren gestapelt sind.

Die Fähigkeit von **1**, über seine Pyrrol-Wasserstoffatome Wasserstoffbrücken oder inverse Wasserstoffbrücken<sup>[14]</sup> zu bilden, sollte von enormer Bedeutung für die Struktur, Solvatation und Stabilität von Nucleinsäuren<sup>[15]</sup> mit solchen Bausteinen sein. Dies gilt auch für ähnliche Nucleoside wie 7-Desaza-2'-desoxyisoguanosin.<sup>[16]</sup> Wegen ihrer Isosterie zu den normalen Purin-Nucleosiden passen sich solche basenmodifizierten Nucleoside gut in reguläre B-DNA-Doppelhelixstrukturen ein;<sup>[17]</sup> auch über den Einbau in triplexbildende Oligonucleotide wurde berichtet.<sup>[18]</sup> Die Pyrrol-Wasserstoffatome C8-H und C7-H liegen in der großen Furche der Helix und sind daher potentielle Kontaktpunkte für eine Solvatation durch H<sub>2</sub>O-Moleküle. Entgegen bisheriger Meinung weisen DNA-Doppelstränge mit Abschnitten aus 7-Desazapurinbasen nicht notwendigerweise eine hydrophobe große Furche auf, sondern können, ähnlich wie eine aus normalen Purinbasen aufgebaute DNA, H<sub>2</sub>O-Moleküle binden.

Darüber hinaus ergibt sich die Möglichkeit, dass 7-Desazapurin-Nucleoside Basenpaarmotive unter Beteiligung von C8/C7-H···N/O-Bindungen bilden. Analoge anziehende C-H···O/N-Wechselwirkungen wurden bereits für U-U-Basenpaare („Kalkutta-Basenpaar“), für A-A-Basenpaare und innerhalb der Z-DNA röntgenkristallographisch und durch quantenchemische Rechnungen für Modell-Basenpaare nachgewiesen.<sup>[15]</sup> Obwohl der Beitrag einer C-H···X-Bindung zur Gesamtenergie wesentlich geringer ist als der einer normalen Wasserstoffbrücke,<sup>[15c]</sup> wurden solche Bindungen sowohl für die Erkennung von Pyrimidinbasen in parallelen DNA-Triplexen<sup>[19]</sup> als auch für das Guanin-Ethenoadenin-Basenpaar postuliert.<sup>[20]</sup> Solche Wasserstoffbrücken können sich prinzipiell auch in Nucleinsäuren bilden, die andere 7-Desazapurinbasen enthalten. In diesem Zusammenhang wird derzeit die Basenpaarung mit **1** und dessen Potential zur Bildung hochmolekularer Aggregate auf oligomerer Ebene wie Triplexe oder Tetraplexe untersucht. Darüber hinaus ermöglichen Verbindungen wie **1** die Aufbewahrung oder den Transport hydrophiler Moleküle im Innern der Nanoröhren.<sup>[21]</sup>

Eingegangen am 28. August 2001 [Z 17808]

- [1] Systematischer Name: 7-(2-Desoxy- $\beta$ -D-erythro-pentofuranosyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-(1H,3H)-dion, c<sup>7</sup>X<sub>d</sub>; wir verwenden hier durchgehend die Purinzählweise.
- [2] J. F. Milligan, S. H. Krawczyk, S. Wadwani, M. D. Matteucci, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 327–333.
- [3] F. Seela, H. Driller, U. Liman, *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 312–320.
- [4] Kristallstrukturuntersuchungen für **1**·2H<sub>2</sub>O (C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>; c<sup>7</sup>X<sub>d</sub>): Siemens-P4-Diffraktometer,  $M_r = 303.28$ , Kristallabmessungen 0.42 × 0.30 × 0.24 mm, monoklin, Raumgruppe  $P2_1$ ,  $a = 4.891(2)$ ,  $b = 17.746(4)$ ,  $c = 15.467(4)$  Å,  $\beta = 92.53(2)^\circ$ ,  $V = 1341.3(6)$  Å<sup>3</sup>,  $Z = 4$ ,  $\rho_{\text{ber.}} = 1.502 \text{ Mg m}^{-3}$ ,  $\theta_{\text{max}} = 25.01^\circ$ ,  $\mu = 0.126 \text{ mm}^{-1}$  (Mo<sub>Kα</sub>,  $\lambda = 0.71073$  Å),  $2\theta/\omega$ -Scans,  $T = 293(2)$  K, 5418 gemessene, 4698 unabhängige Reflexe; 4698 Reflexe für die Verfeinerung, davon 4271 mit  $I > 2\sigma(I)$ ,  $T_{\min} = 0.1333$ ,  $T_{\max} = 0.1778$ ; Lösung mit Direkten Methoden (SHELXS 97: G. M. Sheldrick, *Program for the Solution of Crystal Structures*, Universität Göttingen, 1997), Verfeinerung gegen  $F^2$  mit SHELXL (G. M. Sheldrick, *Program for the Refinement of Crystal Structures*, Universität Göttingen, 1997), 404 unabhängige Parameter, H-Atome wurden unabhängig oder invariabel verfeinert,  $R = 0.0463$ ,  $wR = 0.1609$ , Restelektronendichte min./max. –0.299/0.228 e Å<sup>−3</sup>. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-169203“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [5] IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, *Eur. J. Biochem.* **1983**, *131*, 9–15.
- [6] S. S. Vasudevan, M. Sundaralingam, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2001**, *18*, 824–831.
- [7] V. Zabel, W. Saenger, F. Seela, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1987**, *43*, 131–134; F. Seela, H. Rosemeyer, M. Zulauf, H. Reuter, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1996**, 2373–2376; F. Seela, H. Rosemeyer, M. Zulauf, Y. Chen, G. Kastner, H. Reuter, *Liebigs Ann. Chem.* **1997**, 2525–2530.
- [8] a) B. Lesyng, C. Marck, W. Saenger, *Z. Naturforsch. C* **1984**, *39*, 720–724; b) G. Koyama, H. Nakamura, H. Umezawa, Y. Itaya, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1976**, *32*, 969–972; c) F. Seela, H. Debelak, H. Reuter, G. Kastner, I. A. Mikhailopulo, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 1295–1308.
- [9] S. T. Rao, E. Westhof, M. Sundaralingam, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1981**, *37*, 421–425.

