

Weitere Untersuchungen an diesen Salzen, deren Eigenchaften vom Kation abhängen, sind im Gange.

Experimentelles

1: 200 mg (0.45 mmol) BiPh_3 wurden in 15 mL THF gelöst. Zu der Lösung wurden 0.14 mL (1.87 mmol) Trifluoressigsäure gegeben. Nach 1 h Röhren wurden 78 mg (0.45 mmol) tmpa zugesetzt. Nach 1 h wurde die Lösung auf ca. 5 mL eingeeignet, zur Kristallisation des Produkts wurde mit Hexan überschichtet. Die farblosen Kristalle von 1 wurden nach 24 h abgetrennt. Ausbeute: 250 mg (0.26 mmol, 63%). – Korrekte C,H,N-Analyse. $^1\text{H-NMR}$ (D_6Aceton): $\delta = 2.52$ (m, CH_2 , 2H), 3.07 (s, CH_3 , 12H), 3.47 (t, CH_2 , 4H), 7.37 (m, CH , 1H), 7.91 (m, CH , 2H), 8.90 (m, CH , 2H).

Die Verbindungen 2 und 3 wurden auf gleicher Weise erhalten. – Befriedigende C,H,N-Analyse für 2, korrekte C,H,N-Analyse für 3. $^1\text{H-NMR}$ (D_6Aceton) für 2: $\delta = 3.16$ (s, CH_3 , 12H), 3.98 (s, CH_2 , 4H), 7.38 (m, CH , 1H), 7.92 (m, CH , 2H), 8.86 (m, CH , 2H); für 3: $\delta = 3.14$ (s, CH_3 , 12H), 3.42 (q, CH , 2H), 3.53 (q, CH , 2H), 4.88 (m, CH , 1H), 7.39 (m, CH , 1H), 7.90 (m, CH , 2H), 8.88 (m, CH , 2H).

Eingegangen am 14. Oktober 1992 [Z 5626]

