

EIN PURIN NUCLEOSID IN UNGEWÖHNLICHER KONFORMATION: KRISTALL- UND MOLEKÜLSTRUKTUR VON 5'-METHYLAMMONIUM- -5'-DEOXYADENOSIN-JODID-MONOHYDRAT

Wolfram SAENGER

*Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin,
Abteilung Chemie, 34 Göttingen, Hermann-Rein-Str. 3, Germany*

Eingegangen am 25. Juli 1970

5'-Methylammonium-5'-deoxyadenosine is a poor substrate for adenosine desaminase. The nucleoside was crystallized from aqueous methanol as its iodide monohydrate in space group $P2_1$. The structure was solved from three dimensional X-ray data and refined to $R = 4.1\%$. The structure of the nucleoside is determined by an intramolecular hydrogen bond from $N5'$ to $N3$ which implies that (1) the adenine heterocycle is in syn position with respect to the sugar moiety; (2) the ribose pucker is $C2'$ -exo, $C3'$ -endo and (3) the conformation about the $C4'$ - $C5'$ bond is trans, gauche. The water of hydration is fourfold disordered and forms a linear hydrophilic region which is surrounded by nucleoside molecules in a zigzag arrangement. The adenine heterocycles are not stacked and in contact closer than Van der Waals distance with iodine ions suggesting a charge transfer type interaction.

1. Einleitung

Der Reaktionsmechanismus eines Enzyms kann nur geklärt werden, wenn die Strukturen von Substrat und Reaktionsprodukt bekannt sind. Als 5'-Methylammonium-5'-deoxyadenosin [1] mit dem Enzym Adenosindesaminase umgesetzt wurde, verlief die Reaktion zum entsprechenden Inosinderivat etwa zwei Größenordnungen langsamer [2] als mit Adenosin selbst. Da das Nucleosid als Jodid kristallisiert werden konnte, erschien eine genaue Strukturanalyse lohnend.

2. Material und Methoden

5'-Methylammonium-5'-deoxyadenosin-jodid kristallisierte als Monohydrat aus wässrigem Methanol in der monoklinen Raumgruppe $P2_1$ mit $a = 8.740 \text{ \AA}$, $b = 13.288 \text{ \AA}$, $c = 8.476 \text{ \AA}$, $\beta = 118.3^\circ$. Etwa 1600 Intensitätsdaten wurden freundlicherweise von Dr. H.A. Paulus, Darmstadt, mit einem automatischen STOE Vierkreisdiffraktometer gemessen. Da mit einem Graphitkristall monochromatisierte Molybdänstrahlung verwendet wurde, musste die zusätzlich

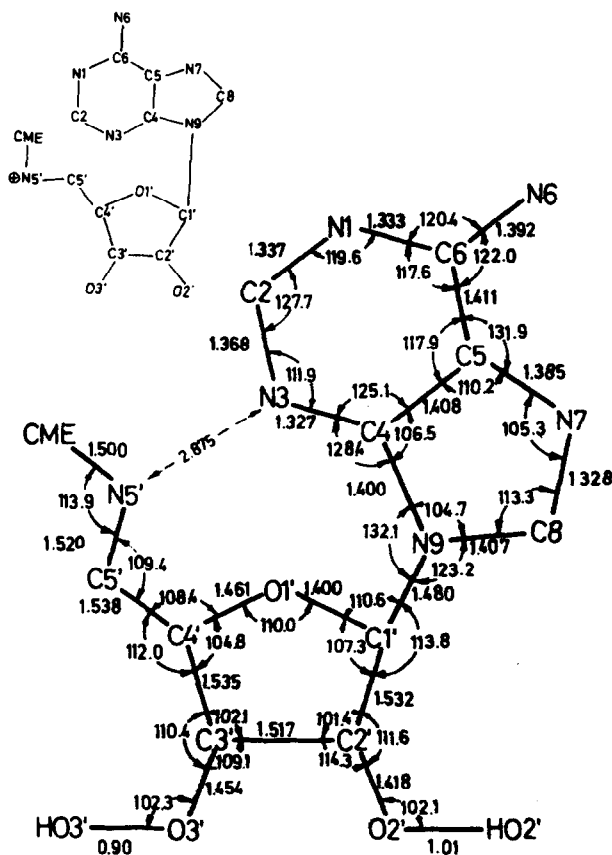
auf tretende Polarisation der Strahlung korrigiert werden [3], eine Absorptionskorrektur war jedoch nicht nötig ($\mu = 20.8 \text{ cm}^{-1}$).

