

Tabelle 1. Wittig-Olefinition von Lactonen.

Nr.	Edukt	Produkt	E/Z-Verhältnis	t [h]	Ausb. [%]
1	2	(E)-3, (Z)-3	1.6:1	24	90
2	4	(E)-5, (Z)-5	1.1:1	24	80
3	6	(E)-7, (Z)-7	1.4:1	16	69
4	8	(E)-9		48	27
5	10	(E)-11, (Z)-11	1:1	17	56
6	12	(E)-13, (Z)-13	3:1	15	71
7	14	(E)-15		4	58

Zucker-Lactone beschränkt ist, wurde mit **14** auch schon ein Lacton umgesetzt, das einen aromatischen Ring enthält. Nun müssen Einsatzmöglichkeiten und Einschränkungen der Reaktion mit anderen Substraten und anderen Wittig-Reagentien ermittelt werden. Die neu synthetisierten Olefine sollten sich als äußerst nützliche Ausgangsverbindungen für 1,4-Additionen, Reduktionen etc. erweisen, durch die hochfunktionalisierte C-Glycoside zugänglich würden.

#### Experimentelles

(E)-3/(Z)-3: Eine Lösung des Lactons **2** (258 mg, 1 mmol) und des Triphenylphosphorans **1** (670 mg, 2 mmol) in 10 mL Toluol wurde unter Argon in einem Edelstahlautoklaven 24 h auf 140 °C erhitzt. Nach Abkühlung wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Die Eluierung mit einer 3:2-Mischung aus Hexan und

Ethylacetat ergab die analytisch reinen Olefine (*E*)-**3** und (*Z*)-**3**. (*E*)-**3**: 170 mg, 56%,  $[\alpha]_D^{20} = -108^\circ$  ( $c = 0.3$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $\nu_{\text{max}} = 1716, 1666 \text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz, Octit-Numerierung, siehe Formel):  $\delta = 1.40$  (s, 6 H,  $2\text{CH}_3$ ), 1.47 (s, 6 H,  $2\text{CH}_3$ ), 3.70 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.75 (dd,  $J(8.8') = 9$ ,  $J(7.8) = 6.5 \text{ Hz}$ , 1 H, H-8), 4.18 (dd,  $J(5.6) = 4.5$ ,  $J(6.7) = 8 \text{ Hz}$ , 1 H, H-6), 4.25 (dd,  $J(7.8') = 7.5 \text{ Hz}$ , 1 H, H-8'), 4.42 (m, 1 H, H-7), 4.74 (dd,  $J(4.5) = 6.5 \text{ Hz}$ , 1 H, H-5), 5.54 (d,  $J(2.4) = 1.5 \text{ Hz}$ , 1 H, H-2), 5.78 (dd, 1 H, H-4);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta = 25.24$  ( $\text{CH}_3$ ), 26.01 ( $\text{CH}_3$ ), 26.61 ( $\text{CH}_3$ ), 26.93 ( $\text{CH}_3$ ), 51.03 ( $\text{OCH}_3$ ), 65.66 (C-8), 75.21, 76.49, 81.72, 87.43 (C-4, 7), 92.13 (C-2), 110.26, 114.46 (2 x C( $\text{CH}_3$ )), 165.57 (C-3), 168.54 (C=O);  $\text{EI-MS}$ :  $m/z: 314 (M^+)$ , 299, 283, 243, 185, 167, 101, 43. (*Z*)-**3**: 106 mg, 34%;  $[\alpha]_D^{20} = -139^\circ$  ( $c = 0.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $\nu_{\text{max}} = 1709, 1659 \text{ cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz):  $\delta = 1.35$  (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.38 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.42 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.45 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 3.70 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.75 (dd,  $J(7.8) = 6$ ,  $J(8.8') = 9 \text{ Hz}$ , 1 H, H-8), 4.12 (dd,  $J(7.8') = 8 \text{ Hz}$ , 1 H, H-8'), 4.44 (m, 2 H, H-6, 7), 5.12 (d,  $J(2.4) = 1.5 \text{ Hz}$ , 1 H, H-4), 4.65 (dd,  $J(4.5) = 6$ ,  $J(5.6) = 3 \text{ Hz}$ , 1 H, H-5), 5.15 (dd, 1 H, H-4);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta = 25.22$  ( $\text{CH}_3$ ), 25.98 ( $\text{CH}_3$ ), 26.58 ( $\text{CH}_3$ ), 26.90 ( $\text{CH}_3$ ), 50.98 ( $\text{OCH}_3$ ), 65.64 (C-8), 75.18, 76.48, 81.69, 87.42 (C-4, 7), 92.08 (C-2), 110.26, 114.25 (2 x C( $\text{CH}_3$ )), 165.57 (C-3), 168.58 (C=O);  $\text{EI-MS}$ :  $m/z: 314 (M^+)$ , 299, 243, 181, 167, 101, 43.

