

temperatur -90°C ; Kristallabmessungen $0.10 \times 0.15 \times 0.40 \text{ mm}^3$, $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{NTi}$; $M = 427.53 \text{ g mol}^{-1}$; $a = 10.277(4)$, $b = 14.251(3)$, $c = 8.514(3) \text{ \AA}$, $\alpha = 90.36(2)$, $\beta = 104.25(3)$, $\gamma = 91.89(3)^{\circ}$; $V = 12081(1) \text{ \AA}^3$; Raumgruppe triklin, $\overline{P}\bar{1}$ (Nr. 2), $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.176 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu = 30.74 \text{ cm}^{-1}$, $F_{\text{obs}} = 464.0$; 6099 gemessene Reflexe im Bereich $5 \leq \theta \leq 70^{\circ}$ (ω -Scan), davon 4795 mit $I > 3\sigma(I)$, 3776 unabhängige Reflexe mit $I > 2\sigma(I)$ für 270 Parameter, Strukturlösung und -verfeinerung mit SDP [11 b]; $R = 0.052$, $R_w = 0.061$, GOF = 1.809; Restelektronendichte 0.434 e \AA^{-3} . 9: Enraf-Nonius CAD4-Diffraktometer, MoK_α -Strahlung ($\lambda = 0.71017 \text{ \AA}$), Meßtemperatur -15°C ; Kristallabmessungen $0.20 \times 0.40 \times 0.85 \text{ mm}^3$, $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{PTi}$; $M = 444.50 \text{ g mol}^{-1}$; $a = 10.183(4)$, $b = 14.678(4)$, $c = 8.610(4) \text{ \AA}$, $\alpha = 94.55(3)$, $\beta = 100.87(4)$, $\gamma = 88.61(3)^{\circ}$; $V = 1260(2) \text{ \AA}^3$; Raumgruppe triklin, $\overline{P}\bar{1}$ (Nr. 2), $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.171 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu = 4.07 \text{ cm}^{-1}$, $F_{\text{obs}} = 480.0$; 4650 gemessene Reflexe $3 \leq \theta \leq 25^{\circ}$ (ω -Scan), davon 3047 mit $I > 3\sigma(I)$, 2855 unabhängige Reflexe mit $I > 3\sigma(I)$ für 270 Parameter, Strukturlösung und -verfeinerung mit SDP [11 b]; $R = 0.068$, $R_w = 0.076$, GOF = 2.570; Restelektronendichte 0.524 e \AA^{-3} . In beiden Strukturen wurden alle Nichtwasserstoffatome anisotrop, die Wasserstoffatome H1a, H1b an der exocyclischen Methylengruppe isotrop verfeinert. Alle anderen Wasserstoffatome wurden bei der Verfeinerung mitgeführt. Keine Absorptionskorrektur, keine Extinktionskorrektur. Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummern CSD-401448 und 401449 angefordert werden. – b) B. A. Frenz, The Enraf-Nonius CAD4-SDP: A Real-Time System for Concurrent X-ray Data Collection and Crystal Structure Determination in Computing in Crystallography (Hrsg.: H. Schenk, R. Oloth-Hazekamp, H. van Koningsveld, G. C. Bassi), Delft University, SDP-Plus Version 1.1 (1984) and VAXSDP, Version 2.2 (1985).

- [12] K. P. C. Vollhardt, *Organische Chemie*, 1. Aufl., VCH, Weinheim, **1990**.

[13] X = N: [2b, 13a]; X = P: [7, 10a, 13b]; a) M. Bochmann, A. J. Jaggar, M. B. Hoursthous, M. Mazid, *Polyhedron* **1990**, 9, 2097–2100; b) P. Binger, B. Breitenbach, A. T. Herrmann, F. Langhauser, P. Betz, R. Goddard, C. Krüger, *Chem. Ber.* **1990**, 123, 1617–1623.

[14] Ti-N-C-Winkel [$^{\circ}$] in Imid-Derivaten 164.3(3) [14a]; 173.1(3) [14b]; a) C. H. Winter, P. H. Sheridan, T. S. Lewkebandara, M. J. Heeg, J. W. Proscia, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1095–1097; b) J. E. Hill, R. D. Profillet, P. E. Fanwick, I. P. Rothwell, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 713–714; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 664–665.