- [1] G. A. Jeffery, W. Saenger, *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer, New York, 1991.
- [2] W. C. Hamilton, J. A. Ibers, *Hydrogen Bonding in Solids*, Benjamin, New York, 1968; A. F. Wells, *Structural Inorganic Chemistry*, 4. Aufl., Clarendon, Oxford, 1975.
- [3] S. Wang, S. J. Trepanier, J. C. Zheng, Z. Pang, M. J. Wagner, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 2118–2127; J.-M. Lehn, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1347; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1304.
- [4] Kristalldaten: **1**: $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{BiF}_{12}\text{O}_8\text{N}_2$, $M_r = 870.42$, monoklin, Raumgruppe $\text{C}2/c$, $a = 9.161(5)$, $b = 16.617(6)$, $c = 19.94(1)$ Å, $\beta = 94.12(5)$ °, $V = 3027$ Å 3 , $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.90$ g cm $^{-3}$; **2**: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{BiF}_{12}\text{O}_8\text{N}_2$, $M_r = 856.41$, orthorhomatisch, Raumgruppe $\text{Pna}2$, $a = 26.117(9)$, $b = 13.176(4)$, $c = 8.644(2)$ Å, $V = 2974(2)$ Å 3 , $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.91$ g cm $^{-3}$; **3**: $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{BiF}_{12}\text{O}_9\text{N}_2$, $M_r = 886.42$, monoklin, Raumgruppe $\text{C}2/c$, $a = 9.242(6)$, $b = 16.53(1)$, $c = 19.840(6)$ Å, $\beta = 93.69(4)$ °, $V = 3025(3)$ Å 3 , $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.95$ g cm $^{-3}$. Farblose Kristalle von 1–3 wurden aus THF-Lösungen durch langsames Eindiffundieren von Hexan bei 23°C erhalten. Die Kristalle wurden an Glasfaserfestig und mit Epoxidklebstoff vor Luft geschützt. Datensammlung für alle Verbindungen im Bereich $2 < 2\theta < 48$ ° auf einem Rigaku-AFC6-S-Diffraktometer ($\text{Mo}_{\text{K}\alpha}$ -Strahlung, 50 kV, 35 mA, Graphitmonochromator). Strukturlösung auf einer VAX-Workstation 3520 mit dem Programmpaket TEXSAN (Version 5.0), Lorentz-Korrektur, empirische Absorptionskorrektur. Die Lage des Bi-Atoms wurde in allen Strukturen mit direkten Methoden ermittelt. Konvergenz im letzten Verfeinerungszyklus bei R - und R_w -Werten von 0.082 bzw. 0.087 (1, 150 Parameter, 970 Reflexe), 0.072 bzw. 0.072 (2, 170 Parameter, 1190 Reflexe) und 0.057 bzw. 0.054 (3, 152 Parameter, 1054 Reflexe); für alle Reflexe gilt $F^2 \geq 3\sigma(F^2)$. Die hohen R -Werte für 1 und 2 sind durch die schlechte Qualität der Kristalle bedingt, die verzweigt waren. In allen Verbindungen waren die CF_3 -Gruppen in unterschiedlichem Maß fehlgeordnet, was auch die Qualität der Strukturbestimmung von 1 und 2 beeinträchtigt haben könnte. Die Lagen der Wasserstoffatome in 2 wurden berechnet. Ihre Beiträge wurden in die endgültige Berechnung der Strukturfaktoren miteinbezogen. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, W-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-56897, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.
- [5] J. Emsley, *Chem. Soc. Rev.* **1980**, *9*, 91–124.
- [6] C. A. McAuliffe in *Comprehensive Coordination Chemistry*, Vol. 3 (Hrsg.: G. Wilkinson, R. D. Gillard, J. A. McCleverty), Pergamon, Oxford, 1987, S. 237–298.
- [7] M. C. Massiani, R. Papiernik, L. G. Hubert-Pfalzgraf, J. C. Daran, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 301–302.
- [8] E. Asato, W. L. Drissen, R. A. G. de Graaff, F. B. Hulsbergen, J. Reedijk, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4210–4218.
- [9] D. H. R. Barton, B. Charpiot, E. T. H. Dau, W. B. Motherwell, C. Pascard, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 586–599.

Selektive Spaltung einer 35mer-Einzelstrang-DNA, die den Startcodon des TAT-Gens von HIV-1 enthält, durch ein maßgeschneidertes kationisches Manganporphyrin-Konjugat**

Von Marguerite Pitié, Christiane Casas, C. Jeffrey Lacey, Geneviève Pratviel, Jean Bernadou und Bernard Meunier*

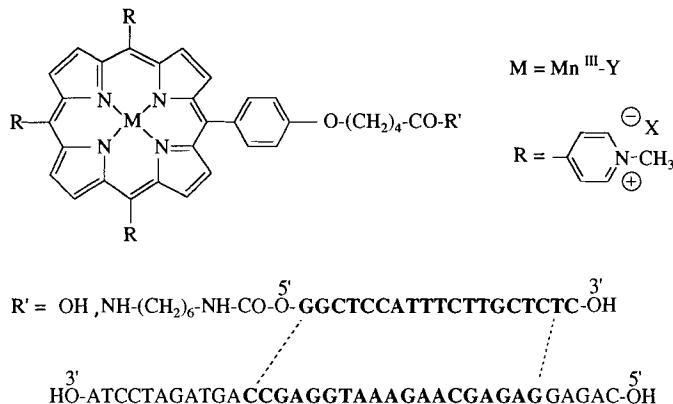
Seit gut zehn Jahren werden Antisense-Oligonucleotide als potentielle antivirale Wirkstoffe getestet. Nach der Arbeit von Zamecnik und Stephenson^[1] über die Inhibierung der Replikation des Rous-Sarcoma-Virus durch ein 13mer-Oligonucleotid wurde gezeigt, daß HIV durch mehrere chemisch modifizierte Oligonucleotide inhibiert werden kann^[2–4]. Die Resistenz gegenüber Nucleasen wurde durch die Verwendung von Phosphorthioat-Oligonucleotiden und die zelluläre Aufnahme durch Bindung an Polylysins^[5] oder an lipophile Gruppen^[6] erhöht. Viele dieser modifizierten Antisense-Oligonucleotide wirkten jedoch sequenzunabhängig antiviral^[7]. Außerdem erfordert eine antivirale Aktivität in Zellkulturen oft μM -Konzentrationen, d. h. Werte, die mindestens zwei Größenordnungen über dem Konzentrationswert liegen, der für eine schnelle Entwicklung von neuen, auf Antisense-Oligonucleotiden beruhenden antiviralen Wirkstoffen benötigt wird. Wir berichten nun über die effektive in-vitro-Spaltung eines 35mers, das der DNA-(+)Strang-Sequenz entspricht, die die ersten acht Codons des HIV-1-TAT-Gens enthält, durch einen kationischen Manganporphyrin-Komplex, wobei dieser durch ein 19mer vektorisiert wird, das komplementär zum Target ist. Die Spaltungen finden sogar in Gegenwart eines großen Überschusses einer beliebigen Doppelstrang-DNA und bei geringen Konzentrationen (10 nM) mit nur 2.6 Molekülen des Metalloporphyrin-Konjugats pro Targetmolekül statt.

