

1 und 2 resultierenden sterischen Unterschiede minimal sein. Daher beruht der Fluktuationsprozeß, den man bei 3, aber nicht bei 4 beobachtet, höchstwahrscheinlich auf der Fähigkeit von 3, eine Zwischenstufe wie 5 zu bilden, was für 4 chemisch nicht möglich ist (siehe Abb. 2). Cyclovoltammetrische und elektrochemische Messungen mit einer rotierenden Elektrode, die für 3 und 4 durchgeführt wurden (bezogen auf Fc/Fc^+), zeigen, daß die elektrochemischen Reaktionen Einelektronen-Oxidationen sind. So könnten aus einkernigen Rh^{I} -Komplexen mit zwei-zähligen, über eine Aren- und eine Phosphanogruppe koordinierenden Liganden durch Oxidation stabile, isolierbare, einkernige Klavierstuhl-Rhodium(II)-Komplexe zugänglich sein. Obwohl es sehr viele zweikernige Rh^{II} -Komplexe und einige wenige einkernige Rh^{II} -Komplexe gibt, sind keine einkernigen Rh^{II} -Komplexe mit Liganden vom Typ 1 und 2 sowie Klavierstuhl-Struktur bekannt^[12].

Experimentelles

Alle NMR-Spektren wurden, soweit nicht anders angegeben, bei 20 °C auf einem Varian-Gemini-300 MHz-Spektrometer aufgenommen. Der externe Standard der ³¹P-NMR-Spektren war 85proz. Phosphorsäure. Das verwendete Silicagel (60 Å, 230–400 mesh ASTM) wurde von Baxter Scientific Products bezogen; 1 und 2 wurden durch Säulenchromatographie an Silicagel mit einer 15proz. Lösung von Diethylether in Pentan als Eluens isoliert. In beiden Fällen war der Ligand die einzige Fraktion. Analytisch reine Substanzproben wurden durch Umkristallisieren in Ethanol bei –20 °C erhalten (Ausbeuten: 1: 70%; 2: 76%).

1: ¹H-NMR (C_6D_6): δ = 2.41 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.7 Hz, 2H; CH_2P), 3.92 (q, $J(\text{H,H})$ = $J(\text{P,H})$ = 7.7 Hz, 2H; CH_2O), 7.40–6.71 (m, 15H; Ph); ³¹P-NMR (C_6D_6): δ = –21.8 (s); MS(EI): (70 eV, 190 °C) m/z : 306 [M^+]; Elementaranalyse ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{OP}$: C 78.42, H 6.25; gef.: C 78.52, H 6.44

2: ¹H-NMR (CDCl_3): δ = 1.79 (m, 2H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2.09 (dt, $J(\text{H,H})$ = 7.2 Hz, $J(\text{P,H})$ = 4.7 Hz, 2H; CH_2P), 2.76 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.4 Hz, 2H; CH_2Ph), 7.43–7.15 (m, 15H; Ph); ³¹P-NMR (CDCl_3): δ = –15.2 (s); MS(EI): (70 eV, 190 °C) m/z : 304 [M^+]; Elementaranalyse ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{P}$: C 82.87, H 6.95; gef.: C 82.62, H 7.07

3: ¹H-NMR (600 MHz, CD_2Cl_2): δ = 1.76 (dt, $J(\text{H,H})$ = 6.6, $J(\text{P,H})$ = 9.6 Hz, 2H; CH_2P), 2.07 (m, 2H; CH_2P), 4.05 (m, 4H; CH_2O), 4.63 (t, $J(\text{H,H})$ = 6.1 Hz, 1H; $\eta^6\text{-p-C}_6\text{H}_5$), 6.75 (d, $J(\text{H,H})$ = 6.2 Hz, 2H; $\eta^6\text{-o-C}_6\text{H}_5$), 6.80 (d, $J(\text{H,H})$ = 7.8 Hz, 2H; $\text{o-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 6.88 (m, 2H; $\eta^6\text{-m-C}_6\text{H}_5$), 7.00 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.4 Hz, 1H; $\text{p-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 7.28–7.47 (m, 22H; Ph); ³¹P-NMR (CD_2Cl_2): δ = 32.6 (dd, $J(\text{Rh,P})$ = 198.7, $J(\text{P,P})$ = 38.6 Hz), 34.9 (dd, $J(\text{Rh,P})$ = 210.4, $J(\text{P,P})$ = 38.6 Hz); FAB-MS: m/z : 715 [M^+]; Elementaranalyse ber. für $\text{C}_{40}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{P}_2\text{RhBF}_4$: C 59.88, H 4.77; gef.: C 59.70, H 4.91

