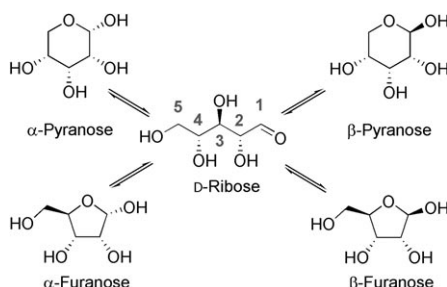


Die Kristallstruktur von D-Ribose – endlich!*

Dubravka Šišak, Lynne B. McCusker,* Giorgia Zandomeneghi, Beat H. Meier,* Dieter Bläser, Roland Boese,* W. Bernd Schweizer, Ryan Gilmour und Jack D. Dunitz*

Unter den mehr als einer halben Million durch Röntgen- oder Neutronenbeugung bestimmten Kristallstrukturen chemischer Verbindungen fehlt überraschend diejenige von D-Ribose.^[1] Obwohl die meisten modernen chemischen Lehr- und Handbücher die in unzähligen biochemisch wichtigen Verbindungen vorkommende D-Ribose als β -Furanose darstellen, ist aus frühen NMR-spektroskopischen Beobachtungen^[2–4] seit mehr als vierzig Jahren bekannt, dass D-Ribose in wässriger Lösung aus einer Mischung von α - und β -Furanose sowie α - und der dominierenden β -Pyranose (Schema 1) besteht.



Schema 1. Isomere der D-Ribose.

Die Struktur der kristallinen D-Ribose war bisher unbekannt. Eine röntgenographische Untersuchung aus dem Jahre 1956^[5] fand die monokline Raumgruppe $P2_1$, $Z=4$, $Z'=2$,

d.h. mit zwei symmetrieunabhängigen Molekülen in der Elementarzelle. Damals waren die direkten Methoden noch nicht entwickelt, und eine vollständige Strukturanalyse eines solchen Kristalls kam nicht infrage, zumal die damals erhaltenen Kristalle als sehr klein, verzwillingt und allgemein von niedriger Qualität beschrieben wurden. Unseres Wissens ist dieses Strukturproblem bis heute unbeantwortet geblieben, während die Kristallstrukturen der übrigen Pentosen und Hexosen alle bestimmt wurden und in der CSD (Cambridge Structural Database) abgelegt sind. Die Erkenntnis, dass die Kristallstruktur der D-Ribose immer noch nicht aufgeklärt worden ist, verpflichtete uns gewissermaßen, diese Lücke zu füllen.

In der Tat erwies sich die Verbindung als schwer kristallisierbar. Hunderte Versuche mit kommerziell erhältlicher D-Ribose (Sigma-Aldrich) in gesättigten Lösungen mit einer Vielzahl reiner und gemischter Lösungsmittel lieferten bei Kühlen oder Verdampfen lediglich polykristalline Produkte. Ebenfalls erfolglos blieben Versuche, Einkristalle durch Abkühlen von geschmolzener D-Ribose in Kapillaren zu erhalten. Trotz dieser widrigen Umstände ist es uns nun gelungen, die Kristallstruktur der D-Ribose zu bestimmen, zuerst aus dem Pulverdiagramm durch Anwendung des „direct-space global optimization“-^[6]Programms FOX,^[7] kombiniert mit Differenz-Fourier-Methoden,^[8] und anschließend durch Analyse von Einkristallen, die mithilfe von Umkristallisation durch Zonenschmelzen (zone-melting recrystallization, ZMR^[9]) erhalten wurden. Mit 20 stark beugenden Zentren in der asymmetrischen Einheit ist die Aufklärung der Kristallstruktur der D-Ribose eine enorm schwierige Aufgabe für Pulverbeugungsmethoden (siehe Hintergrundinformationen für ausführliche Angaben zur Strukturanalyse). Erfreulicherweise lieferten die beiden Methoden übereinstimmende Ergebnisse.^[10] Die beiden symmetrieunabhängigen Moleküle im Kristall liegen in der Pyranose-Ringstruktur vor, unterscheiden sich aber in der Konfiguration des anomeren Kohlenstoffatoms (Abbildung 1).