Gegenüber allen möglichen DNA-spaltenden Verbindungen^[8, 9], die an Oligonucleotide gebunden wurden, um aktive Antisense-Oligonucleotide zu erhalten^[10], hat die Leitstruktur *Tris(N-methylpyridinio)porphyrinatomangan(III)* (Mn-trisMPyP) einige bedeutende Vorteile: 1) Die Ausgangsverbindung *meso-Tetrakis(N-methylpyridinio)porphyrinatomangan(III)* (Mn-TMPyP) spaltet DNA sehr gut, da sie C-H-Bindungen an den 1'- und 5'-Positionen der Desoxyribose-Einheiten hydroxylieren kann^[11, 12]; 2) Mangan-Ionen werden in vivo aus synthetischen Porphyrinen nicht entfernt^[13]; 3) diese kationischen Manganporphyrine zeigen eine nicht unerhebliche anti-HIV-Aktivität^[14]. Ausgehend von einem *Tris(methylpyridinio)porphyrinatomangan(III)* mit einer Säurefunktion in der *para*-Position der *meso*-Phenylgruppe ($\text{R}' = \text{OH}$ in Schema 1) wurde die kovalente Bindung an das 19mer, an dessen 5'-Position ein Aminozwischenglied gebunden war, gebildet, indem die Säurefunktion mit Carbonyldiimidazol aktiviert und anschließend mit 1-Hydroxybenzotriazol umgesetzt wurde. Das Manganporphyrin-Konjugat $\text{Mn-trisMPyP-5'-GGCTCCATTCTTGCTCT}$ (siehe Struktur in Schema 1) wurde auf einer kurzen Säule mit Polyacrylamidgel und durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) gereinigt. Bei diesen Reinigungsmethoden trat kein Verlust an Produkt auf, während die Verwendung von Sephadexsäulen zu einem beträchtlichen Abbau

[*] Dr. B. Meunier, M. Pitié, Dr. C. Casas, Dr. C. J. Lacey, Dr. G. Pratviel, Prof. Dr. J. Bernadou
Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS
205 route de Narbonne, F-31077 Toulouse Cedex (Frankreich)

[**] Diese Arbeit wurde von der französischen Behörde für AIDS-Forschung (ANRS), der Région Midi-Pyrénées und dem CNRS gefördert. Dr. C. J. Lacey und Dr. C. Casas danken dem CNRS bzw. Pierre Fabre Medicaments für Forschungsstipendien. Wir danken Christophe Loup für die hervorragende präparative Unterstützung und die Herstellung der Metalloporphyrin-Vorstufen.

des Hybridmoleküls führte. Die Kette hat 17 Bindungen, und ihre Länge ermöglicht die Bindung des kationischen Manganporphyrins in der vom 19mer-Vektor und seiner komplementären Sequenz im 35mer-Target 5'-CAGAGGA-GAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTA gebildeten kleinen Spalte. Dieses DNA-Target entspricht der Region, die den Startcodon von TAT (35mer = Nucleotide 5360 bis 5394 gemäß der Numerierung in Lit.^[15]) enthält. Mit einigen Antisense-Oligonucleotiden konnte die Expression des HIV transacting factors TAT oder anderer viraler Proteine wie REV oder ENV inhibiert werden^[16, 17].



