

Abb. 2. Übergangstemperaturen der Pd-Komplexe 2(---) und 3(···) als Funktion des organischen Liganden 1. n gibt die Zahl der C-Atome des Substituenten R an. 1a: $n = 0$, 1b: $n = 2$, 1c: $n = 6$, 1d: $n = 10$. ■: C-I, ●: C-N, ◆: C-S_A, ▲: C-S_C, □: S_A-N, ○: S_C-S_A, ◇: N-I, △: S_A-I.

kristallin, d.h. der Schmelzpunkt ist um etwa 50 K niedriger als bei den zweikernigen Verbindungen 2. Die Klärtemperaturen sinken auf etwa 125 °C, was zur Folge hat, daß man diese Verbindungen wiederholt ohne Zersetzung von der kristallinen in die isotrope Phase überführen kann. Dies ist aus verarbeitungstechnischer Sicht von großer Bedeutung.

Weiterhin fällt bei den einkernigen Komplexen 3 das regelmäßige Auftreten von N-Mesophasen auf; ein Verhalten, das bei bekannten^[3] *ortho*-palladierten zweikernigen Komplexen vom Typ 2 üblicherweise nicht beobachtet wird (die leichte Zugänglichkeit von N-Phasen ist eine erwünschte Eigenschaft, die den Aufbau geordneter Strukturen bei der praktischen Anwendung von Flüssigkristallen erleichtert). Kurz, die Ordnung in den Mesophasen nimmt ab: S_C-Verhalten bei 2 geht bei 3 in S_A-Verhalten, S_A-Verhalten bei 2 in N-Verhalten bei 3 über. Im Einklang damit zeigt der einzige bisher bekannte einkernige acac-Komplex^[5] mit einem *ortho*-palladierten, phenylsubstituierten Pyrimidinliganden monotropes S_A-Verhalten, der zweikernige Vorläuferkomplex dagegen enantiotropes S_A-Verhalten.

Beim Übergang von den I-förmigen „eindimensionalen“ Strukturen 1 zu den hochsymmetrischen, H-förmigen „zweidimensionalen“ Strukturen 2 verbessert sich die Situation insofern drastisch, als diese nun einen breiten Mesophasenbereich aufweisen. Leider geht dies jedoch mit hohen Übergangstemperaturen und einem Mangel an nematischen Mesophasen einher. Die neuen symmetriestörten, P-förmigen „zweidimensionalen“ Komplexe 3 sind ein exzellenter Kompromiß, da sie breitere Mesophasenbereiche, noch niedrigere Schmelzpunkte und ein weniger komplexes mesogenes Verhalten als die freien Liganden 1 haben. Da sich die Abfolge

I → H → P auch auf viele verwandte Komplexe übertragen läßt, sind die Zukunftsaussichten für die Herstellung maßgeschneiderter mesogener Werkstoffe recht vielversprechend.

Eingegangen am 18. Dezember 1990 [Z 4338]

- [1] Übersicht: A. M. Giroud-Godquin, P. M. Maitlis, *Angew. Chem.* 103 (1991) 370–398; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30 (1991) 375–402, zit. Lit.
- [2] M. Ghedini, M. Longeri, R. Bartolino, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 84 (1982) 207–211; M. Ghedini, S. Armentano, R. Bartolino, F. Rustichelli, G. Torquati, N. Kirov, M. Petrov, *ibid.* 151 (1987) 75–91.
- [3] J. Barberá, P. Espinet, E. Lalinde, M. Marcos, J. L. Serrano, *Liq. Cryst.* 2 (1987) 833–842; M. Marcos, M. B. Ros, J. L. Serrano, *ibid.* 3 (1988) 1129–1136; M. B. Ros, N. Ruiz, J. L. Serrano, P. Espinet, *ibid.* 9 (1991) 77–86.
- [4] P. Espinet, E. Lalinde, M. Marcos, J. Pérez, J. L. Serrano, *Organometallics* 9 (1990) 555–560.
- [5] M. Ghedini, D. Pucci, *J. Organomet. Chem.* 395 (1990) 105–112.
- [6] P. Espinet, J. Etxebarria, M. Marcos, J. Pérez, A. Remón, J. L. Serrano, *Angew. Chem.* 101 (1989) 1076–1078; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 1065–1066.
- [7] P. Espinet, J. Pérez, M. Marcos, M. B. Ros, J. L. Serrano, J. Barberá, A. M. Levelut, *Organometallics* 9 (1990) 2028–2033.
- [8] J. P. Rourke, F. P. Fanizzi, N. J. S. Salt, D. W. Bruce, D. A. Dunmur, P. E. Maitlis, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1990, 299.
- [9] D. Demus, L. Richter: *Textures of Liquid Crystals*, Verlag Chemie, Weinheim 1978.
- [10] D. Demus, H. Demus, H. Zaschke: *Flüssige Kristalle in Tabellen I*, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig 1974, S. 97–98; D. Demus, H. Zaschke: *Flüssige Kristalle in Tabellen II*, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig 1984, S. 199.