Gemäß der Pulveranalyse enthält die asymmetrische Einheit ein β -Pyranose-Molekül (äquatoriale OH-Gruppe an C1) und ein α -Pyranose-Molekül (axiale OH-Gruppe an C11) (Ringkonformation bei beiden Molekülen: 4C_1). Im Unterschied dazu zeigt die Einkristallanalyse eine fehlgeordnete Verteilung der anomeren OH-Gruppe an C11, mit etwa gleichem Besetzungsfaktor (Abbildung 1). Vernachlässigt man die OH-Gruppen an C1 und C11, lassen sich die beiden symmetrieunabhängigen Moleküle durch eine nichtkristallographische Schraubenachse parallel zur *b*-Achse annähernd ineinander überführen.

Später wurde noch eine zweite Kristallform (Form II, Raumgruppe $C2$, $Z=12$, $Z'=3$) gefunden.^[12] Von den drei

[*] D. Šišak, Dr. L. B. McCusker, Dr. G. Zandomeneghi, Prof. Dr. B. H. Meier, Dr. W. B. Schweizer, Prof. Dr. R. Gilmour, Prof. Dr. J. D. Dunitz
Laboratorien für organische Chemie, für physikalische Chemie und für Kristallographie, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH) Zürich, Wolfgang-Pauli-Strasse 10, 8093 Zürich (Schweiz)
E-Mail: lynne.mccusker@mat.ethz.ch
beat.meier@nmr.phys.chem.ethz.ch
dunitz@org.chem.ethz.ch

Dr. D. Bläser, Prof. Dr. R. Boese
Fakultät für Chemie, Universität Duisburg-Essen
Universitätsstraße 5, 45141 Essen (Deutschland)
E-Mail: roland.boese@uni-due.de

[**] Wir danken Prof. Duilio Arigoni für seine Frage nach der Kristallstruktur von Ribose. Der Alfred Werner Stiftung, dem Schweizer Nationalfonds (Grant No. 200020-117677) und der ETH Zürich sind wir für die großzügige finanzielle Unterstützung verbunden. Wir danken Jürgen Grässlin und den Mitarbeitern der Beamline der Synchrotron Lichtquelle Schweiz am PSI in Villigen für die experimentelle Unterstützung bei der Aufnahme der Synchrotron-Pulverdaten.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201001266> zu finden.

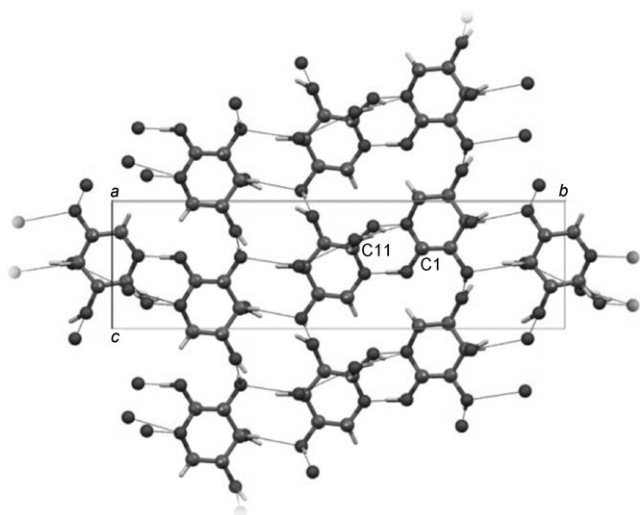


Abbildung 1. Projektionsansicht entlang der *a*-Achse der D-Ribose-Kristallstruktur (Form I) von der Analyse eines durch Zonenschmelze erhaltenen Kristalls (gezeichnet mit Mercury^[11]); hellgrau C, dunkelgrau O, weiß H. Man beachte den Unterschied in der Orientierung der Hydroxygruppen in den beiden Molekülen: äquatorial an C1, äquatorial und axial an C11 (fehlgeordnete Besetzung). Intermolekulare Wasserstoffbrücken sind durch gestrichelte Linien dargestellt. Die aus der Pulveranalyse erhaltene Struktur ist nahezu überlagerbar, jedoch sind die relativen Besetzungsanteile der Hydroxygruppen an C11 verschieden.

symmetrieunabhängigen Lagen sind hier zwei durch β -Pyranose-Moleküle besetzt, und in der dritten liegt die anomere OH-Gruppe fehlgeordnet vor (Abbildung 2). Wie in der Form I lassen sich auch die drei symmetrieunabhängigen Moleküle in der Form II annähernd durch nichtkristallographische Schraubenachsen ineinander überführen, von denen jede fast parallel zu einer der Kristallachsen liegt.