- [10] Die bevorzugte Konformation von **1** in Lösung ( $D_2O$ ) wurde mit gängigen Methoden ermittelt: a) H. Rosemeyer, F. Seela, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 2341–2345; b) H. Rosemeyer, G. Todt, B. Golankiewicz, Z. Kazimierczuk, W. Bourgeois, U. Kretschmer, H.-P. Muth, F. Seela, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5784–5790. Pseudorotationsparameter und Konformationen der C4'-C5'-Bindung von **1** in  $D_2O$ : 77 % South,  $P_S = 164.7^\circ$ ,  $\phi_S = 32.5^\circ$ ; 23 % North,  $P_N = 19.0^\circ$ ,  $\phi_N = 36.0^\circ$ ; 83 %  $\gamma^{(+)}g$ , 8 %  $\gamma^l$ , 8 %  $\gamma^{(-)}g$ ; Sättigung des C8-H-Signals ergibt NOE-Werte von 7.3 % an H1', 2.3 % an H2' und 0.9 % am H3'.
- [11] a) W. Guschlbauer, J. F. Chantot, D. Thiele, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1990**, 8, 491–511; b) A. L. Marlow, E. Mezzina, G. P. Spada, S. Masiero, J. T. Davis, G. Gottarelli, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5116–5123; c) M. Cai, A. L. Marlow, J. C. Fettinger, D. Fabris, T. J. Haverlock, B. A. Moyer, J. T. Davis, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1339–1341; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1283–1285.
- [12] a) P. Schultze, N. V. Hud, F. W. Smith, J. Feigon, *Nucleic Acids Res.* **1999**, 27, 3018–3028; b) C. Kang, X. Zhang, R. Ratliff, R. Moyzis, A. Rich, *Nature* **1992**, 356, 126–131; c) D. R. Goodlett, D. G. Kamp II, C. C. Hardin, M. Corrigan, R. D. Smith, *Biol. Mass Spectrom.* **1993**, 22, 181–183; d) F. Seela, C. Wei, A. Melenewski, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24, 4940–4945; e) T. C. Marsh, J. Vesenka, E. Henderson, *Nucleic Acids Res.* **1995**, 23, 696–700.
- [13] a) R. Taylor, O. Kennard, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 5063–5070; b) G. R. Desiraju, *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 441–449.
- [14] P. Hobza, V. Špirko, H. L. Selzle, E. W. Schlag, *J. Phys. Chem. A* **1998**, 102, 2501–2504.
- [15] a) M. C. Wahl, M. Sundaralingam, *Trends Biochem. Sci.* **1997**, 22, 97–102; b) I. Berger, M. Egli, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 12116–12121; c) M. Brandl, M. Meyer, J. Sühnel, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2001**, 18, 545–555; d) M. Egli, R. V. Gessner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 180–184.
- [16] F. Seela, C. Wei, H. Reuter, G. Kastner, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1999**, 55, 1335–1337.
- [17] a) F. Seela, M. Zulauf, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 1781–1790; b) N. Ramzaeva, C. Mittelbach, F. Seela, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 1809–1822.
- [18] a) T. Le Dean, L. Perrouault, D. Praseuth, N. Habhou, J. L. Decout, N. T. Thuong, J. Lhomme, C. Hélène, *Nucleic Acids Res.* **1987**, 15, 7749–7760; b) H. E. Moser, P. B. Dervan, *Science* **1987**, 238, 645–650; J. Milligan, S. Krauczyk, S. Wadwani, M. Matteucci, *Nucleic Acids Res.* **1993**, 21, 327–333.
- [19] J. Marfurt, C. Leumann, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 184–187; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 175–177.
- [20] G. A. Leonard, K. E. McAuley-Hecht, N. J. Gibson, T. Brown, W. P. Watson, W. N. Hunter, *Biochemistry* **1994**, 33, 4755–4761.
- [21] D. T. Bong, T. D. Clark, J. R. Granja, M. R. Ghadiri, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 1016–1041; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 988–1011.