4: ¹H-NMR (400 MHz, CD_2Cl_2): δ = 1.44 (m, 6H; CH_2P), 1.90 (dt, $J(\text{H,H})$ = 4.8, $J(\text{P,H})$ = 10.4 Hz, 2H; CH_2P), 2.37 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.2 Hz, 2H; $\text{CH}_2(\eta^6\text{-Ph})$), 2.56 (t, $J(\text{H,H})$ = 4.8 Hz, 2H; CH_2Ph), 4.68 (t, $J(\text{H,H})$ = 6.0 Hz, 1H; $\eta^6\text{-p-C}_6\text{H}_5$), 6.78 (m, 2H; $\eta^6\text{-m-C}_6\text{H}_5$), 6.85 (d, $J(\text{H,H})$ = 7.2 Hz, 4H; $\text{o-C}_6\text{H}_5$), 7.44–7.16 (m, 23H; Ph); ³¹P-NMR (CD_2Cl_2): δ = 34.6 (dd, $J(\text{Rh,P})$ = 203.9, $J(\text{P,P})$ = 40.6 Hz), 39.8 (dd, $J(\text{Rh,P})$ = 198.8, $J(\text{P,P})$ = 40.6 Hz); FAB-MS: m/z : 711 [M^+]; Elementaranalyse ber. für $\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{P}_2\text{RhBF}_4$: C 63.18, H 5.31; gef.: C 62.63, H 5.50

6: ¹H-NMR (CD_2Cl_2 ; –45 °C): δ = 1.62 (s, 6H; CH_3CN), 2.11 (m, 4H; CH_2P), 4.46 (m, 4H; CH_2O), 6.79 (d, $J(\text{H,H})$ = 7.7 Hz, 4H; $\text{o-C}_6\text{H}_5$), 6.96 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.3 Hz, 2H; $\text{p-C}_6\text{H}_5$), 7.42–7.25 (m, 24H; Ph); ³¹P-NMR (CD_2Cl_2 ; –45 °C): δ = 37.71 (d, $J(\text{Rh,P})$ = 170.5 Hz)

7: ¹H-NMR (CD_2Cl_2): δ = 3.21 (m, 4H; CH_2P), 4.32 (m, 4H; CH_2O), 6.58 (d, $J(\text{H,H})$ = 7.4 Hz, 4H; $\text{o-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 6.96 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.4 Hz, 2H; $\text{p-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 7.21 (m, 4H; $\text{m-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 7.64–7.51 (m, 20H; Ph₂P); ³¹P-NMR (für ¹³CO markiertes 7, CD_2Cl_2 ; –78 °C): δ = 31.5 (dq, $J(\text{Rh,P})$ = 71.7, $J(\text{C,P})$ = 14.1 Hz); FAB-MS: m/z : 743 [M^+ – 2CO]

8: ¹H-NMR (CD_2Cl_2): δ = 3.20 (m, 4H; CH_2P), 4.33 (m, 4H; CH_2O), 6.67 (d, $J(\text{H,H})$ = 8.0 Hz, 4H; $\text{o-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 6.98 (t, $J(\text{H,H})$ = 7.3 Hz, 2H; $\text{p-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 7.23 (m, 4H; $\text{m-C}_6\text{H}_5\text{O}$), 7.67–7.48 (m, 20H; Ph₂P); ³¹P-NMR (für ¹³CO markiertes 8, CD_2Cl_2 ; –78 °C): δ = 18.9 (dt, $J(\text{Rh,P})$ = 106.8, $J(\text{C,P})$ = 15.5 Hz); IR(CH_2Cl_2): ν_{CO} = 1997 (vs), 1932 (w) cm^{-1} ; FAB-MS: m/z : 743 [M^+ – CO]

Kristallstrukturdaten von 3: $\text{C}_{40}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{P}_2\text{RhBF}_4$, $0.42 \times 0.26 \times 0.33$ mm, monoklin, Raumgruppe $P2_1/c$, $a = 10.595(3)$, $b = 17.116(5)$, $c = 19.564(5)$ Å, $V = 3545(3)$ Å³, $\rho_{\text{ber.}} = 1.503$ g cm^{–3}, $2\theta_{\text{max}} = 23.9^\circ$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 6.17$ cm^{–1}, $\lambda = 0.71069$ Å, $F(000) = 1640$. Die Daten wurden bei –120 ± 1 °C auf einem Enraf-Nonius-CAD-4-Diffraktometer mit ω -2 θ -Aufnahmetechnik aufgenommen ($2\theta \leq 54.0^\circ$) und hinsichtlich der Lorentz- und Polarisierungseffekte korrigiert. Zusätzlich wurde eine analytische Absorptionskorrektur mit Transmissionsfaktoren im Bereich von 0.80–0.86 und eine Korrektur für die sekundäre Extinktion angewendet (Koeffizient = 0.42235×10^{-7}). Die Struktur wurde durch Patterson-Methoden (SHELX-

86) gelöst. Von den 6466 Reflexen wurden 5133 mit $I > 3.00 \sigma(I)$ zur Verfeinerung genutzt. Die Verfeinerung 452 variabler Parameter (TEXAN 5.0) führte zu den Werten $R = 0.033$ und $R_w = 0.043$ [13].