Schema 1. Strukturformeln der kationischen Manganporphyrin-Vorstufe ($R' = OH$), des Hybridmoleküls und der Startcodon-Region des HIV-1-TAT-Gens (R' im Hybridmolekül enthält ein 19mer-Komplementäres zu dieser Startcodon-Region mit einem Aminozwischenglied an der 5'-Position). Der axiale Ligand Y ist bei $pH < 7$ ein Wassermolekül und bei $pH > 7$ eine Hydroxygruppe. Das Gegenion X^- des bei der Kupplungsreaktion eingesetzten Tris(methylpyridinio)porphyrins war I^- .

Die in-vitro-Tests der anti-TAT-Nucleaseaktivität des vektorisierten Manganporphyrins wurden mit Kaliummonopersulfat durchgeführt, einem wasserlöslichen Sauerstoffatom-Donor, den wir bereits zur Erzeugung von aktiviertem Bleomycin^[18] und von Oxomanganporphyrin-Komplexen verwendet hatten^[11–12, 19, 20] (solche Oxometallverbindungen können in Zellen mit molekularem Sauerstoff und einer Elektronenquelle nach einem Mechanismus, der dem der P-450-Enzyme ähnlich ist, hergestellt werden). Unter den experimentellen Bedingungen spaltet das Manganporphyrin-Konjugat Mn-trisMPyP-19mer das HIV-35mer bei sehr geringer Konzentration (10 nm) und mit nur 2.6 Äquivalenten des vektorisierten DNA-Spalters bezüglich des Targets (Spur 8 in Abb. 1). Solch eine bemerkenswerte Nucleaseaktivität wird in Gegenwart eines großen Überschusses einer beliebigen Doppelstrang-DNA aus Lachshoden erhalten. Die Hauptspaltstellen an dem 35mer befinden sich an der 3'-Seite einer 5'-AAAT-Sequenz (zwei einzelne Banden bei T und G, denen Schmierbanden hoher Intensität vorausgehen). Diese Sequenz und der Komplementärstrang bilden zwei A · T-Triplets (zwei überlappende Rechtecke in Abb. 1), welche die Stellen mit der höchsten Affinität für das Stamm-Metalloporphyrin Mn-TMPyP sind^[12]. Aufgrund früherer Untersuchungen wurde erwartet, daß das freie Mn-TMPyP das Duplex aus dem 35mer und dem freien 19mer-Vektor nur an den der 3'-Seite eines jeden A · T-Triplets benachbarten Nucleotiden spaltet (T und G im vorliegenden Fall, siehe Pfeile in Abb. 1). Dies ist bei höherer Konzentration (1 μ M) für das nichtvektorisierte Manganporphyrin auch tatsächlich der Fall (Spur 11). Bei nM-Konzentrationen wurde mit diesem Porphyrin keine Spaltung erreicht (Spur 12–14). Zwei einzelne Banden und starke Verschmie-

rungen in den Spuren 6–8 lassen vermuten, daß der Mechanismus der DNA-Spaltung beim vektorisierten Manganporphyrin nicht auf den spezifischen 5'-Mechanismus des freien Metalloporphyrins Mn-TMPyP beschränkt ist^[12].