[15] a) J. E. Bercaw, D. L. Davies, P. T. Wolczanski, *Organometallics* **1986**, 5, 443–450; b) S. A. Cohen, J. E. Bercaw, *ibid.* **1985**, 4, 1006–1014; c) J. R. Strickler, D. E. Wigley, *ibid.* **1990**, 9, 1665–1669; d) B. N. Storhoff, H. C. Lewis Jr., *Coord. Chem. Rev.* **1977**, 23, 1–29; e) T. Hirabayashi, K. Itoh, S. Sakai, Y. Ishii, *J. Organomet. Chem.* **1970**, 21, 273–280.

[16] a) A. C. Gaumont, J. M. Denis, *Chem. Rev.* **1994**, 94, 1413–1439; b) P. B. Hitchcock, M. J. Maah, J. F. Nixon, J. A. Zora, J. Leigh, M. A. Bakar, *Angew. Chem.* **1987**, 99, 497–498; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, 26, 474–475; c) J. F. Nixon, *Chem. Rev.* **1988**, 88, 1327–1362; d) M. Regitz, P. Binger, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1541–1565; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1484–1508.

Tripelhelixbildung von Oligonukleotiden mit [(3'S,5'R)-2'-Desoxy-3',5'-ethano- β -D-ribofuranosyl]nukleosid(„Bicyclodesoxynukleosid“)-Bausteinen**

Martin Bolli und Christian Leumann*

In memoriam Rolf Scheffold

Die effiziente, sequenzspezifische molekulare Erkennung von RNA und DNA durch Oligonucleotid-Analoga ist im Zusammenhang mit der Regulation der Genexpression von bedeutsamem medizinchemischem Interesse^[2]. Die Bildung von Tripelhelices solcher Analoga mit doppelsträngiger DNA und einzelsträngiger RNA kann dabei zur gezielten Inhibierung der Trans-

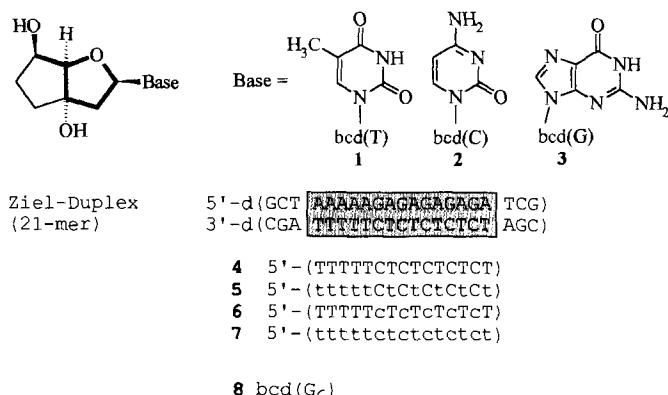
[*] Prof. Dr. C. Leumann, M. Bölli

Institut für Organische Chemie der Universität
Freiestrasse 3, CH-3012 Bern (Schweiz)
Telefax: Int. + 31/631-8057

[**] Nucleinsäure-Analoga mit konformativ eingeschränktem Zuckerphosphat-Rückgrat. 4. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. — 3. Mitteilung: [1].

kription bzw. Translation herangezogen werden^[3]. In den natürlichen Nucleinsäuren sind bisher zwei Tripelhelix-Muster gut untersucht. Sie unterscheiden sich in der Zusammensetzung des Basentripels und in der relativen Polarität der Stränge. Im einen Motiv (Py-Pu:Py) bindet der dritte, ausschließlich aus Pyrimidinnucleotiden aufgebaute Strang in paralleler Anordnung an die Hoogsteen-Seite des Purinstranges unter Bildung von T-A:T- und C⁺-G:C-Basentripeln^[4]. Im anderen Motiv (Pu-Pu:Py) komplexiert der dritte, purinreiche Strang in antiparalleler Ausrichtung an die Hoogsteen-Seite des dem Watson-Crick-Duplex zugrundeliegenden Purinstranges unter Bildung von G-G:C-, A-A:T- und T-A:T-Basentripeln^[5]. Beide Muster verlangen eine strangweise Trennung der Purin und Pyrimidinbasen im Watson-Crick-gepaarten Duplexbereich. Innerhalb des Py-Pu:Py-Motivs konnte die Effizienz der Tripelhelixbildung durch Reduktion der Molekularität im Komplex erhöht werden, etwa unter Verwendung zirkulärer oder Hairpin-bildender natürlicher Oligonucleotide^[6]. DNA-Analoga mit besseren Triplexbildungseigenschaften umfassen Oligonucleotide mit strukturell veränderten Zucker- oder Baseneinheiten^[7], mit Phosphatesatz-Einheiten^[8] oder mit beidem^[9]. Eine bemerkenswerte Erhöhung der Triplextabilität wird beispielsweise mit Oligonucleotid-Analoga beobachtet, welche Dinucleosideinheiten enthalten, die über eine konformativ fixierte Acetalfunktion verknüpft sind^[10].