Eingegangen am 27. Juni 1994 [Z 7077]

- [1] A. M. Allgeier, E. T. Singewald, C. A. Mirkin, C. L. Stern, *Organometallics* **1994**, *13*, 2928.
- [2] a) B. D. Vineyard, W. S. Knowles, M. J. Sabacky, G. L. Bachman, D. L. Wein-kauff, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5946; b) E. Lindner, B. Andres, *Chem. Ber.* **1988**, *121*, 829.
- [3] J. Halpern, D. P. Riley, A. S. C. Chan, J. J. Pluth, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8055.
- [4] Postuliert als das In-situ-Produkt der Reaktion eines Äquivalents AgBF_4 mit $[\text{Rh}(\eta^2\text{-C}_8\text{H}_{14})_2\text{Cl}]_x$ in THF; zur Synthese von $[\text{Rh}(\eta^2\text{-C}_8\text{H}_{14})_2\text{Cl}]_x$: L. Porri, A. L. Alionetti, G. Allegra, A. Immirzi, *Chem. Commun.* **1965**, 336.
- [5] a) J. M. Townsend, J. F. Blount, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 269, zit. Lit.; b) P. Albano, M. Aresta, M. Manassero, *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 1069; c) J. R. Blee-ke, A. J. Donaldson, *Organometallics* **1988**, *7*, 1588.
- [6] C. L. Perrin, T. J. Dwyer, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 935.
- [7] J. Sandstrom, *Dynamic NMR Spectroscopy*, Academic Press, New York, **1982**.
- [8] T. G. Traylor, M. J. Goldberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3968.
- [9] E. Lindner, Q. Wang, H. A. Mayer, R. Fawzi, M. Steimann, *Organometallics* **1993**, *12*, 1865.
- [10] T. G. Appleton, H. C. Clark, L. E. Manzer, *Coord. Chem. Rev.* **1973**, *10*, 333.
- [11] F. A. Cotton, R. A. Walton, *Multiple Bonds between Metal Atoms*, Wiley-Inter-science, New York, **1982**, S. 311.
- [12] K. K. Pandey, *Coord. Chem. Rev.* **1992**, *121*, 1.
- [13] Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachin-formationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter An-gabe der Hinterlegungsnummer CSD-58458 angefordert werden.

Fulleren-Oligonucleotid-Konjugate: photoinduzierte sequenzspezifische DNA-Spaltung**

Alexandre S. Boutorine, Hidetoshi Tokuyama, Masashi Takasugi, Hiroyuki Isobe, Eiichi Nakamura und Claude Hélène*

Oligonucleotide binden sowohl an einzelsträngige Nuclein-säuren wie mRNA als auch an doppelsträngige DNA^[1,2]. Durch die Bindung von Oligonucleotiden an eine mRNA kann die Translation dieser Zielsequenz blockiert werden (*Antisense*-Strategie); die Transkription eines bestimmten Gens wird durch die Bildung einer Tripelhelixstruktur verhindert (*Antigen*-Strategie). Werden Oligonucleotide mit reaktiven Substituenten versehen, kann dies an einer Zielsequenz zu irreversiblen Reak-tionen führen^[2]. Durch die Verwendung hydrophober Substi-tuenten ist es möglich, die Aufnahme in biologische Systeme zu verbessern^[3,4]. Neuere Untersuchungen zur Chemie von Buck-minsterfullerenen haben die vielfältigen Reaktionsmöglichkei-ten dieser Verbindungen aufgezeigt und einen Zugang zur An-wendung von Fullerenen geschaffen^[5,6]. Aus den Ergebnissen dreier Arbeitsgruppen^[6–8] geht hervor, daß geeignet modifi-

[*] Prof. C. Hélène, Dr. A. S. Boutorine, Dr. M. Takasugi
Laboratoire de Biophysique, INSERM U201, CNRS UA 481
Muséum National d'Histoire Naturelle
43 Rue Cuvier, F-75005 Paris (Frankreich)
Telefax: Int. +1/40793705

Dr. H. Tokuyama, H. Isobe, Prof. E. Nakamura
Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology
O-Okayama, Meguro-Ku, Tokyo 152 (Japan)