## RNA-Konformationsgleichgewichte und der Einfluss der Methylierung von Nucleobasen auf die Gleichgewichtslage\*\*

Claudia Höbartner, Marc-Olivier Ebert, Bernhard Jaun und Ronald Micura\*

Die konstitutionelle Vielfalt der RNA wird durch mehr als 90 natürlich vorkommende, chemisch modifizierte Nucleoside eindrucksvoll belegt.<sup>[1, 2]</sup> Die Aufklärung der Funktion modifizierter Nucleoside in biologischen Prozessen ist Gegenstand intensiver Forschung. Kürzlich wurde z. B. berichtet, dass die Modifikationen bestimmter Nucleoside in einer menschlichen mitochondrialen tRNA<sup>Lys</sup> für die korrekte Bildung der dreidimensionalen Kleeblattstruktur unverzichtbar sind.<sup>[3]</sup> Das entsprechende unmodifizierte In-vitro-Transkript bildete keine Kleeblattstruktur, sondern eine aufgeweitete Haarnadelschleife. Soweit uns bekannt ist, sind dies die ersten und bis jetzt einzigen Studien, die die signifikanten Auswirkungen von Nucleosidmodifikationen auf RNA-Faltungsprozesse mit experimentellen Daten belegen. Diese Ergebnisse veranlassten uns, den Einfluss der Methylierung von Nucleobasen in kurzen palindromen Oligoribonucleotidduplexen systematisch zu untersuchen. Dabei fanden wir, dass der Austausch einzelner Nucleoside durch ihre methylierten Äquivalente wie 1-Methylguanosin ( $m^1G$ ),  $N^2,N^2$ -Dimethylguanosin ( $m^2G$ ),  $N^6,N^6$ -Dimethyladenosin ( $m^6A$ ) oder 3-Methyluridin ( $m^3U$ ) zur Bildung von Haarnadel-anstelle von Duplexstrukturen führt.<sup>[4]</sup> Diese bemerkenswerte Änderung des Sekundärstrukturmotivs bildet die Grundlage für die hier vorgestellten Untersuchungen. Wir berichten über einzelsträngige Oligoribonucleotide, die in zwei unterschiedlichen, miteinander im Gleichgewicht stehenden Konformationen vorliegen. Die Lage des monomolekularen Gleichgewichts wird durch die Methylierung bestimmter Nucleobasen signifikant verschoben.

Das Methylierungsmuster der untersuchten Sequenzen entspricht jenem der natürlich vorkommenden Helix 45 am 3'-Ende der rRNA in der kleinen ribosomalen Untereinheit (Abbildung 1).<sup>[5]</sup> Die beiden in der Schleife aufeinanderfolgenden  $m^6A$  Nucleotide sind in Bakterien und Eukaryonten beinahe universell konserviert. Diese modifizierten Adenosine sind für die Funktion bedeutsam, jedoch ist der exakte

[\*] Dr. R. Micura, DI C. Höbartner

Leopold Franzens Universität, Institut für Organische Chemie  
Innrain 52 a, 6020 Innsbruck (Österreich)

Fax: (+43) 512-507-2892

E-mail: ronald.micura@uibk.ac.at

Dipl.-Chem. M.-O. Ebert, Prof. Dr. B. Jaun

Laboratorium für Organische Chemie

Universitätstrasse 16, 8092 Zürich (Schweiz)

[\*\*] Wir danken dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (P13216-CHE und P15042) für die finanzielle Unterstützung sowie Dr. K. Breuker (Innsbruck) für die massenspektrometrische Analyse und Prof. R. Konrat (Innsbruck) für die Hilfe bei den NMR-Experimenten. R.M. dankt Prof. B. Kräutler (Innsbruck) für seine großzügige Unterstützung.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.