Kürzlich haben wir Design und Synthese eines neuen Nucleosid-Analogons („Bicyclonucleoside“, Schema 1) vorge-



Schema 1. Oben: Strukturen der Nucleosid-Analoga Bicyclothyminidin ($\text{bcd}(T)$, **1**), Bicyclodesoxycytidin ($\text{bcd}(C)$, **2**) und Bicyclodesoxyguanosin ($\text{bcd}(G)$, **3**). Darunter: Duplex-Zielsequenz für T_m -Analysen. Unten: Sequenzen **4–7** zur Tripelhelixbildung ($t = \text{bcd}(T) = \mathbf{1}$, $c = \text{bcd}(C) = \mathbf{2}$, T und C = natürliche Desoxynucleoside Thyminidin und 2'-Desoxycytidin).

stellt^[1, 11]. Wesentliche Merkmale der Bicyclodesoxynucleosid-Struktur sind ihre konformativ in den 2'-*endo*/1'-*exo*-Bereich eingeschränkte Furanoseeinheit sowie die deutlich bevorzugte äquatoriale Ausrichtung der sekundären Hydroxygruppe im carbocyclischen Ring^[11a, c]. Zu den herausragenden Eigenschaften von Decanucleotiden des Bicyclodesoxyadenosins gehört eine vergleichsweise starke Duplexbildung mit dem RNA-Komplement poly(U) und eine ca. 20fach verstärkte Triplexbildung mit dem entsprechenden natürlichen DNA-Komplement^[1, 11b]. Hier berichten wir über die Triplexbildung der gemischtbasigen Pentadecanucleotidsequenzen **4–7**, welche die Bicyclodesoxynucleoside **1** und **2** enthalten, mit einem 21-mer DNA-Duplex (Schema 1) sowie über die Komplexierung des Hexamers **8** des Bicyclodesoxyguanosins **3** mit dem RNA-Polymer poly(C).

Die Herstellung der Bicyclodesoxynucleoside sowie der entsprechenden, in der Oligonucleotidsynthese verwendeten Cyanethylphosphonamidat-Bausteine wurde bereits beschrieben^[1, 11a]. Die Oligonucleotide **4–8** wurden durch automatisierte Festphasensynthese in Anlehnung an bereits bekannte Methoden zur Bicyclo-DNA-Synthese im 1 µmol-Maßstab hergestellt. Die Synthese ist vollständig vereinbar mit derjenigen natürlicher Oligonucleotide und gelingt mit Kupplungsausbeuten von 98 % pro Schritt^[12]. Nach Ablösen von der Festphase und Entfernen von Basen- und Phosphatschutzgruppen wurden die Rohprodukte durch Ionenaustausch-HPLC gereinigt und in repräsentativen Fällen massenspektrometrisch analysiert^[13].

Die Bildung von Triplexen der Oligomere **4–7** mit dem 21-mer-Zielduplex wurde anhand von UV-Schmelzkurven bei pH 6.0 und 6.5 sowie 200 mM und 1 M NaCl verfolgt. Die entsprechenden T_m - und Hyperchromiedaten enthält in Tabelle 1.

Tabelle 1. T_m -Werte [°C] und Hyperchromie [%] (in Klammern) der Dissoziation der Strände **4–7** vom Zielduplex aus UV-Schmelzkurven (260 nm). Triplexkonzentration = 0.9–1.1 µM in 10 mM NaH₂PO₄.