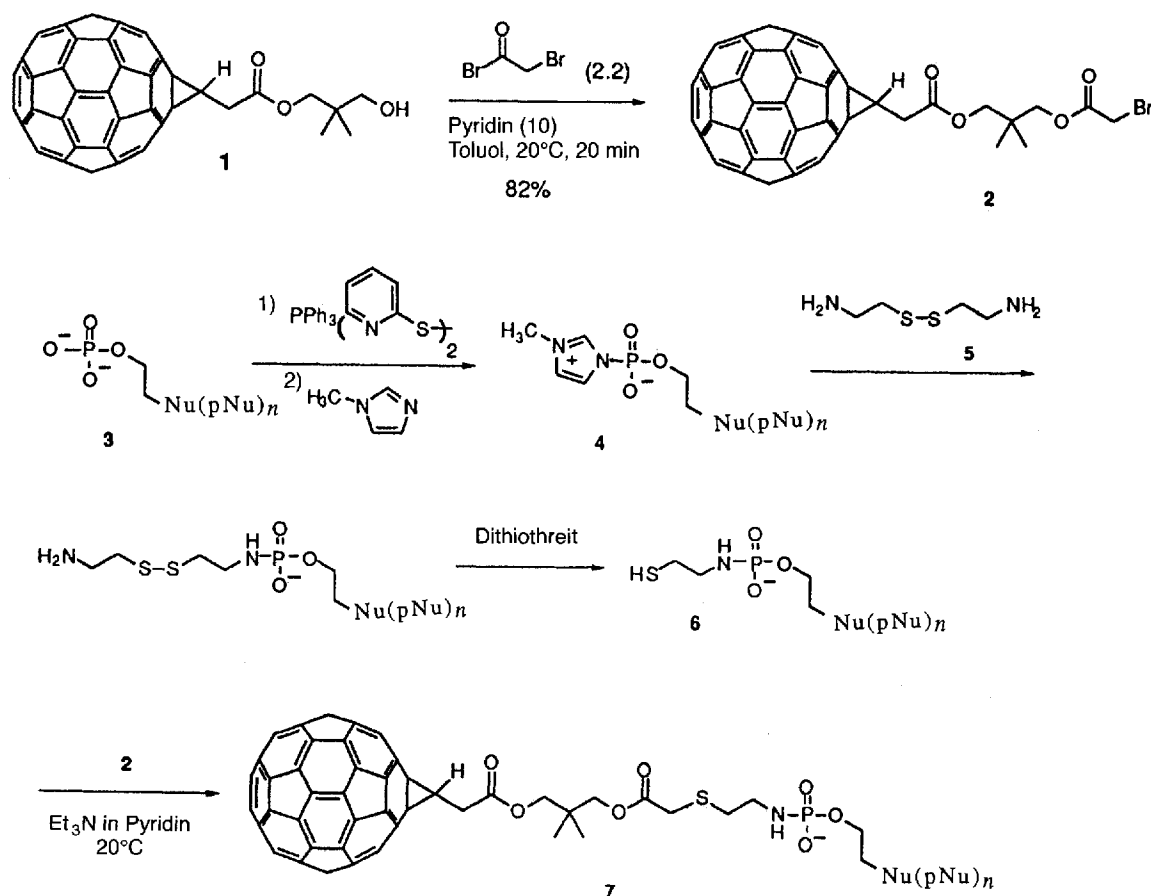
[**] E. N. dankt dem Ministerium für Bildung, Wissenschaft und Kultur Japans für finanzielle Unterstützung (Grant-in-Aid for Scientific Research No. 06240217), H.T. der japanischen Gesellschaft zur Förderung der Wissen-schaften für ein Postdoktoranden-Stipendium, A. B. der Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS) für ein Forschungsstipendium.

zierte Fulleren biologische Aktivität gegenüber lebenden Zellen^[6], Enzymen^[6, 7], Viren^[8] und DNA^[8] aufweisen. Die Bestrahlung eines Gemisches aus DNA und einer Detergentien-ähnlichen C₆₀-Carbonsäure mit Licht geringer Energie führt zu Guanin(G)-spezifischen Strangbrüchen^[6]. Diese basenspezifischen Strangbrüche werden der Wirkung von Singulett-Sauerstoff zugeschrieben, welcher durch die Photoaktivierung von Fullerenmolekülen entsteht. Kürzlich konnte außerdem gezeigt werden, daß die C₆₀-Carbonsäure in Wasser Singulett-Sauerstoff erzeugt^[9]. Der G-spezifische Strangbruch ist jedoch zufällig und kann wahrscheinlich auf eine unspezifische hydrophobe Bindung des C₆₀-Moleküls an die DNA zurückgeführt werden. Geht man von der Richtigkeit dieser Annahme aus, müßte die Selektivität der G-spezifischen Spaltung drastisch gesteigert werden, wenn eine geeignete Erkennungssequenz an diese C₆₀-Verbindung angefügt wird. Eine solche orts-spezifische Spaltung durch Licht ist bereits beschrieben worden, u. a. für Ellipticin- und Porphyrinderivate von Oligonucleotiden^[10, 11]. Um diese Möglichkeit näher zu untersuchen, haben wir eine C₆₀-Verbindung synthetisiert, die als Seitenkette ein 14mer-Oligodesoxynucleotid trägt, welches sowohl an einzelsträngige Zielsequenzen über Watson-Crick-Bindungen als auch an doppelsträngige DNA über Hoogsteen-Wasserstoffbrückenbindungen bindet^[12]. Wir berichten hier darüber, daß Photospaltungsreaktionen tatsächlich an genau definierten Positionen stattfinden und demonstrieren dies anhand der Bestrahlung von Fulleren-Oligonucleotid-Konjugaten und dreier Zielsequenzen: einzelsträngiger DNA, Duplex-DNA sowie Duplex-DNA mit einer Haarnadelstruktur.