Furfural als Indikator einer DNA-Spaltung durch Hydroxylierung des C5'-Kohlenstoffatoms von Desoxyribose**

Von Geneviève Pratiel, Marguerite Pitié, Jean Bernadou* und Bernard Meunier*

Neben den natürlich vorkommenden Nucleasen, die DNA durch Hydrolyse der Phosphodiester-Bindung spalten, sind auch synthetische DNA-spaltende Verbindungen von Interesse^[1]. Der all diesen Verbindungen gemeinsame Wirkmechanismus besteht im oxidativen Angriff auf die Zuckereinheiten der DNA-Kette. Ausgelöst wird eine solche Spaltung, wie auch eine DNA-Spaltung durch Radiolyse^[2, 3], durch Abstraktion eines H-Atoms von einer der C-H-Bindungen der Desoxyribose. Welche C-H-Bindung der Desoxyribose zuerst oxidiert wird, hängt vom Spaltungsreagens ab. So greift Eisen-Bleomycin^[4] hauptsächlich die C4'-H-Bindung an, während Bis(*o*-phenanthrolin)kupfer bevorzugt an C1'-H reagiert^[1, 5]. Neocarcinostatin oder dem Calicheamicin verwandte Wirkstoffe abstrahieren dagegen das H-Atom der C5'-H- (oder -H'-) Bindung^[6, 7]. Neocarcinostatin kann noch nach zwei weiteren, weniger bedeutenden Mechanismen reagieren: Dem Angriff an C1', dem eine Spaltung unter Freisetzung von Cytosin folgt^[8, 9], und dem Angriff an C4' unter Thymin-Freisetzung^[10]. Auch der Abbau von Poly(dA) · Poly(rU)^[***] durch Bleomycin könnte zu einem geringen Teil über einen Angriff an C1' erfolgen^[11].

[*] Prof. Dr. J. Bernadou, Dr. B. Meunier, Dr. G. Pratiel, M. Pitié

Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS
205 route de Narbonne, F-31077 Toulouse Cedex (Frankreich)

[**] Diese Arbeit wurde vom Centre National de la Recherche Scientifique, der Association pour la Recherche sur le Cancer (ARC, Villejuif), der Université Paul Sabatier und der Région Midi Pyrénées gefördert.

[***] Der Punkt zwischen den beiden Polymeren Desoxynucleotid-Ketten gibt an, daß diese über gemeinsame Basenpaare verknüpft sind, ein Divis gibt die Abfolge innerhalb der Nucleotidkette an.

Wir verwendeten die künstliche Nuclease Mn-TMPyP, ein kationisches Manganoporphyrin (*meso*-Tetrakis(*N*-methylpyridinium-4-yl)porphyrinatomangan(III)-pentaacetat) von dem man weiß, daß es mit DNA in der kleinen Furche wechselwirkt^[12]. Mit einem wasserlöslichen Donor für freie Sauerstoffatome wie KHSO₅ oder Magnesiummonoperphthalat (MMPP) bildet sich in unmittelbarer Nähe der DNA ein höher oxidiertes Manganooxoporphyrin, das an die aktivierte Form von Cytochrom P-450 erinnert und C_{sp}-H-Bindungen aktivieren kann. Für die nachfolgende Spaltung der DNA sind Konzentrationen des Metalloporphyrins im Nanomol-Bereich ausreichend^[13]. Frühere Untersuchungen mit DNA-Modellsubstraten haben gezeigt, daß diese künstliche Nuclease bevorzugt die C1'-H-Bindung angreift^[14].