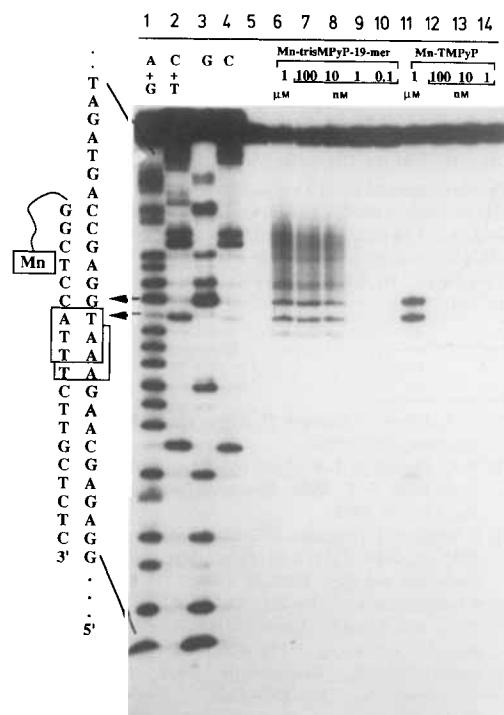


Abb. 1. Elektrophoretische Analyse der Spaltung einer 5'-markierten 35mer-Einzelstrang-DNA, die den Startcodon des HIV-1-TAT-Gens enthält, durch das maßgeschneiderte kationische Manganporphyrin-Konjugat Mn-trisMPyP-19-mer. Spur 1: Maxam-Gilbert A + G; Spur 2: C + T; Spur 3: G, Spur 4: C; Spur 5: 1 μ M des Konjugats Mn-trisMPyP-19-mer ohne $KHSO_4$ (Kontrolle); Spuren 6 bis 10: 1 μ M, 100, 10, 1 bzw. 0.1 nM des Konjugats Mn-trisMPyP-19-mer, mit 1 mM $KHSO_4$; Spuren 11 bis 14: das Mn-porphyrin-Konjugat wird durch 1 μ M des freien 19-mers und 1 μ M, 100, 10, bzw. 1 nM Mn-TMPyP mit 1 mM $KHSO_4$ ersetzt.

Die Beobachtung, daß die Kupplung der Spaltungsleitstruktur Tris(methylpyridinio)porphyrinatmangan(III) an einen 19mer-Vektor auch in Gegenwart eines großen Überschusses beliebiger DNA die selektive Erkennung und Spaltung des komplementären Targets ermöglicht, rechtfertigt weitere Untersuchungen mit Nuclease-resistanten Manganporphyrin-Konjugaten an RNA-Targets sowohl *in vitro* (ein geeignetes Modell für HIV wäre sicherlich eine Einzelstrang-RNA, die einen AUG-Startcodon wie virale RNA enthält) als auch auf zellulärer Ebene.

Experimentelles

Die Oligonucleotide wurden nach dem Standard-Festphasen- β -Cyanooethyl-phosphoramidit-Verfahren auf einer Cyclone-Plus-DNA-Apparatur von Milligen/Bioscience synthetisiert. Sowohl das 35mer als auch das freie 19mer wurden auf denaturierenden 20proz. Polyacrylamidgelen bis zur Homogenität gereinigt. Die Konzentration der Einzelstrang-Oligonucleotide wurden bei 260 nm entsprechend Lit. [21] ermittelt. Das 35mer wurde am 5'-Ende durch Behandlung mit T4-Polymerase-Kinase und $[\gamma-^{32}P]$ -ATP markiert.

Synthese des Konjugats Mn-trisMPyP-19mer: 5 mg (4.1 μ mol) des kationisch funktionisierten Porphyrins (Schema 1; R = Methylpyridinio, $R' = OH$; für die Herstellung siehe Lit. [22]) wurden in 600 μ L einer wässrigen Lösung von $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (10.3 mg, 52 μ mol) partiell gelöst und durch 4.5 h Erhitzen in einem verschlossenen Schraubdeckel-Eppendorf-Röhrchen metalliert. Die Lösung wurde bis zur Trockne eingedampft (Speed-Vac), der Rückstand in wasserfreiem Dimethylformamid (DMF) gelöst, die Lösung filtriert und das Produkt durch Zugabe von THF ausgefällt. Das Gemisch wurde zentrifugiert