Die Struktur wurde durch eine Interpretation der Patterson-Sektion bei $v = 1/2$ und eine Serie aufeinanderfolgender Fourier-Synthesen gelöst, die zunächst nur mit der Streuung des Jodions, später zusätzlich mit der des Adenin-Heterocyclus und dann des gesamten Moleküls gephaset wurde. Das Hydratwasser-Molekül besetzt in statistischer Verteilung von $1/3 : 1/3 : 1/5 : 1/5$ vier dicht beieinanderliegende Positionen.

Die Struktur wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate (Vollmatrix) anisotrop verfeinert, wobei eine Korrektur für die abnormale Streuung des Jodions berücksichtigt wurde. Die Wasserstoffatome konnten aus einer Differenzfouriersynthese lokalisiert werden. Der kristallographische Verlässlichkeitsfactor für die 1415 signifikanten Daten ist 4.1%.

3. Resultate und Diskussion

In Fig. 1. sind die geometrischen Daten für 5'-



Methylammonium-5'-deoxyadenosin-jodid dargestellt. Fig. 2 gibt eine stereoskopische Darstellung des Moleküls.

Die Struktur der Moleküle ist durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung vom einsamen Elektronenpaar an N3 (als Acceptor) zum Ammoniumstickstoff N5' (als Donor) bestimmt und zeigt mehrere Besonderheiten: Die Konformation um die glykosidische Bindung, C1'-N9, ist gewöhnlich anti [4], d.h. C8 zeigt zur Ribose hin. Sie ist jedoch syn in dieser Struktur, da C8 von der Ribose weg zeigt, und der dihedrale Winkel C2'-C1'-N9-C8 mit 88.1° im syn Bereich von 0 bis 180° liegt [5].

Gewöhnlich sind Ribosereste in Nucleosiden in der "Umschlag"-Form und so gewellt, dass C2' oder C3' etwa 0.5 Å von der Ebene durch die vier anderen Atome entfernt liegen [6,7]. In der vorliegenden Struktur besteht jedoch keine eindeutige "Umschlag"-

Fig. 1. Geometrische Daten für 5'-Methylammonium-5'-deoxyadenosin. Die Standardabweichungen betragen 0.01 Å und 0.8° für Bindungen bzw. Winkel.

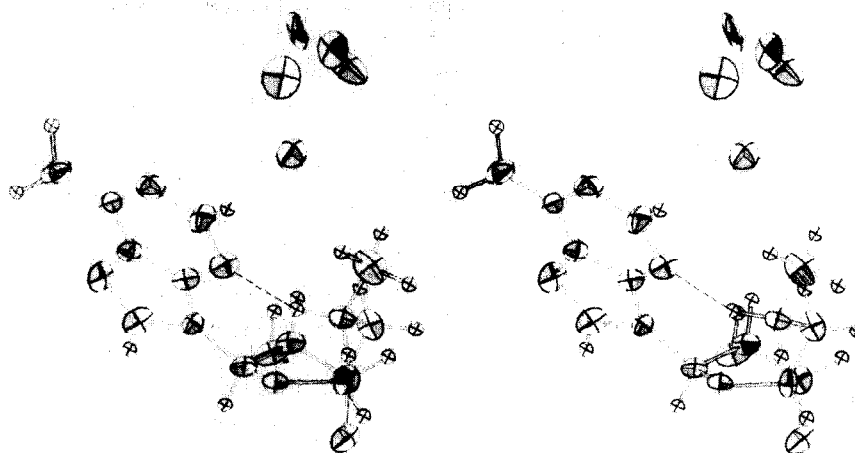


Fig. 2. Stereoskopische Darstellung der asymmetrischen Einheit der Elementarzelle. Rechts oben die vier Lagen des statistisch ungeordneten Wassermoleküls, darunter das Jodion. Die Zeichnung wurde im Deutschen Rechenzentrum, Darmstadt, angefertigt.