Wir berichten nun, daß das System Mn-TMPyP/KHSO₅ je nach Art des DNA-Substrats Desoxyribosen entweder am C1'- und/oder am C5'-Kohlenstoffatom hydroxylieren kann. Der C1'-Weg wurde mit der Freisetzung von 5-Methylen-2-furanon (5-MF) als dem Produkt der Desoxyribose-Oxidation bestätigt^[15, 14], der Beweis für den C5'-Weg konnte nun in unseren Versuchen anhand der Freisetzung von Furfural (FUR) erbracht werden. Soweit uns bekannt, ist dies der erste Fall einer oxidativen DNA-Spaltung, bei der Furfural als Indikator für eine Hydroxylierung am C5'-Kohlenstoffatom der Desoxyribose dient. Das Verhältnis FUR/5-MF ist ein Maß für die relativen Reaktivitäten des aktivierten Mn-TMPyP-Komplexes an C5' und C1'.

Bei einem typischen Experiment wurde das DNA-Substrat (700 µM Nucleotid-Lösung) zunächst mit Mn-TMPyP (35 µM) in 50 µL eines pH 8-Phosphatpuffers (34 mM) mit NaCl (100 mM) 15 min inkubiert. Dann wurde die Reaktion durch Zusatz von KHSO₅ (2 mM) gestartet. Nach 3 min bei Raumtemperatur wurde die Umsetzung durch Zugabe von pH 8-Hepes-Puffer (100 mM) gestoppt^[13b] (die in Klammern angegebenen Konzentrationen entsprechen den Endkonzentrationen). Nach 3 min bei 20°C oder nach 15 min Erhitzen auf 90°C wurden die freigesetzten Produkte durch HPLC identifiziert (Abb. 1, Tabelle 1). Bei Raumtemperatur werden die Nucleobasen freigesetzt, aufgrund seiner leichten Oxidierbarkeit konnte jedoch kein Guanin nachgewiesen werden. Nach dem Erhitzen traten zwei weitere Produkte auf, die durch HPLC (Abb. 1) und GC/MS^[15] als 5-MF^[15, 14] und FUR identifiziert wurden. Es fällt auf, daß beim Erhitzen die Bildung von FUR mit einer erhöhten Freisetzung der entsprechenden Basen einhergeht. Abweichungen in den Ergebnissen sind dabei auf einen Abbau der Basen aufgrund partieller, für Guanin vollständiger Oxidation durch Mn-TMPyP/KHSO₅ zurückzuführen. Auch FUR und 5-MF sind nicht völlig stabil. Die erhaltenen Meßwerte (Tabelle 1) müssen durch weitere, kinetische Untersuchungen ergänzt werden. Aus ersten kinetischen Messungen läßt sich jedoch abschätzen, daß unsere Ergebnisse ihre Gültigkeit behalten.

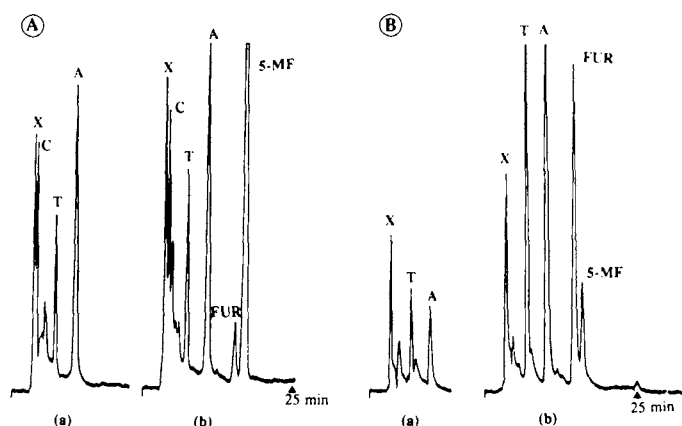


Abb. 1. Chromatogramme für die Reaktionsprodukte der Umsetzung von Mn-TMPyP/KHSO₅ mit CT-DNA (A) und Poly(dA)·Poly(dT) (B) nach 3 min bei 20°C (a) und 15 min bei 90°C (b). Nukleosil-C₁₈-5µ-Säule; Elutionsmittel: 0.1 M Triethylammoniumacetat, pH 6.5, 5% Acetonitril; 0.5 mL min⁻¹; UV-Detektion: λ = 254 nm (X: Porphyrinabbau-Produkt)