Strang	pH 6.0		pH 6.5	
	200 mM NaCl	1 M NaCl	200 mM NaCl	1 M NaCl
4	40.8 (8)	42.8 (10)	30.9 (6)	32.1 (9)
5	47.5 (7)	52.2 (10)	40.8 (3)	40.9 (8)
6	24.3 (6)	29.2 (9)	15.4 (3)	17.9 (8)
7	27.4 (2)	31.0 (7)	18.0 (2)	20.3 (5)

Abbildung 1 zeigt die Schmelzkurven der Triplexe von **4–7** mit dem Zielduplex bei pH 6.0 und 1 M NaCl^[15]. In allen Fällen sind zwei gut getrennte Schmelzprozesse zu beobachten. Derjenige bei höherer Temperatur entspricht dem Denaturieren des Zielduplexes während derjenige bei tieferer Temperatur den Übergang der Triplexe zu Duplex und freien Einzelsträngen **4–7** widerspiegelt. In allen Experimenten blieb die Stabilität des Duplexes erwartungsgemäß unverändert ($T_m \sim 71^\circ\text{C}$). Größere Differenzen wurden jedoch in der Triplexstabilität als Folge der Natur der verwendeten bicyclischen Nucleoside beobachtet. Der Ersatz sämtlicher 2'-Desoxycytidine durch das bicyclische Analogon **2** im dritten Strang führt zu einer Erniedrigung des T_m -Wertes um 2.7 K/Modifikation (Mod.) relativ zur Kontrollsequenz **4**. Demgegenüber wird eine Erhöhung um 1 K/Mod. beobachtet, wenn Thymidin durch sein bicyclisches Analogon substituiert wird. Die ausschließlich aus bicyclischen Nucleosiden aufgebauten Sequenz **7** bindet gleich effizient an den Zieldu-

plex wie diejenige welche nur Bicyclodesoxycytidin enthält (**6**). Im ersten Falle ist die Hyperchromie deutlich geringer als in den übrigen. Dies dürfte auf lokal unvollständige Basenpaarung zurückzuführen sein.

Die Schmelzkurven a) und c) in Abbildung 1 sind mit den entsprechenden Hybridisierungskurven im angewandten Temperaturgradienten (0.5 K/min) kongruent und reflektieren daher Gleichgewichtsbedingungen. Im Falle von b) und d) sind jedoch Differenzen zwischen den Schmelz- und Hybridisierungskurven erkennbar, wobei die letzteren jeweils einen breiteren Übergang mit T_m bei tieferen Temperaturen zeigen^[12]. Dieses Verhalten weist auf eine Verlangsamung der Tripelhelixbildung mit zunehmender Anzahl von Bicyclonucleosiden im dritten Strang hin. Die Paarungsgeschwindigkeit ist wesentlich von der Salzkonzentration abhängig^[17]. So führt eine Erhöhung von NaCl im Puffer von 200 mM auf 1 M bei pH 6.0 zu einer Verringerung der Hysteresebildung zwischen Schmelz- und Hybridisierungskurven. In allen Fällen geht dies mit einer Zunahme der thermodynamischen Triplexstabilität einher^[16a].

Da die Differenz zwischen den pK_a -Werten der Nucleobase in **2** und 2'-Desoxycytidin vernachlässigbar sein dürfte, muß angenommen werden, daß die Ursache für den Verlust an Tripelhelixbildungenergie im Falle von **6** relativ zu **4** mit verschiedenen konformativen Präferenzen der protonierten Cytosinnucleoside im Zusammenhang steht. NMR-Untersuchungen an tripelhelicalen DNA-Sequenzen zeigten, daß innerhalb des Py-Pu:Py-Motivs protonierte Cytidin- und Thymidineinheiten im Hoogsteen-Strang unterschiedliche Furanosekonformationen aufweisen. Die ersten bevorzugten die 3'-endo- und die letzteren die 2'-endo-Konformation^[18]. Bicyclonucleoside hingegen zeigen eine einheitliche Präferenz für die 1'-exo/2'-endo-Furanose-Konformation, unabhängig von der Natur der Base^[11]. Die Beobachtung, daß die Triplexstabilität von Oligonucleotiden mit Bicyclodesoxycytidin geringer, mit Bicyclothymidin hingegen höher ist, steht in Einklang mit den Ergebnissen dieser NMR-Untersuchungen und weist unabhängig darauf hin, daß die bevorzugte Rückgratkonformation im dritten Strang in DNA-Triplexen des Py-Pu:Py-Motivs heterogen ist.