Das Fulleren-Oligonucleotid-Konjugat wurde durch Alkylierung von Oligonucleotiden, die freies Thiol enthielten, mit dem

Bromacetat **2** synthetisiert, das aus dem Methanofullerenderivat **1** hergestellt wurde (Schema 1)^[13]. Die Einführung einer Thiolgruppe in das freie Oligonucleotid **3** wurde durch Reaktion des Cystamins **5** mit dem aktivierten Phosphat **4**^[14] erreicht. Es schloß sich eine Behandlung mit Dithiothreitol an, um das Thiol **6** zu erhalten, welches mit **2** in Pyridin alkyliert wurde und das Fulleren-Oligonucleotid-Konjugat **7** (Schema 1) mit einer Ausbeute von 30–40% ergab. Das Konjugat ist farblich (rotbraun), wasserlöslich und präzipitiert in Ethanol oder LiClO₄/Aceton. Eine Reinigung des Konjugates über HPLC war nicht möglich, da es irreversibel an modifizierte Silicagelträger adsorbiert. In Polyacrylamidgelen bildet dieses Derivat Aggregate in den Poren. Bei Elektrophorese in 1.0%-Agarose-0.1%-Triton-X-100-Gelen wurde eine homogene farbige Bande sichtbar, die langsamer als nichtmodifiziertes Oligonucleotid wanderte. Mit dieser Technik wurde das Konjugat von unumgesetztem Oligonucleotid gereinigt. Die Sequenz des Oligonucleotids ist in Abbildung 1 dargestellt.

Drei Oligodesoxynucleotid-Proben wurden verwendet, um die photosensibilisierenden Eigenschaften des Fulleren-14mer-Konjugats zu testen: ein einzelsträngiges 20mer, ein 26-Basenpaar-Duplex und eine 41mer-Haarnadelstruktur mit 18 Basenpaaren und einer Schleife von fünf Basenpaaren (siehe Sequenzen in Abb. 1). Die Bestrahlung der Komplexe wurde mit einer 1000-W-Xenon-Lampe durchgeführt, wobei Licht mit Wellenlängen unter 310 nm durch einen Filter absorbiert wurde. Der verwendete Puffer enthielt 10 mM Cacodylat, pH 6.0, 50 mM NaCl, 50–100 nM Probe und steigende Konzentrationen des Fulleren-14mer-Konjugates (1–60 µM). Der 20mer-Einzelstrang, die 41mer-Haarnadelstruktur und ein Dublexstrang wurden unter Verwendung von γ-³²P-ATP und T4-Polynucleo-



Schema 1.

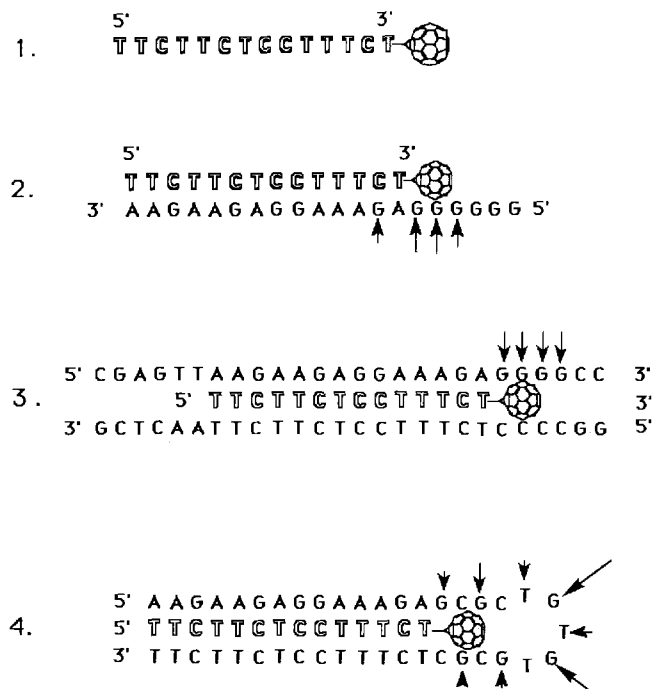


Abb. 1. Struktur des Oligonucleotid-Fulleren-Konjugates (1) und seiner Komplexe mit den Zielsequenzen: 2. Duplex mit komplementärem Oligonucleotid, 3. Tripelhelix, 4. Tripelhelix mit Haarnadelstruktur. Die Pfeile weisen auf die Spaltstellen bei der Bestrahlung mit Licht hin. Die Pfeillänge entspricht der Intensität der lichtinduzierten Spaltung.