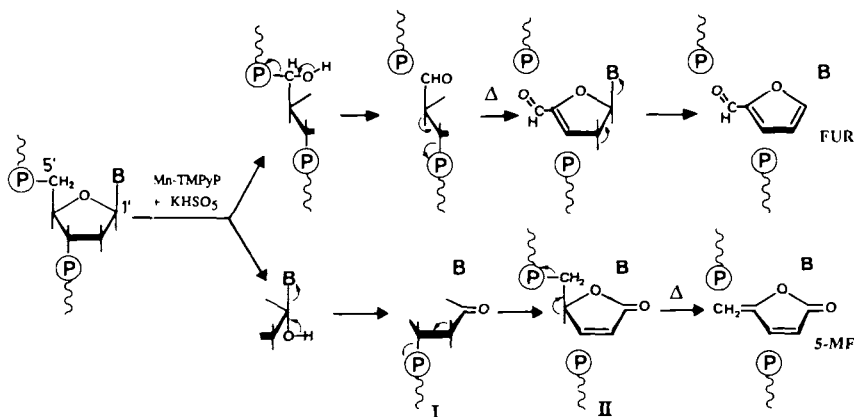
In der letzten Spalte von Tabelle 1 ist das Verhältnis zwischen einem Angriff an C5' und C1' wiedergegeben. Kalbsthymus-DNA (CT-DNA) und G-C-Polymere werden hauptsächlich an C1' hydroxyliert (der prozentuale Anteil für einen Angriff an C5' beträgt 12, 6 und 7% für CT-DNA, Poly(dG)·Poly(dC) bzw. Poly[d(G-C)·d(G-C)]. Bei A-T-Polymeren ist dagegen der Angriff an C5' deutlich bevorzugt (der prozentuale Anteil für einen Angriff an C5' beträgt 64 und 83% für Poly[d(A-T)·d(A-T)] bzw. Poly(dA)·Poly(dT)). Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß der Mechanismus der DNA-Spaltung in hohem Maße von der Basensequenz abhängt. Schema 1 zeigt den Reaktionsmechanismus, mit dem wir die beobachtete Produktverteilung erklären.

Eine Hydroxylierung am C1'-Kohlenstoffatom bewirkt eine sofortige Abspaltung der entsprechenden Nucleobase. Durch zwei anschließende β-Eliminierungen wird 5-MF freigesetzt und es entstehen zwei DNA-Stränge mit terminalen Phosphat-Resten. Bei der ersten β-Eliminierung bildet sich ein phosphoryliertes 5'-Ende. Diese Umsetzung findet vermutlich bei Raumtemperatur statt, denn durch Zugabe von NaBH₄ vor dem Erhitzen kann die Freisetzung von 5-MF verhindert werden (NaBH₄ wirkte für 30 min auf das Reaktionsgemisch ein und wurde vor dem Erhitzen der Temperatur durch Zusatz von Aceton zerstört). NaBH₄ sollte nicht mit dem Zwischenprodukt I, sondern nur mit dem Zwischenprodukt II reagieren (Schema 1)^[16]. Eine Hydroxylierung am C5'-Kohlenstoffatom führt bei Raumtemperatur zu einem 5'-ständigen Aldehyd-Rest und einem phosphorylierten 3'-Ende. Beim Erhitzen findet nun eine zweifache β-Eliminierung statt, die FUR, freie Base und ein phosphoryliertes 5'-Ende erzeugt.

Tabelle 1. Abspaltung von Nucleobasen, 5-MF und FUR für den durch Mn-TMPyP/KHSO₅ katalysierten oxidativen Abbau verschiedener DNA-Substrate[a].

	Vor Erhitzen [b]			Nach Erhitzen [b]				% [c]
	A	C	T	A	C	T	FUR	
Poly(dA)[d]	13 ± 4			20 ± 5			2.5 ± 1	29
Poly(dT)			77 ± 11			97 ± 18	9 ± 2	12
Poly(dC)		49 ± 6			58 ± 16		3 ± 1	8
Poly[d(A-T)·d(A-T)]	26 ± 3		17 ± 3	45 ± 5		42 ± 4	37 ± 4	64
Poly(dA)·Poly(dT)	11 ± 1		15 ± 4	39 ± 2		50 ± 3	57 ± 1	83
Poly[d(G-C)·d(G-C)]		64 ± 8			75 ± 8		3 ± 1	6.5
Poly(dG)·Poly(dC)		71 ± 20			92 ± 17		3.5 ± 1	5.5
CT-DNA	32 ± 4	30 ± 5	17 ± 1	35 ± 2	35 ± 2	24 ± 4	8 ± 1	12

[a] Reaktionsbedingungen: siehe Text. [b] Alle Werte (in µM) entsprechen dem Mittelwert ± Standardabweichung aus drei Messungen. Freies G wurde aufgrund seiner leichten Oxidierbarkeit in diesen Experimenten nicht nachgewiesen. [c] Die Prozentangabe gibt den prozentualen Anteil für einen Angriff an C5' wieder: % = 100 × [FUR] / [5-MF] + [FUR]. [d] Poly(dG) wurde wegen seiner speziellen Polymerisation in Lösung nicht untersucht.