Um die Eignung von Oligomeren des Bicyclodesoxyguanosins zur Duplex- und Triplexbildung abzuklären haben wir T_m -Daten von Gemischen des Hexamers **8** mit dessen RNA-Komplement poly(C) (Basenverhältnis C:G = 2:1) bei unterschiedlichen pH-Werten zwischen 5.5 und 8.3 aufgezeichnet. Im Gegensatz zu den analogen Experimenten in der bcd(A)/poly(U)-Reihe^[11b] kann im bcd(G)/poly(C)-System damit einfach unterschieden werden, ob ein Pyrimidinstrang an die Watson-Crick- oder an die Hoogsteen-Seite des Purinstranges bindet. Aus der Auftragung von T_m gegen den pH-Wert (Abb. 2) geht hervor, daß in beiden Paarungssystemen d(G₆):poly(C) und **8**:poly(C) die Schmelztemperaturen oberhalb von pH 7.6 konstant bleiben. In diesem pH-Bereich wird somit ausschließlich Paarung nach dem (ladungsneutralen) Watson-Crick-Modus beobachtet. Die T_m -Werte (30 °C für **8**:poly(C), 43 °C für d(G₆):poly(C)) weisen dabei auf einen deutlichen energetischen Vorteil für den Watson-Crick-Duplex d(G₆):poly(C) hin. Unterhalb von pH 6.5 ist in beiden Systemen ein linearer Anstieg von T_m mit sinkendem pH-Wert zu beobachten. Dies weist eindeutig auf Triplexbildung unter Einbeziehung von protonierten Cytosinbasen hin. Ein Vergleich der T_m -Werte von d(G₆):poly(C) und **8**:poly(C) zeigt hier jedoch, daß die Triplexstabilität (bei gegebenem pH-Wert) im Falle von **8**:poly(C) deutlich derjenigen im natürlichen Referenzsystem überlegen ist ($\Delta T_m \approx 12^\circ\text{C}$). Damit steht fest, daß das Bicyclooligonucleotid **8** vergleichsweise zu seinem natürlichen Analogon d(G₆) die Hoogsteen-Paarung favorisiert und Watson-Crick-Paarung diskriminiert. Als Konsequenz er-

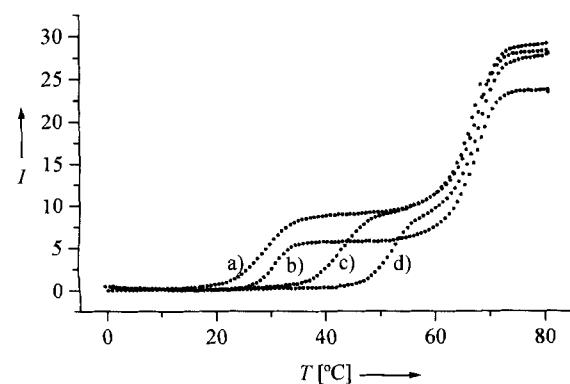


Abb. 1. UV-Schmelzkurven ($\lambda = 260$ nm) von a) **6**, b) **7**, c) **4**, und d) **5**, mit der Duplex-Zieldsequenz (10 mM NaH₂PO₄, 1 M NaCl, pH 6.0). Triplexkonzentration: 0.9–1.1 µM. T_m des Duplexes = 71 ± 1 °C.

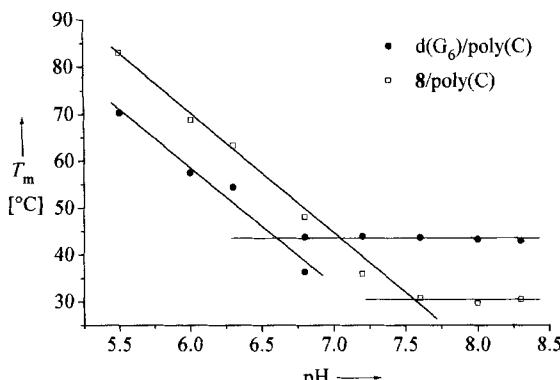


Abb. 2. T_m -Werte aus UV-Schmelzkurven ($\lambda = 280 \text{ nm}$) von **8** und d(G₆) mit poly(C) (Basenverhältnis C:G = 2:1) in 150 mM NaCl/10 mM NaH₂PO₄ als Funktion des pH-Wertes. Basengesamtkonzentration: 33.8–40 μM . Individuelle T_m -Werte ($\lambda = 250 \text{ nm}$) für Triplex → Duplex- und Duplex → Einzelstrang-Übergänge konnten im Falle von d(G₆)/poly(C) bei pH 6.8 erhalten werden.

folgt die Tripelhelixbildung von poly(C) mit **8** bereits bei pH-Werten, welche um ca. 0.5 Einheiten höher liegen. Dies führt dazu, daß die Gesamtkomplexstabilität von **8**:poly(C) diejenige des Referenzsystems bereits bei pH 7.1 übertrifft.