Diese Erkenntnisse müssen noch leicht modifiziert werden, da eine Festkörper-NMR-spektroskopische Untersuchung (Abbildung 3) an polykristallinem Material ein β/α -Verhältnis von ca. 2:1 ergibt, verglichen mit 1:1 in der Pul-

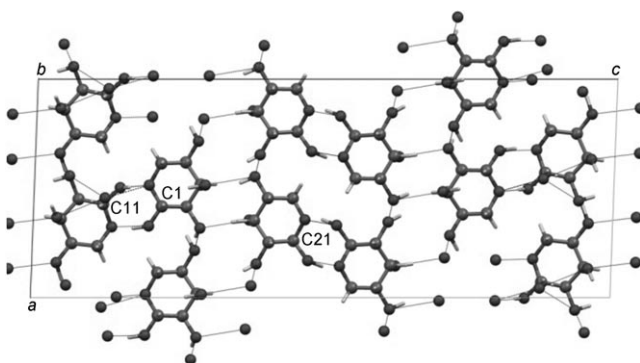


Abbildung 2. Projektionsansicht entlang der *b*-Achse der D-Ribose-Kristallstruktur (Form II); hellgrau C, dunkelgrau O, weiß H. Man beachte den Unterschied in der Orientierung der Hydroxygruppen: äquatorial an C1 und C21, äquatorial und axial an C11 (fehlgeordnete Besetzung). Intermolekulare Wasserstoffbrücken sind durch gestrichelte Linien dargestellt.

verröntgen- und 3:1 in der Einkristallanalyse der Form I. Das Kreuzpolarisations-NMR-Spektrum des polykristallinen Materials (Abbildung 3 a) zeigt zwei Signale für die anomeren

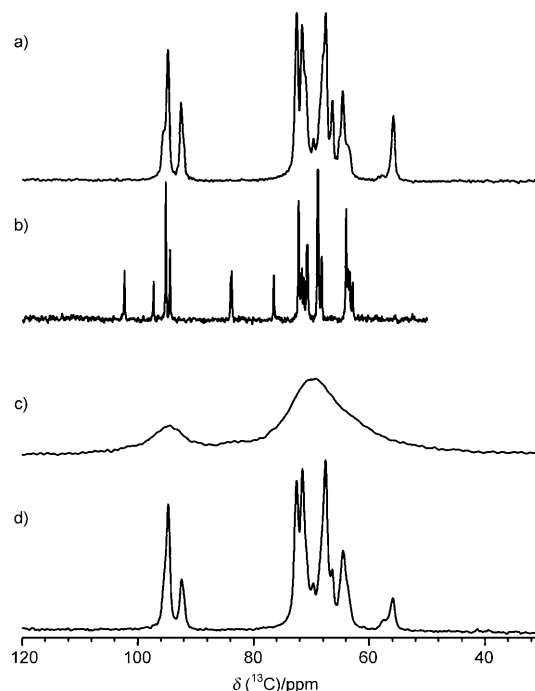


Abbildung 3. ^{13}C -MAS-NMR-Spektren von D-Ribose. Spektrum (a) wurde bei 20°C und mit Kreuzpolarisation (Kontaktzeit 1 ms) gemessen; 240 Einzelerperimente wurden aufsummiert. Spektrum (b) wurde bei 90°C und mit direkter Kohlenstoffanregung aufgenommen (80 Einzelerperimente). Anschließend wurde die Probe auf 20°C gekühlt, und Spektrum (c) wurde mit Kreuzpolarisation (0.1 ms) aufgenommen, wobei 2000 Experimente addiert wurden. Spektrum (d) wurde bei 20°C gemessen, nachdem die Probe einen Monat bei 4°C aufbewahrt worden war; die experimentellen Bedingungen waren dieselben wie bei (a). Alle Spektren wurden bei einer MAS-Frequenz (MAS = Rotation im magischen Winkel) von 10 kHz aufgenommen und extern mit Adamantan referenziert ($\delta = 38.48$ ppm relativ zu Tetramethylsilan).