tid-Kinase (Amersham) am 5'-Ende mit ^{32}P markiert. Vor und nach der Behandlung mit Piperidin erfolgte jeweils eine elektrophoretische Auftrennung in denaturierenden 12proz. Polyacrylamidgelen (Abb. 2). Die Ergebnisse dieser Experimente zeigen, daß die durch das Oligonucleotid-Fulleren-Konjugat induzierte Photospaltung an genau definierten Positionen in Duplexen, Tripelhelices und Tripelhelices mit Haarnadelstruktur erfolgt. Dies steht in starkem Widerspruch zu einer unspezifischen Spaltung durch die freie C_{60} -Carbonsäure^[6]. Abbildung 2 zeigt die Ergebnisse, die mit der Haarnadelstruktur-Zielsequenz erreicht wurden. Eine Spaltung wurde sowohl an Guanin- als auch an Thyminresten (mit geringerer Effizienz) beobachtet. Eine Behandlung mit Piperidin steigerte geringfügig die Intensität der nach der Spaltung entstehenden Banden. Aus dem Vergleich mit Banden, die durch Piperidin-Behandlung nach Reaktion mit Dimethylsulfat (DMS) entstanden, ergibt sich die Vermutung, daß Fragmente, die durch lichtinduzierte Spaltung erhalten wurden, ein 3'-Phosphatende aufweisen. Sie zeigten im Gel die gleiche Mobilität wie 3'-phosphorylierte Produkte der DMS-induzierten Piperidin-Spaltung. Die Spaltorte innerhalb der drei Zielsequenzen sind in Abbildung 1 markiert. Die reaktivsten Guaninreste befanden sich in der Schleifenregion der Haarnadelstruktur. Innerhalb des 26-Basenpaar-Duplexes (ohne Haarnadelstruktur) erfolgte die Spaltung an Guaninresten in der Nähe des 3'-Endes des Purin-enthaltenden Stranges (Abb. 1). Dagegen wurde am anderen Strang des Duplexes keine Spaltung beobachtet. Dieser Strang enthielt keine Guaninreste in der Nähe des 3'-Endes des dritten Stranges (die beiden terminalen Guaninreste konnten aufgrund ihrer engen Nachbarschaft zur 5'-Markierung nicht analysiert werden). Innerhalb der einzelsträngigen Probe erfolgte die lichtinduzierte Spaltung an Guaninresten in der Nähe des 3'-Endes des komplementären Oligonucleotid-Fulleren-Konjugates (Abb. 1). In allen drei Fällen befanden sich die Spaltorte in einer Region der Zielsequenz, die anhand der bekannten Orientierung des Ful-

leren-Oligonucleotids erwartet werden konnte: antiparallele Orientierung bezüglich des komplementären Stranges im Duplex; parallel zur Oligopurin-Zielsequenz in den Triplex-Strukturen. Die verstärkte Reaktivität von Guaninen innerhalb der Schleife im Vergleich zu geraden Bereichen des Haarnadel-Duplexes könnte auf eine bessere Zugänglichkeit der einzelsträngigen Schleifenregion für Singulett-Sauerstoff zurückzuführen sein – auch wenn die Reaktion nach anderen Mechanismen (z. B. unter Elektronentransfer) abläuft.

Diese Ergebnisse zeigen, daß das kugelförmige Fulleren-Ende der Oligonucleotidkette nicht die Duplex- und Triplexbildung hemmt. Die Spaltung erfolgt fast ausschließlich an Guaninresten. Die gleiche Orts- und Basenselektivität wurde mit einem Oligonucleotid-Chlorin-Konjugat (mit der gleichen Oligonucleotidsequenz) beobachtet. Es wurde gezeigt, daß diese Verbindung bei Bestrahlung Singulett-Sauerstoff erzeugt, der die Nucleinsäuren spaltet (Ergebnisse nicht dargestellt).

Fulleren-Oligodesoxy-nucleotid-Konjugate können also DNA effizient mit einer hohen Ortsspezifität modifizieren, indem Doppel- und Tripelhelices gebildet werden. Die Ergebnisse weisen eindeutig darauf hin, daß Fulleren-Oligonucleotid-Konjugate vielversprechende Lichtsonden sind, mit denen die Gen-Transkription und mRNA-Translation untersucht werden kann. Das Design optimaler Linker und die Ausarbeitung von Bedingungen für eine hohe Effektivität sind das nächste Ziel. Zusätzlich kann die Hydrophobie des Fulleren-Anteils genutzt werden, um bei biologischen Anwendungen eine Aufnahme in die Zelle zu erleichtern.