Die hier beschriebenen Experimente belegen klar, daß Bicyclothymidin **1** vorteilhaft zur Herstellung von stabilen, Tripelhelices bildenden Oligonucleotiden herangezogen werden kann. Es ist vorstellbar, daß die Effizienz weiter verbessert werden kann, wenn Oligonucleotide, welche **1** in Kombination mit unnatürlichen basenmodifizierten Desoxycytidin-Analoga oder mit 2'-O-alkylierten Cytidinderivaten enthalten, verwendet werden^[19]. Die Tatsache, daß Oligomere des Bicyclodesoxyguanosins (und vermutlich auch des Bicyclodesoxyadenosins) erhöhte Acceptor-eigenschaften an ihren Hoogsteen-Bindungsstellen aufweisen, ist bisher beispiellos für zuckermodifizierte DNA-Analoga und könnte den Weg zu neuen Strukturen ebnen, welche stabile Hoogsteen-Duplexe oder -Tripexe mit pyrimidinreichen DNA- oder RNA-Sequenzen bilden.

Eingegangen am 21. Oktober 1994 [Z 7417]

Stichworte: Bicyclonucleotide · DNA · Doppelhelices · Oligonucleotide · RNA · Tripelhelices

- [1] M. Tarköy, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 716–744.
- [2] E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 543–584; J. Goodchild, *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 165–187; J. Engels, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1991**, *39*, 1250–1254; U. Englisch, D. Gauss, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 629–646; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 613–629.
- [3] N. T. Thuong, C. Hélène, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 697–723; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 666–690.
- [4] H. E. Moser, P. B. Dervan, *Science* **1987**, *238*, 645–650; J.-C. François, T. Saison-Behmoaras, C. Hélène, *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 11431–11440.
- [5] M. Cooney, G. Czernusiewicz, E. H. Postel, S. J. Flint, M. E. Hogan, *Science* **1988**, *241*, 456–459; P. A. Beal, P. B. Dervan, *ibid.* **1991**, *251*, 1360–1363.
- [6] G. Prakash, E. T. Kool, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, *1161–1163*; C. Giovannangeli, T. Montenay-Garestier, M. Rougée, M. Chassignol, N. T. Thuong, C. Hélène, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7775–7777; S. Wang, E. T. Kool, *ibid.* **1994**, *116*, 8857–8858.
- [7] a) A. Ono, P. O. P. Ts'o, L.-S. Kan, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4032–4033; b) J. S. Koh, P. B. Dervan, *ibid.* **1992**, *114*, 1470–1478; c) B. C. Froehler, D. J. Ricca, *ibid.* **1992**, *114*, 8320–8322; d) B. C. Froehler, S. Wadwani, T. J. Terhorst, S. R. Gerrard, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5307–5310; e) S. H. Krawczyk, J. F. Milligan, S. Wadwani, C. Moulds, B. C. Froehler, M. D. Matteucci, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 3761–3764.
- [8] a) R. K. Jones, K.-Y. Lin, J. F. Milligan, S. Wadwani, M. D. Matteucci, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2983–2991; b) S. Gryaznov, J.-K. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3143–3144.
- [9] K.-Y. Lin, J. S. Pudlo, R. J. Jones, N. Bischofberger, M. D. Matteucci, B. C. Froehler, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1061–1064.