Kohlenstoffatome bei $\delta = 94.9$ und 92.5 ppm mit einer integrierten Signalintensität von 2:1; diese Signale können auf der Basis der Röntgenmessungen der β - und α -Pyranose zugeordnet werden (Details siehe Hintergrundinformationen). Nach dem Schmelzen (Schmp. ca. 90°C) bildete sich eine Gleichgewichtsmischung der vier Anomere (46% β -Pyranose, 25% α -Pyranose, 12% α -Furanose, 17% β -Furanose; Abbildung 3b). Ein Abkühlen der Schmelze führte zu breiten NMR-Linien, die auf einen Glaszustand hindeuteten (Abbildung 3c). Die Probe wurde anschließend einen Monat bei 4°C aufbewahrt und danach noch einmal gemessen. Das Spektrum entsprach nun wieder demjenigen der polykristallinen Probe, mit einem leicht veränderten Verhältnis von 2.5:1 der beiden Signale der anomeren Kohlenstoffatome (Abbildung 3d).

Aufgrund der Erkenntnisse aus der NMR-spektroskopischen Untersuchung wurden die Schlussfolgerungen der Pulveranalyse nachgeprüft, ob eine mögliche α/β -Fehlordnung bei beiden unabhängigen Molekülen im polykristallinen

Material besteht. Zwar zeigt sich bei der Lage, an der früher ein α -Pyranose-Molekül gefunden wurde, ein β/α -Verhältnis von 0.27:0.73, allerdings bleibt die andere Lage im Wesentlichen unverändert. Das β/α -Verhältnis im polykristallinen Stoff kann so auf 1.7:1 geschätzt werden, gegenüber einem 2:1-Verhältnis gemäß der NMR-spektroskopischen Untersuchung. Wenngleich die Genauigkeit solcher aus verschiedenartigen Messungen abgeleiteter β/α -Verhältnisse nur schwer zu beurteilen ist, lassen beide Methoden doch darauf schließen, dass der Anteil des β -Anomers in der geschmolzenen und rekristallisierten Probe größer ist als im ursprünglichen polykristallinen Material. Dies sollte uns nicht sehr überraschen, da die beiden Proben unter verschiedenen Bedingungen hergestellt worden sind. Wir kennen kein anderes System, bei dem ein analoger Vorgang beobachtet werden konnte.

Diese Arbeit hat zwar eine Lücke in unseren Kenntnissen über die D-Ribose geschlossen, aber auch Fragen über die Festkörpereigenschaften dieser Verbindung aufgeworfen. Warum kristallisiert D-Ribose mit zwei (oder drei) symmetrieunabhängigen Molekülen, statt durch Repetition nach Symmetrioperationen einer Raumgruppe eines einzigen Moleküls? Liegt dies darin begründet, dass die in Lösung oder in der Schmelze vorhandenen α - und β -Pyranosemoleküle – abgesehen von den verschiedenen Lagen der anomeren OH-Gruppen – fast deckungsgleich sind? Der Unterschied der OH-Positionen hat keinen großen Einfluss auf die Anordnung der Wasserstoffbrücken. Sind alle möglichen Strukturen mit $Z' = 1$ energetisch ungünstiger als die hier beobachteten Strukturen mit $Z' = 2$ und 3? Solche Fragen könnten Gegenstand weiterer Untersuchungen mit schon vorhandenen Computerprogrammen zur Erzeugung virtueller Kristallstrukturen und Abschätzung der jeweiligen Energien sein – wir beabsichtigen allerdings nicht, dies weiter zu verfolgen. Wir halten es für wahrscheinlich, dass der Unterschied zwischen den β/α -Verhältnissen von 0.64:0.36 im Ausgangsmaterial gemäß NMR-Spektroskopie und Pulveranalyse sowie 0.75:0.25 gemäß Einkristallanalyse tatsächlich vorhanden ist. Die beiden Produkte wurden aus Gleichgewichtsmischungen mit unterschiedlichen Verhältnissen der verschiedenen D-Ribose-Isomere (Schema 1) erhalten. Leider wissen wir nicht, aus welcher Lösung und unter welchen Bedingungen das polykristalline Ausgangsmaterial hergestellt wurde, das als Quelle für die Pulveranalyse und die NMR-spektroskopische Untersuchung diente. Auf unsere Anfrage konnte Sigma-Aldrich aus patentrechtlichen Gründen keine detaillierte Antwort geben. Wir halten es jedoch für unwahrscheinlich, dass das kommerzielle Material durch Abkühlung aus der Schmelze erhalten wurde. Ebenfalls noch offen ist die Frage, welche α/β -Verhältnisse in den kristallinen Proben vorliegen, die durch Abkühlung oder Verdampfung verschiedener Lösungsmittel bei unterschiedlichen Temperaturen erhalten wurden.^[13]