(8000 U min⁻¹, 25 min), der Überstand abgesaugt, der Feststoff mit THF verrieben und das Gemisch ein zweites Mal zentrifugiert. Das im Vakuum getrocknete metallierte kationische Porphyrin (2.87 mg, 2.3 µmol) wurde in 150 µL wasserfreiem DMF gelöst und mit Carbonyldiimidazol (CDI, 7.11 mg, 44 µmol) versetzt. Nach 13 h wurde 1-Hydroxybenzotiazol (12 mg, 88 µmol) zugegeben und nach 4 h bei Raumtemperatur das überschüssige CDI durch Zugabe von 20 µL 0.2 M Hepes-Puffer, pH 8, hydrolysiert. Nach 30 min wurde die Lösung zu 2.1 Einheiten optischer Dichte (1 Einheit optischer Dichte liefert in 1.0 mL 0.1 M NaCl bei pH 7.0 und hier $\lambda = 260$ nm eine Absorption von 1.0 bei einer Küvettenlänge von 1 cm, 13.4 nmol) des NH₂-19mer-Oligonukleotids in 20 µL Puffer gegeben (dieses Oligonukleotid wurde mit der automatischen Phosphoramidit-Methode hergestellt und in der 5'-Position nach der Methode von Wachter et al. [23] funktionalisiert). Die Lösung wurde 20 h bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden die Lösungsmittel im Vakuum (Speed-Vac) entfernt, der Rückstand in 500 µL Wasser aufgenommen und diese Lösung auf eine mit Wasser aquilibrierte Bio-Gel-P-2(F)-Säule (2.5 g, 10 mL) von Bio-Rad gegeben. Das Rohprodukt wurde durch HPLC gereinigt (Gen-Pak-Fax-Säule von Waters; A = 0.025 M Tris · HCl, pH 8.5; B = A + 1 M NaCl; lineare Gradient: 10 bis 90% B innerhalb von 45 min; Fließgeschwindigkeit = 0.7 mL min⁻¹; 2-Kanal-Diodenarray-Detektor) und auf einem Bio-Gel-P-2(F)-Bett (2 g, Wasser) entsalzt. Ein Vergleich der UV/Vis-Spektren vor und nach dem Entsalzen zeigte keinen Verlust an Produkt. Die spektrophotometrischen Daten sind: Oligonukleotid: $\epsilon_{260} = 1.6 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; Mn^{III}-Porphyrin: $\epsilon_{466} = 0.98 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; Hybrideinheiten berechnet: $\epsilon_{466}/\epsilon_{260} = 0.62$, gemessen: $A_{468}/A_{264} = 0.63$. Die Ausbeute betrug nach dem letzten Reinigungsschritt und dem Entsalzen 25% (UV-spektroskopisch bei 264 nm bestimmt). Die HPLC-Retentionszeit des Konjugats betrug 20.1 min, die des freien Oligonukleotids 22.6 min.

In jeder DNA-Spaltungsreaktion (siehe Abb. 1) wurden 3.75 nm des 5'-markierten 35mers (21 300 cpm/nmol⁻¹, 9.6 nCi/nmol⁻¹), 0.1 nm bis 1 µM des Mn-trisMPyP-19mers (DNA-Spalter/Target-Verhältnis von 0.026 bis 260) und 400 µM an Nukleotiden von Doppelstrang-DNA aus Lachshoden (3000 Äquivalente in bezug auf das 35mer) in einer Lösung, 125 mM an NaCl und 50 mM an Tris · HCl-Puffer (pH 8), eingesetzt. Zur Hybridisierung des freien Mn-trisMPyP-19mers mit dem 35mer wurde das Gemisch 3 min auf 90°C erhitzt, anschließend innerhalb von 4 h auf 37°C abgekühlt und ca. 12 h bei 4°C aufbewahrt. Alle Tests (Gesamtvolumen 16 µL) wurden bei 4°C durchgeführt. Bei den Umsetzungen ohne Konjugat wurde das freie 19mer mit dem 35mer hybridisiert und dann mit 1 nm bis 1 µM des DNA-Spalters Mn-TMPyP ohne Vektor (Pentaacetat von meso-Tetrakis(*N*-methylpyridino)porphyrinatomanagan(III); zur Herstellung siehe Lit. [11]) 15 min bei 4°C vorinkubiert, bevor KHSO₄ zugegeben wurde. Die DNA-Spaltungsreaktionen wurden durch die Zugabe von 1 mM KHSO₄ gestartet. Nach 1 h bei 4°C wurden die Reaktionen mit 40 mM Hepes-Puffer (pH 8) gestoppt und die Mischungen 30 min auf 90°C erhitzt (alle angegebenen Konzentrationen sind Endkonzentrationen). Nach dem Kühlen auf 4°C wurden die Proben mit 1 µL tRNA auf Hefe (10 mg mL⁻¹) und 100 µL 0.3 M Natriumacetat in Wasser (pH 5.2) verdünnt, mit 300 µL Ethanol ausgefällt und schließlich mit 75proz. Ethanol gespült und lyophilisiert. Die DNA-Fragmente wurden durch Elektrophorese an 20proz. Polyacrylamidgel unter denaturierenden Bedingungen (7 M Harnstoff) wie früher beschrieben [12] analysiert.