- [10] R. J. Jones, S. Swaminathan, J. F. Milligan, S. Wadwani, B. C. Froehler, M. D. Matteucci, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9816–9817.
- [11] a) M. Tarköy, M. Bolli, B. Schweizer, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 481–510; b) M. Tarköy, C. Leumann, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1516–1518; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1432–1434; c) M. Egli, P. Lubini, M. Bolli, M. Dobler, C. Leumann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5855–5856.
- [12] M. Bolli, „Nucleinsäure-Analoga mit konformationell eingeschränktem Zucker-Phosphat-Rückgrat: Synthese und Eigenschaften“, Dissertation, Universität Bern, **1994**.
- [13] Die Rohprodukte der Oligomere **4–7** wurden durch Anionenaustausch(IA)-HPLC (Säule: Nucleogen 60 DEAE, Macherey-Nagel; Elution mit einem linearen KCl-Gradienten in 20 mM KH₂PO₄, pH 6.0 in H₂O:CH₃CN, 4:1) gereinigt. Reines **8** wurde nach IA-HPLC-Trennung (Säule: Mono-Q HR 5/5, Pharmacia, Elution mit einem linearen NaCl-Gradienten in 0.01 M NaOH) in reiner Form erhalten. Homogene Fraktionen wurden über Sep-Pak (Waters) von Puffersalzen befreit. Die Oligonucleotide **6** und **7** wurden durch matrix-assistierte Laserdesorptionsionsisations-Flugzeitmassenspektrometrie MALDI-TOF-MS nach der Methode von Pieles et al. [14] charakterisiert (*m/z* 4554.1 (6), 4815.7 (7)).
- [14] U. Pieles, W. Zürcher, M. Schär, H. E. Moser, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 3191–3196.
- [15] Die Sequenz des Zielduplexes und des dritten Stranges wurde vorwiegend aus Gründen der Vergleichbarkeit gewählt. Thermodynamische Eigenschaften zur Tripelhelixbildung sind anhand dieser spezifischen Sequenz sowohl am Beispiel natürlicher DNA [16] als auch am Beispiel einer Reihe von DNA-Analoga (umgekehrte Sequenzorientierung inbegriffen) [7b–d, 8a, 9, 10] gut untersucht.
- [16] a) G. E. Plum, Y.-W. Park, S. F. Singleton, P. B. Dervan, K. J. Breslauer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 9436–9440; b) S. F. Singleton, P. B. Dervan, *Biochemistry* **1992**, *31*, 10995–11003; c) *ibid.* **1993**, *32*, 13171–13179.
- [17] L. J. Maher, III, P. B. Dervan, B. J. Wold, *Biochemistry* **1990**, *29*, 8820–8826.
- [18] R. F. Macaya, P. Schultz, J. Feigon, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 781–783; R. Macaya, E. Wang, P. Schultz, V. Sklenár, J. Feigon, *J. Mol. Biol.* **1992**, *225*, 755–773.
- [19] M. Shimizu, A. Konishi, Y. Shimada, H. Inoue, E. Ohtsuka, *FEBS Lett.* **1992**, *302*, 155–158.

Topochemische Reaktionskontrolle in Lösung **

Henning Hopf*, Helmut Greiving, Peter G. Jones und Peter Bubenitschek

Professor Wolfgang Lüttke zum 75. Geburtstag gewidmet

Die Photodimerisierung von Zimtsäure im festen Zustand ist eines der klassischen Beispiele für die topochemische Reaktionskontrolle, der Korrelation von Produktkonfiguration und der Packung der Ausgangsverbindungen im Kristallgitter^[1, 2]. Zur Produktbildung kann es dabei nur kommen, wenn zwischen den Reaktanten eine bestimmte Entfernung nicht überschritten wird, die im Falle der Zimtsäuren für die [2 + 2]-Cycloaddition 360–410 pm beträgt (α - und β -Zimtsäure). Größere Grenzabstände, wie sie in den sog. γ -Strukturen der Zimtsäuren vorliegen (>470 pm), führen zur Photostabilität der Verbindungen^[2]. Will man topochemische Prinzipien in Lösung nutzen – was beispielsweise für die stereokontrollierte Synthese reizvoll ist – muß stellvertretend für das Kristallgitter als ordnungstiftendes Prinzip eine in Lösung stabile Struktur gefunden werden. Dafür eignen sich [m.n]Cyclophane besonders gut, wie wir jüngst an-

[*] Prof. Dr. H. Hopf, Dipl.-Chem. H. Greiving, Dipl.-Chem. P. Bubenitschek
Institut für Organische Chemie der Technischen Universität
Hagenring 30, D-38106 Braunschweig
Telefax: Int. + 531/391-5388

Prof. Dr. P. G. Jones
Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Technischen Universität Braunschweig

[**] Topochemische Reaktionskontrolle in Lösung, 2. Mitteilung. Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung unserer Arbeiten. – 1. Mitteilung: Lit. [3].