Experimentelles

NMR-Spektroskopie: ^{13}C -NMR-Spektren wurden auf einem Varian-Infinity + 500-Spektrometer mit einer ^{13}C -Larmor-Frequenz von 125.67 MHz und mit einer 4-mm-Varian-T3-Doppelresonanz-MAS-

Sonde aufgenommen. Kreuzpolarisations(CP)- ^{13}C -Spektren wurden nach einer 4.5- μs -Protonenanregung und anschließendem Polarisations-transfer auf ^{13}C mithilfe eines adiabatischen CP-Kontakts mit einer Zentralamplitude von 50 kHz aufgenommen. Das Kohlenstoffsignal wurde unter Protonenentkopplung mit 60-kHz-TPPM (TPPM = two pulse phase modulation) mit einer Phasenverschiebung von 30° aufgenommen. Die spektrale Breite betrug 16.7 kHz, die Aufnahmezeit 15.4 ms, und vor der Fourier-Transformation wurde eine Linienverbreiterung von 20 Hz angewendet. Die ^{13}C -NMR-Spektren in der Schmelze wurden mit direkter Anregung oder mithilfe einer refokussierenden INEPT-Sequenz aufgenommen. Die beiden Methoden ergaben dieselben Resultate. Bei der direkten Anregung betrugen die ^{13}C -Pulslänge 6 μs und die spektrale Breite 10 kHz, und während der 51.2-ms-Aufnahmezeit wurden die ^1H -Spins über 5-kHz-Dauerstricheinstrahlung entkoppelt. Die Wartezeit zwischen den Einzelexperimenten betrug 60 s.

Eingegangen am 2. März 2010

Online veröffentlicht am 12. Mai 2010

Stichwörter: Fehlordnung · Festkörperstrukturen · NMR-Spektroskopie · Ribose · Röntgenbeugung