Eingegangen am 4. November,
veränderte Fassung am 22. Dezember 1992 [Z 5663/5665]

- [1] P. C. Zamecnik, M. L. Stephenson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 280.
- [2] S. Agrawal, T. Ikeuchi, D. Sun, A. Konodka, J. Maizel, P. C. Zamecnik, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 7790.
- [3] E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 543.
- [4] a) *Prospects for Antisense Nucleic Acid Therapy of Cancer and AIDS* (Hrsg.: E. Wickstrom), Wiley-Liss, New York, **1991**; b) M. Matsukura, H. Mitsuya, S. Broder in [4a], S. 159.
- [5] L. Leserman, G. Degols, P. Machy, J. P. Leonetti, N. Mechté, B. Lebleu in [4a], S. 25.
- [6] C. MacKellar, D. Graham, D. W. Will, S. Burgess, T. Brown, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 3411.
- [7] C. A. Stein, R. Pal, A. L. DeVico, G. Hoke, S. Mumbauer, O. Kinstler, M. G. Sarngadharan, R. L. Letsinger, *Biochemistry* **1991**, *30*, 2439.
- [8] H. E. Moser, P. B. Dervan, *Science* **1987**, *238*, 645.
- [9] D. Sigman, *Biochemistry* **1990**, *29*, 9097.
- [10] a) V. Vlassov, L. A. Yakubov in [4a], S. 243; b) T. Le Doan, L. Perrouault, C. Hélène, M. Chassignol, N. T. Thuong, *Biochemistry* **1986**, *25*, 6736; T. Le Doan, L. Perrouault, M. Chassignol, N. T. Thuong, C. Hélène, *Nucleic Acids Res.* **1987**, *15*, 8643; T. Le Doan, D. Praseuth, L. Perrouault, M. Chassignol, N. T. Thuong, C. Hélène, *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 108.
- [11] J. Bernadou, G. Pratviel, F. Bennis, M. Girardet, B. Meunier, *Biochemistry* **1989**, *28*, 7268.
- [12] M. Pitié, G. Pratviel, J. Bernadou, B. Meunier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 3967.
- [13] R. J. Fiel, E. Mark, T. Button, S. Gilani, D. Musser, *Cancer Lett.* **1988**, *40*, 23.