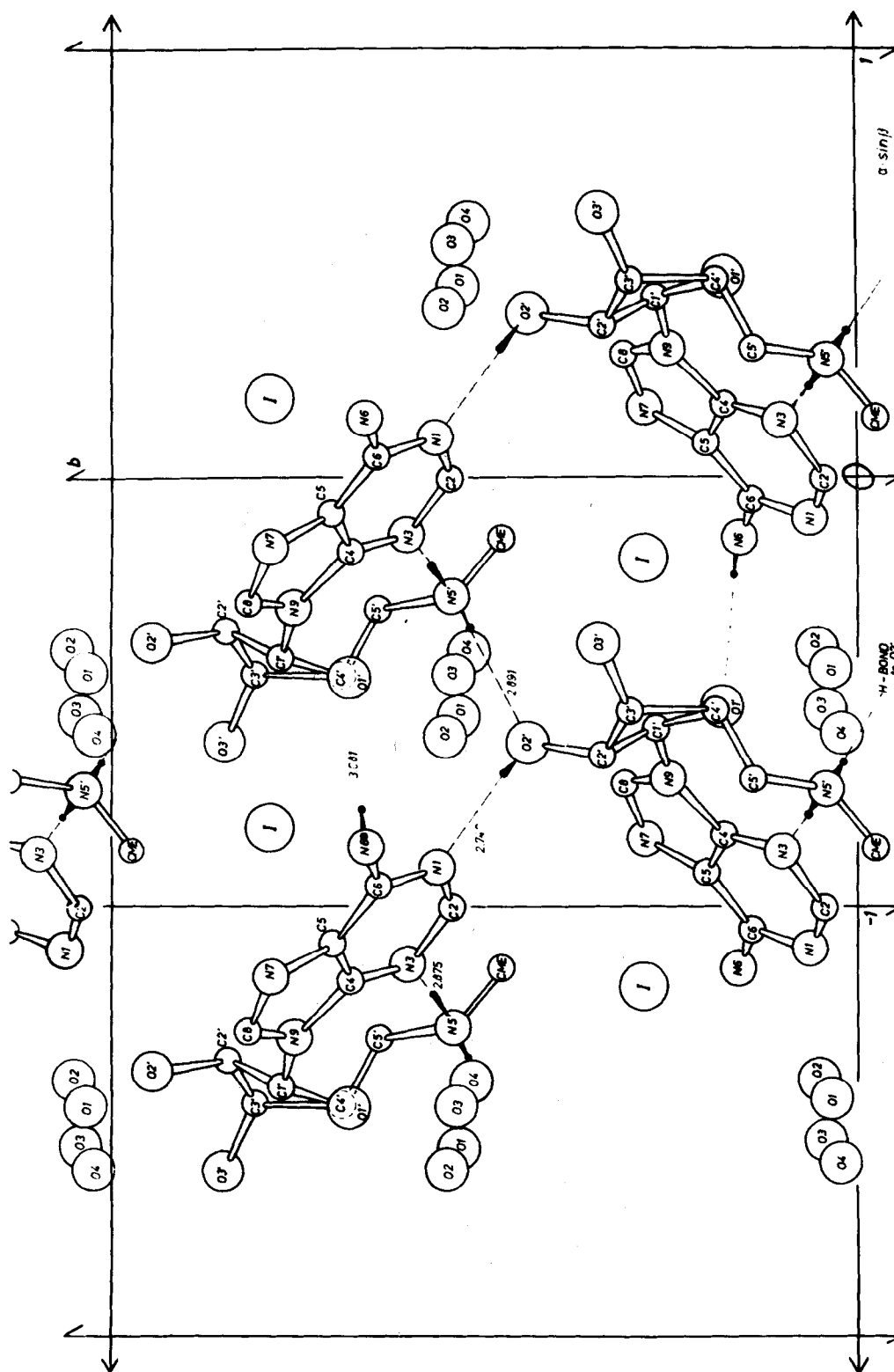


Fig. 3. Projektion der Struktur entlang der *c*-Achse. Wasserstoffbrückenbindungen sind durch gestrichelte Linien angedeutet.

Form und die Konformation in der Ribose wird am besten als C2'-endo-C3'-exo beschrieben, d.h. C2' liegt auf derselben Seite des Riboseringes wie C5', C3' auf der entgegengesetzten Seite.

Die Konformation um die C4'-C5' Bindung, die durch die dihedralen Winkel C3'-C4'-C5'-N5' und O1'-C4'-C5'-N5' bestimmt wird, ist meistens gauche, gauche in Nucleosiden, d.h. beide Winkel sind etwa 60°. In dieser Struktur sind die Winkel mit 158.3° und 43.0°, jedoch trans, gauche. Der Grund für diese ungewöhnliche Konformation ist die Ausbildung der N3-N5' Wasserstoffbrückenbindung, die erfordert, dass N5' mit dem Adenin-Heterocyclus coplanar ist. Diese Anordnung kann aber nur realisiert werden, wenn die Konformation um die C4'-C5' Bindung trans, gauche ist.