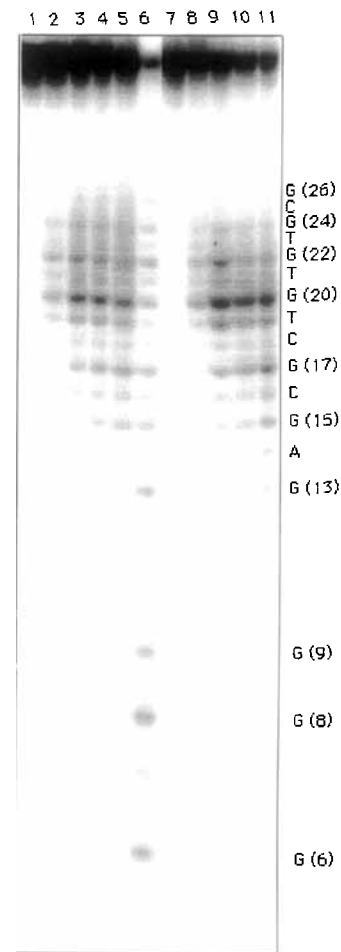


Abb. 2. Gelelektrophorese des 100-nm-41mer-Oligonucleotids mit Haarnadelstruktur (siehe Abb. 1, 4.) nach Bestrahlung in Gegenwart des 14mer-Fulleren-Konjugates (30 μM) in 10 mM Cacodylat, pH 6.0, 50 mM NaCl bei 15°C. Die Bestrahlungszeiten nehmen von Spur 1–5 und Spur 7–11 zu: 0 min (1, 7), 15 min (2, 8), 30 min (3, 9), 45 min (4, 10) und 60 min (5, 11). Die zwei Teile der Abbildung zeigen unbehandelte Proben (1–5) und Proben (7–11), die mit 1 M Piperidin 30 min bei 90°C behandelt wurden. Das 41mer wurde 5'-endmarkiert, und die Gele wurden mit einem Phosphor-Imager analysiert. Spur 6 zeigt die Sequenz der Guaninreste, die nach Behandlung mit Dimethylsulfat und Piperidin erhalten wurde. Die Sequenz der Spaltregion und die Position der Guaninreste sind hervorgehoben (die Numerierung beginnt am 5'-Ende, siehe Abb. 1, 4.).

Eingegangen am 30. August 1994 [Z 7279]

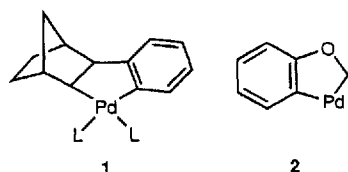
- [1] C. Hélène, J. J. Toulmé, *Biochim. Biophys. Acta* **1990**, *1049*, 99–125.
- [2] N. T. Thuong, C. Hélène, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 697–726; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 666–690.
- [3] A. S. Boutorine, C. Boiziau, T. Le Doan, J. J. Toulmé, C. Hélène, *Biochimie* **1992**, *74*, 485–489.

- [4] A. M. Krieg, J. Tonkinson, S. Matson, Q. Zhao, M. Saxon, L. M. Zhang, U. Bhanja, L. Yakubov, C. A. Stein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 1048–1052.
 [5] F. Diederich, Y. Rubin, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1123–1146; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1101–1123.
 [6] H. Tokuyama, S. Yamago, E. Nakamura, T. Shiraki, Y. Sugiura, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7918–7919.
 [7] S. H. Friedman, D. L. De Camp, R. P. Sijbesma, G. Srdanov, F. Wudl, G. L. Kenyon, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6506–6509.
 [8] R. F. Shinazi, R. Sijbesma, G. Srdanov, C. L. Hill, F. Wudl, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 1707–1710.
 [9] H. Tokuyama, E. Nakamura, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1135–1138.
 [10] L. Perrouault, U. Asseline, C. Rivalle, N. T. Thuong, E. Bisagni, C. Giovannangeli, T. Le Doan, C. Hélène, *Nature* **1990**, *344*, 358–360.
 [11] T. Le Doan, D. Praseuth, L. Perrouault, M. Chassignol, N. T. Thuong, C. Hélène, *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 108–113.
 [12] J. L. Mergny, G. Duval-Valentin, C. H. Nguyen, L. Perrouault, B. Faucon, M. Rougée, T. Montenay-Garestier, E. Bisagni, C. Hélène, *Science* **1992**, *256*, 1681–1684.
 [13] H. Tokuyama, M. Nakamura, E. Nakamura, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7429–7432.
 [14] A. S. Boutorine, T. Le Doan, J. P. Battioni, D. Mansuy, D. Dupré, C. Hélène, *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 350–356.

Synthese von Oxa- und Azapalladacyclen aus Organostannanen**

Diego J. Cárdenas, Cristina Mateo und Antonio M. Echavarren*

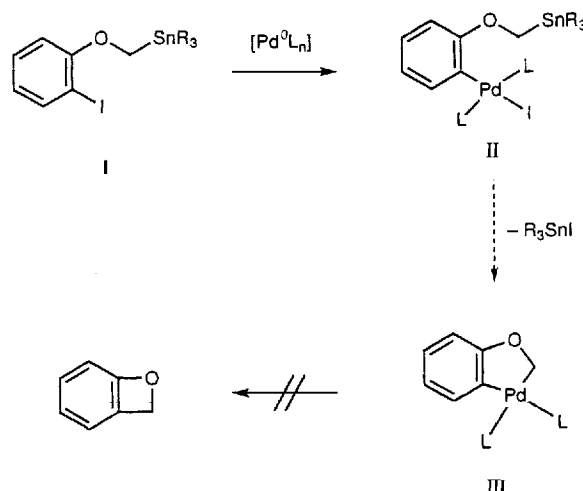
Palladium-katalysierte Domino-Reaktionen, die über aufeinanderfolgende Heck-Insertionen verlaufen, ermöglichen einen einfachen Zugang zu kompliziert aufgebauten organischen Molekülen in einem Schritt^[1,2]. Einige komplexere Reaktionsfolgen, bei denen Palladacyclen wie **1** durchlaufen werden, kommen für die Verwirklichung anspruchsvoller Syntheseeziele in Betracht^[3–5].