Schema 1. Möglicher Reaktionsmechanismus für die Spaltung von DNA durch Hydroxylierung von Desoxyribose mit Mn-TMPyP KHSO₅. B = Base, FUR = Furfural, 5-MF = 5-Methylen-2-furanon.

Beide Reaktionswege führen zu denselben terminalen Phosphat-Resten, jedoch in unterschiedlicher Anordnung. Außerdem entstehen jeweils unterschiedliche Zuckerabbau-Produkte. In beiden Fällen findet bei Raumtemperatur ein einfacher Bruch des DNA-Strangs statt.

DNA-Modelle legen nahe, daß das H1'-Wasserstoffatom auf einem der DNA-Stränge und das H1'- oder das H5'- (oder H5'')-Wasserstoffatom einer Desoxyribose (die um zwei oder drei Basenpaare in Richtung auf das 3'-Ende der Kette verschoben ist) auf dem komplementären DNA-Strang sehr nahe beieinander liegen. Somit ist es nicht überraschend, daß kleine Unterschiede in der Wechselwirkung mit DNA in der kleinen Furche den Angriffspunkt des Spaltungsreagens verschieben können.

Wir konnten nachweisen, daß Furfural ein geeigneter Indikator für eine C5'-Hydroxylierung der DNA-Desoxyribose ist, analog zu 5-MF, das kürzlich als Indikator für eine C1'-Hydroxylierung erkannt wurde^[5, 14, 17]. Sowohl C1' auf dem einen als auch C5' auf dem anderen DNA-Strang sind häufig Angriffspunkte difunktioneller Spaltungsreagentien. Wenn eines der beiden Reaktionszentren des Spaltungsreagens auf einen DNA-Strang (auf C1') im Inneren der kleinen Furche gerichtet ist, so befindet sich das zweite Reaktionszentrum am Eingang der kleinen Furche in der Nähe eines C5'-Kohlenstoffatoms auf dem anderen DNA-Strang. Ein Beispiel dafür ist das diradikalische Zwischenprodukt des Neocarcinostatins. Die Reaktionsweise der Manganoporphyrine kann auf ähnliche Weise erklärt werden, wenn man annimmt, daß der Ligand parallel zur C1'-C5'-Achse ausgerichtet ist und sich die aktive Oxomangan-Spezies an einer der beiden *trans*-ständigen Positionen C1' oder C5' bilden kann. Eine nur geringfügig veränderte Orientierung von Spaltungsreagens und DNA kann somit für die Selektivität der C-H-Aktivierung an Desoxyribose-Einheiten in der kleinen Furche der DNA entscheidend sein.

Eingegangen am 27. Dezember 1990 [Z 4359]

CAS-Registry-Nummern:

Mn-TMPyP, 11098-9-01-0; Fur, 98-01-1; Poly(dA), 25191-20-2; Poly(dT), 25086-81-1; Poly(dC), 25609-92-1; Poly(dA) · poly(dT), 24939-09-1; Poly(dG) · poly(dC), 25512-84-9; Poly[d(A-T) · d(A-T)], 26966-61-0; Poly[d(G-C) · d(G-C)], 36786-90-0; Desoxyribonuclease, 9003-98-9; Desoxyribose, 533-67-5.

- [1] D. S. Sigman, *Biochemistry* 29 (1990) 9097.
- [2] C. von Sonntag: *The Chemical Basis of Radiation Biology*, Taylor und Francis, London 1987, S. 167-193.
- [3] J. Cadet, R. Teoule, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1975, 891.
- [4] a) S. M. Hecht, *Acc. Chem. Res.* 19 (1986) 383; b) J. Stubbe, J. W. Kozarich, *Chem. Rev.* 87 (1987) 1107.
- [5] T. E. Goynes, D. S. Sigman, *J. Am. Chem. Soc.* 109 (1987) 2846.
- [6] I. H. Goldberg, *Free Radical Biol. Med.* 3 (1987) 41.
- [7] N. Zein, A. M. Sinha, W. J. McGahren, G. A. Ellestad, *Science (Washington DC)* 240 (1988) 1198.
- [8] L. S. Kappen, I. H. Goldberg, *Biochemistry* 28 (1989) 1027.