Der Adenin-Heterocyclus ist ziemlich eben, der Winkel zwischen Pyrimidin- und Imidazolring ist nur 1.3°. Atom C1' weicht von der besten Ebene durch den Heterocyclus um 0.104 Å ab und ist auf derselben Seite wie C2'.

Die exocyclischen Winkel an N9, C1'-N9-C4 und C1'-N9-C8 sind ungleich, während die entsprechenden Winkel in anti-Purin-nucleosiden einander ähnlich sind. Hieraus folgt, dass analog zum syn-4-Thiouridin [5] sterische Kräfte wirksam sein müssen, die eine Verzerrung der exocyclischen Winkel an N9 verursachen.

Die C6-N6 Bindung ist länger als gewöhnlich [8]. Diese Aufweitung kann damit erklärt werden, dass die N6-Aminogruppe um 42.9° vom Adenin-Heterocyclus weggedreht ist, um mit einem benachbarten O1' Atom eine intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung zu bilden; diese Verdrillung würde den Doppelbindungscharakter der C6-N6 Bindung reduzieren.

Die Packung von Nucleosid-Molekülen in Kristallstrukturen folgt gewöhnlich einem einheitlichen Schema: die aromatischen Heterocyclen von Monomeren oder Wasserstoffbrücken-gebundenen Oligomeren stapeln sich parallel zueinander aufeinander und bilden kontinuierliche Bänder. In der vorliegenden Struktur sind jedoch die Heterocyclen um etwa 30° gegen die zweifache Schraubenachse (*b*-Achse) geneigt (Fig. 3). Die Symmetrie-operation dieser Achse lässt ein Zickzack-Muster von Heterocyclen in der *b*-Richtung entstehen, wobei die Heterocyclen um etwa 120° gegeneinander geneigt sind. Ober- und unterhalb der Adeninsysteme sind die Jodionen so

angeordnet, dass ein Jodion nahe N3 und über dem Pyrimidinring, das andere Ion aber nahe N1 und C2 und ausserhalb des Pyrimidinrings angeordnet ist. Da der senkrechte Abstand beider Jodionen von Heterocyclus gleich (3.82 Å) und kleiner als die Summe der Van der Waal's Radien ist (4.0 Å), kann zumindest für das über dem Heterocyclus liegende Jodion eine Charge-Transfer Wechselwirkung zwischen leeren *5d* orbitals des Jodions und π -Elektronen des Adeninsystems angenommen werden.

Das ungeordnete Wassermolekül liegt etwa in $x = 1/2, z = 0$. Die scheinbare Wirkung der Schraubenachse auf diese Lage ist nur eine Translation entlang *b*/2, so dass eine lineare hydrophile Region entlang *b* entsteht, die von zickzackförmig angeordneten Nucleosidmolekülen begrenzt wird.

Die Struktur von 5'-Methylammonium-5'-deoxyadenosin ist recht ungewöhnlich. Eine Interpretation der kinetischen Daten der Umsetzung des Nucleosids mit Adenosindesaminase ist in Hinsicht auf den Reaktionsmechanismus im Augenblick noch nicht möglich. Es ist jedoch geplant, die Reaktion in Abhängigkeit vom pH-Wert zu studieren, um den Einfluss der N3-N5' Wasserstoffbrückenbindung zu erkennen.

4. Danksagung

Der Autor dankt Prof. F. Cramer für die Unterstützung während dieser Arbeit, Dr. H. Hettler für die Anregung, diese Struktur zu bestimmen und Prof. E.R. Wölfel, dass er die Datensammlung auf dem STOE Diffraktometer ermöglichte.

Referenzen

- [1] A. Murayama, Göttingen, unveröffentlicht (1969).
- [2] B. Jastorff, Dissertation Braunschweig (1970).
- [3] U.W. Arndt und B.T.M. Willis, Single Crystal Diffraction (Cambridge University press, 1966).
- [4] J. Donohue und K.N. Trueblood, J. Mol. Biol. 2 (1960) 363.
- [5] W. Saenger und K.H. Scheit, J. Mol. Biol. 50 (1970) 153.
- [6] M. Spencer, Acta Cryst. 12 (1959) 59.
- [7] W. Saenger und F. Eckstein, J. Am. Chem. Soc. Juli (1970) im Druck.
- [8] W. Saenger und D. Suck, Nature (1970) im Druck.