Eingeleitet werden diese Domino-Reaktionen durch die oxidative Addition von Arylhalogeniden ArX an einen Pd^0L_n -Komplex, wodurch eine Verbindung des Typs $[\text{Pd}(\text{Ar})\text{X}(\text{L})_2]$ entsteht^[3,4]. Die Insertion von Norbornen in die Pd-C-Bindung des Arylpalladium-Komplexes beispielsweise führt zu einem instabilen Komplex mit η^2 gebundenem Arylliganden^[6], der unter intramolekularer C-H-Aktivierung des Arylliganden zu **1** weiterreagiert^[3,7,8]. Palladacyclen wie **1** ermöglichen durch die Reaktion mit Alkylhalogeniden die Knüpfung neuer C-C-Bindungen; dabei werden intermediär Pd^{IV} -Komplexe mit sechsfach koordiniertem Zentralatom gebildet. Diesem Reaktionsschritt folgt eine reduktive Eliminierung^[7,9–11].

Kürzlich wurde von Dyker eine Reihe neuartiger Palladium-katalysierter Domino-Reaktionen gefunden, die die Synthese heterocyclischer Verbindungen ermöglichen^[12]. Für *o*-Iodanisol als Edukt wurde der

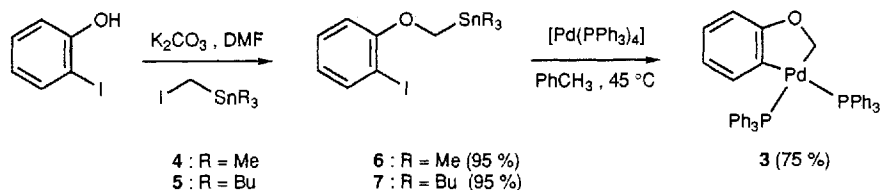
Palladacyclus **2** als Zwischenstufe postuliert. Der Komplex **2** wiederum sollte durch eine neuartige intramolekulare C-H-Aktivierung der Oxymethylengruppe entstehen^[12,13]. Für die Synthese des intermediär gebildeten Palladacyclus könnte man sich mildere Reaktionsbedingungen vorstellen, die auf einer intramolekularen Stille-Kupplung^[14,15] des Iodarylstannans **1** basieren (Schema 1). Die oxidative Addition des Stannans **1** an einen Palladium(0)-Komplex würde die Zwischenstufe **II** liefern,



Schema 1.

die nach intramolekularer Transmetallierung^[16] der OCH_2Sn -Einheit zum gesuchten Komplex **III** führen würde. Durch „endocyclische Hinderung“ (endocyclic restriction)^[17] wäre der ebenso mögliche Bruch der Sn-R-Bindungen unwahrscheinlich. Bei der Stille-Kupplung verläuft die reduktive Eliminierung der beiden *cis*-ständigen organischen Liganden schnell^[14,15], auch wenn die Eliminierung zur Bildung eines Vierrings führt^[18]. Jedoch sollte in unserem Falle – bedingt durch den hohen Energieinhalt des Produkts 2*H*-Benzoxet – die reduktive Eliminierung ein langsamer Prozeß sein^[19]. Wir berichten hier über die erfolgreiche Anwendung dieses Reaktionsprinzips auf die Synthese von Oxapalladacyclen des Typs **2** und einem damit verwandten Azacyclus sowie über erste Resultate zur Reaktivität dieser Komplexe.

Wie in Schema 2 gezeigt, kann der Oxapalladacyclus **3** mit zwei Triphenylphosphanliganden in zwei Stufen synthetisiert



Schema 2.

werden. Die Alkylierung von *o*-Iodphenol mit den Stannanen **4** oder **5**^[20] (K_2CO_3 , *N,N*-Dimethylformamid (DMF), 70 °C, 15 h) liefert **6** bzw. **7**^[21]. Durch anschließende Umsetzung mit $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ (1 Äquiv.) in Toluol bei 45 °C erhält man nach einer Reaktionszeit von 24 h **3** als luftstables, farbloses Pulver. Das bei der oxidativen Addition des Iodarens mit dem Pd^0 -Komplex anfallende primäre Additionsprodukt konnte nicht isoliert werden. Die Struktur von **3** wurde ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-spektroskopisch ermittelt. Dazu wurden auch heteronucleare Korre-

[*] Prof. A. M. Echavarren, D. J. Cárdenas, C. Mateo
 Departamento de Química Orgánica, Universidad Autónoma de Madrid
 Cantoblanco, E-28049 Madrid (Spanien)
 Telefax: Int. +1/397-3966

[**] Diese Arbeit wurde von der DGICYT (Projekt PB91-0612-C03-02) gefördert. D.J.C. und C.M. danken dem Ministerio de Educación y Ciencia für Promotionsstipendien.