- [14] L. Ding, J. Balzarini, D. Schols, B. Meunier, E. De Clercq, *Biochem. Pharmacol.* **1992**, *44*, 1675.
- [15] S. Wain-Hobson, P. Sonigo, O. Danos, S. Cole, M. Alizon, *Cell* **1985**, *40*, 9.
- [16] T. Shimada, H. Fugii, B. Maier, S. Hayashi, H. Mitsuya, S. Broder, A. W. Nienhuis, *Antiviral Chem. Chemother.* **1991**, *2*, 133.
- [17] G. Szakiel, M. Pawlita, *J. Virol.* **1991**, *65*, 468.
- [18] G. Pratviel, J. Bernadou, B. Meunier, *Biochem. Pharmacol.* **1989**, *38*, 133.
- [19] L. Ding, J. Bernadou, B. Meunier, *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 201.
- [20] L. Ding, G. Etemad-Moghadam, S. Cros, C. Aclair, B. Meunier, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 900.
- [21] *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology-Nucleic Acids* (Hrsg.: G. Fasman), 3. Aufl., CRC Press, **1975**, S. 175.
- [22] C. Casas, B. Saint-Jalmes, C. Loup, C. J. Lacey, B. Meunier, *J. Org. Chem.* **1993**, im Druck.
- [23] L. Wachter, J. A. Jablonski, K. L. Ramachandran, *Nucleic Acids Res.* **1986**, *14*, 7985.

Transferhydrierung und -deuterierung von Buckminsterfullerenen C₆₀ durch 9,10-Dihydroanthracen bzw. 9,9',10,10'-[D₄]Dihydroanthracen**

Von *Christoph Rüchardt**, *Matthias Gerst*, *Jochen Ebenhoch*, *Hans-Dieter Beckhaus*, *Eleanor E. B. Campbell*, *Ralf Tellmann*, *Helmut Schwarz*, *Thomas Weiske* und *Stephan Pitter*

Seit der Entdeckung und Charakterisierung von Buckminsterfullerenen C₆₀ wurden viele Versuche zu dessen Derivatisierung unternommen^[1]. Auch die hydrierten Fullerene C₆₀H_x waren Gegenstand zahlreicher, meist theoretischer Publikationen^[2], die zu dem Schluß führten, daß primär und exotherm eine 1,2-Addition von Wasserstoff eintritt. Lediglich bei der Birch-Reduktion von C₆₀^[3] konnte ein dünnenschichtchromatographisch (DC) einheitliches Produkt C₆₀H₃₆ isoliert werden, dessen Elektronenstoßionisations(EI)-Massenspektren allerdings auf die Präsenz einer zweiten Komponente mit der Summenformel C₆₀H₁₈ hinwiesen. Es konnte nicht entscheiden werden, ob das nicht isolierte C₆₀H₁₈ ein Produkt der Birch-Reduktion oder ein Pyrolyseprodukt von C₆₀H₃₆ war.

Wir haben nun gefunden, daß sich Buckminsterfullerenen C₆₀ mit dem von uns kürzlich beschriebenen neuen Verfahren der Transferhydrierung^[4, 5] vollständig und reproduzierbar in zwei Hydrierungsprodukte, C₆₀H₃₆ oder C₆₀H₁₈, überführen läßt. Das Verfahren eignet sich auch zur Synthese von C₆₀D₁₈ und C₆₀D₃₆. Da es sich bei dem ersten Schritt dieser Reaktion um eine molekülinduzierte Radikalbildung^[6] durch H-Addition handelt, war C₆₀ wegen seiner Qualifizierung als „Radical Sponge“^[7] in dieser Reaktion eingesetzt worden.

[*] Prof. Dr. C. Rüchardt, Dipl.-Chem. M. Gerst, Dipl.-Chem. J. Ebenhoch, Dr. H.-D. Beckhaus
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Albertstraße 21, W-7800 Freiburg
Dr. E. E. B. Campbell, cand. phys. R. Tellmann
Fakultät für Physik der Universität Freiburg und
Freiburger Materialforschungszentrum
Prof. Dr. H. Schwarz, Dr. T. Weiske

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Berlin
Straße des 17. Juni 135, W-1000 Berlin 12
Dipl.-Chem. S. Pitter
Institut für Anorganische Chemie der Universität Heidelberg

[**] Bimolekulare Radikalbildung durch H-Transfer, 3. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Herrn Prof. Dr. F. Diederich, ETH Zürich, danken wir für reines C₆₀, den Herren Dr. W. Deck, Dipl.-Chem. R. Neuber und Dipl.-Chem. A. Meissner für ¹H-NMR- bzw. FT-IR-Spektren, Prof. Dr. H. Grützmacher für anregende Diskussionen.