- [1] Die Marke von einer halben Million wurde am 10. Dezember 2009 überschritten (<http://www.ccdc.cam.ac.uk/500000.php>).
- [2] M. Rudrum, D. F. Shaw, *J. Chem. Soc.* **1965**, 52–57.
- [3] R. U. Lemieux, J. D. Stevens, *Can. J. Chem.* **1966**, *44*, 249–262.
- [4] E. Breitmaier, U. Hollstein, *Org. Magn. Reson.* **1976**, *8*, 573–575.
- [5] S. Furberg, A. Hordvik, K. Taulbøl, *Acta Chem. Scand.* **1956**, *10*, 135–136.
- [6] W. I. F. David, K. Shankland, *Acta Crystallogr. Sect. A* **2008**, *64*, 52–64.
- [7] V. Favre-Nicolin, R. Cerny, *Z. Kristallogr.* **2004**, *219*, 847–856.
- [8] Bei den Strukturlösungsmethoden im direkten Raum wird unter Verwendung bekannter chemischer Informationen (wie der Konnektivität der beteiligten Atome sowie ihrer Bindungslängen und -winkel) zunächst eine Versuchsstruktur in der asymmetrischen Einheit generiert. Für dieses Modell wird das Pulverdiagramm berechnet und dieses dann mit dem gemessenen verglichen, um die Korrektheit dieses Strukturvorschlages abzuschätzen. Das Modell wird anschließend verändert und vom modifizierten Modell wieder das Pulverdiagramm berechnet. Wenn die Übereinstimmung des neuen Diagramms besser ist, wird die Veränderung akzeptiert und ein neuer Veränderungszyklus gestartet (siehe Lit. [6] für weitere Informationen über globale Optimierungsmethoden). Wichtig ist hier, dass man ein Startmodell braucht. In unserem Fall wussten wir aber nicht, welche der fünf möglichen Strukturen aus Schema 1 die Ribose im kristallisierten Zustand annehmen würde. Daher wurden verschiedene Kombinationen von Ketten- und Ringstrukturen als Eingabe für das Programm FOX verwendet. Mit zwei Molekülen in der asymmetrischen Einheit war dies eine anspruchsvolle Aufgabe für die Pulvermethode. Nach mehreren Versuchen mit dem Programm FOX wurde klar, dass wahrscheinlich eine Ringstruktur vorliegen muss, aber es war nicht eindeutig, ob es sich dabei um einen Fünf- oder Sechsring handelt, da keines der Strukturmodelle signifikant besser war. Nach langwierigen Berechnungen von Differenzelektronendichtekarten mit verschiedenen Startmodellen erhielten wir eine Näherungsstruktur mit einem α - und einem β -Pyranose-Molekül in der asymmetrischen Einheit. Im Anschluss daran wurde noch ein alternativer Lösungsversuch unternommen, bei dem ein angenähertes (aber falsches) Strukturmodell vom Programm FOX genommen und mit dem „Charge-Flipping“-Algorithmus (C. Baerlocher, L. B. McCusker, L. Palatinus, *Z. Kristallogr.*

- 2007, 222, 47–53) kombiniert wurde. Dies führte schließlich in einem etwas direkteren Weg zur richtigen Struktur.
- [9] R. Boese, M. Nussbaumer in *In situ Crystallization Techniques In Organic Crystal Chemistry* (Hrsg.: D. W. Jones), Oxford University Press, Oxford, 1994, S. 20–37; OHCD: www.sci.ohcd.eu.
- [10] Kristallstrukturdaten für D-Ribose (Form I): durch Pulverdiffraktion: $a = 4.8205(4)$, $b = 21.6435(1)$, $c = 6.5069(5)$ Å, $\beta = 111.0(1)^\circ$ bei Raumtemperatur, Raumgruppe $P2_1$, $Z = 4$, $Z' = 2$; durch Einkristallzonenschmelze: $a = 4.7860(13)$, $b = 21.463(5)$, $c = 6.4873(17)$ Å, $\beta = 110.824(11)^\circ$ bei 123 K, Raumgruppe $P2_1$, $Z = 4$, $Z' = 2$.^[14]
- [11] Mercury CSD 2.0 – New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures C. F. Macrae, I. J. Bruno, J. A. Chisholm, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, L. Rodriguez-Monge, R. Taylor, J. van de Streek, P. A. Wood, *J. Appl. Crystallogr.* **2008**, 41, 466–470.
- [12] Kristallstrukturdaten für D-Ribose (Form II): $a = 12.129(10)$, $b = 4.7753(4)$, $c = 32.116(3)$ Å, $\beta = 92.103(5)^\circ$ bei 123 K, Raumgruppe $C2$, $Z = 12$, $Z' = 3$.^[14]
- [13] Obwohl die beiden bekannten polymorphen Formen von D-Ribose aus α - und β -Pyranose-Molekülen bestehen, sollte man sie nicht als Cokristalle beschreiben. Da sich in Schmelze und in Lösung die beiden Isomere (zusammen mit α - und β -Furanose) in einem dynamischen Gleichgewicht befinden, bestehen die Kristalle nur aus einer einzigen Komponente.
- [14] CCDC 768155 (Form I, Pulverdiffraktion), CCDC 768156 (Form I, Einkristallzonenschmelze) und CCDC 768157 (Form II) enthalten die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos beim Cambridge Crystallographic Data Centre über www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif erhältlich.