- [9] L. S. Kappen, I. H. Goldberg, S. H. Wu, J. Stubbe, L. Worth, J. W. Kozarich, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 2797.
- [10] I. Saito, H. Kawabata, T. Fujiwara, H. Sugiyama, T. Matsuura, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 8302.
- [11] C. R. Krishnamoorthy, D. E. Vanderwall, J. W. Kozarich, J. Stubbe, *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 2008.
- [12] B. Ward, A. Skorobogaty, J. C. Dabrowski, *Biochemistry* 25 (1986) 7827.
- [13] a) E. Fouquet, G. Pratviel, J. Bernadou, B. Meunier, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1987, 1169; b) J. Bernadou, G. Pratviel, F. Bennis, M. Girardet, B. Meunier, *Biochemistry* 28 (1989) 7268; c) G. Pratviel, J. Bernadou, M. Ricci, B. Meunier, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160 (1989) 1212; d) R. B. Van Atta, J. Bernadou, B. Meunier, S. M. Hecht, *Biochemistry* 29 (1990) 4783.
- [14] J. Bernadou, B. Lauretta, G. Pratviel, B. Meunier, *C. R. Acad. Sci. Ser.* 3 309 (1989) 409.
- [15] Ein 50 µL Probe von Poly(dA) · Poly(dT) wurde nach der im Text beschriebenen Vorschrift hergestellt. Nach dem Erhitzen wurde das Reaktionsgemisch mit 300 µL Ether extrahiert, eingengt und anschließend in die GC/MS-Apparatur injiziert. (GC: Hewlett-Packard-5890; MS (70 eV): Hewlett-Packard-5970). Die gaschromatographische Trennung erfolgte mit einer Kieselgel-Kapillarsäule (12.5 m × 0.20 mm), die mit vernetztem Methylsilicon bedeckt war. Die Trennung wurde isotherm bei 80 °C, Injektor und Interface wurden bei 210 °C gehalten. Die Probe enthält nach dem Erhitzen ein Produkt, dessen Retentionszeit im GC identisch war mit der Retentionszeit einer authentischen Probe von FUR. Im Massenspektrum entsprachen der Molekülpeak (96) und das Fragmentierungsmuster des Produkts dem des FUR.
- [16] L. S. Kappen, I. H. Goldberg, *Biochemistry* 27 (1988) 4331.
- [17] Auch bei der γ-Bestrahlung von DNA wird die C1'-H-Bindung des Zuckers hydroxyliert [2, 3]. Es sollte jedoch angemerkt werden, daß in diesem Fall ohne die thermischen Reaktionsschritte (d.h. Bildung von 5-MF aus dem Zwischenprodukt I in Schema 1), aber nach saurer Hydrolyse der DNA nicht 5-MF, sondern Desoxyribonolacton als Oxidationsprodukt des Zuckers entsteht.

Einstufige Synthese von Organolanthanoid(II)-Komplexen aus dem Metall**

Von Anja Recknagel und Frank T. Edelmann*

Die Organometallchemie der zweiwertigen Lanthanoide hat sich in den letzten zehn Jahren zu einem faszinierenden Forschungsgebiet entwickelt^[1]. Eine zentrale Rolle spielen dabei die Decamethylmetallocen-Derivate des Samariums, Europiums und Ytterbiums. Als prominentes Beispiel sei das ungewöhnlich reaktive THF-Addukt des Decamethylsamarocens, [Cp₂Sm(thf)₂]^[2], genannt. Diese von Evans et al. erstmals synthetisierte Verbindung reagiert mit einer Vielzahl von Substraten zu Organosamarium(III)-Komplexen^[1c]. Die Palette neuartiger Reaktionen von [Cp₂Sm(thf)₂] reicht von der reduktiven CO-Trimerisierung^[3] über die Dimerisie-

[*] Dr. F. T. Edelmann, Dipl.-Chem. A. Recknagel
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Tammannstraße 4, W-3400 Göttingen

[**] Herrn Prof. Dr. H. W. Roesky danken wir für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit. F.T.E. dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ein Habilitationsstipendium.