Eingegangen am 27. November 1995 [Z 8594]

**Stichworte:** Kohlenhydrate · Lactone · Synthesemethoden · Wittig-Reaktion

- [1] A. Maercker, *Org. React.* **1965**, *14*, 270–490; E. Vedejs, M. J. Peterson, *Top. Stereochem.* **1994**, *21*, 1–157.
- [2] D. J. Ager, *Org. React.* **1990**, *38*, 1–224.
- [3] A. J. Dugan, M. A. Adams, P. J. Brynes, J. Meinwald, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 4323–4326; J. Brennan, P. J. Murphy, *ibid.* **1988**, *29*, 2063–2066.
- [4] S. H. Pine, *Org. React.* **1993**, *43*, 1–91.
- [5] C. S. Wilcox, G. W. Long, H. Suh, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 395–398; T. V. RajanBabu, G. S. Reddy, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5458–5461; M. H. Ali, P. M. Collins, W. G. Overend, *Carbohydr. Res.* **1990**, *205*, 428–434; R. Csuk, B. I. Glanzer, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1655–1664; V. Faivre-Buet, I. Eynard, H. Ntde Nga, G. Descotes, A. Grouiller, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 349–356; E. Untersteller, Y. C. Xin, P. Sinaÿ, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2537–2540.
- [6] Y. Chapleur, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 449–450; A. Bandzouzi, M. Lakhissi, Y. Chapleur, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 1471–1473; M. Lakhissi, Y. Chapleur, *Synlett* **1991**, *583*–587; M. Lakhissi, Y. Chapleur, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5752–5757.
- [7] A. Bandzouzi, Y. Chapleur, *Carbohydr. Res.* **1987**, *171*, 13–24; A. Bandzouzi, Y. Chapleur, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1987**, 661–664.
- [8] M. Lakhissi, A. Bandzouzi, Y. Chapleur, *Carbohydr. Lett.* **1995**, 307–314.
- [9] B. M. Trost, T. A. Runge, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7559–7572.

#### Stabile DNA-Schleifen durch Einbau unpolarer und keine Wasserstoffbrücken bildender Nucleosid-Isostere\*\*

Xiao-Feng Ren, Barbara A. Schweitzer, Charles J. Sheils und Eric T. Kool\*

Haarnadelschleifen sind in gefalteten RNA- und DNA-Sequenzen weit verbreitete Strukturelemente. Kürzlich wurde eine ungewöhnliche Stabilität für bestimmte Schleifensequenzen gefunden: Zum Beispiel bilden die Tetranukleotide GNRA und UUCG stabilere RNA-Schleifen als andere Vierersequenzen, und sie sind in der Natur hoch konserviert<sup>[1, 2]</sup>. GAAA-Viererschleifen in DNA-Strukturen wiederum sind unter bestimmten Bedingungen in doppelsträngiger DNA ungewöhnlich stabil<sup>[3]</sup>; in Triplexstrukturen wurde die Schleifensequenz CTTTG als besonders stabil beschrieben<sup>[4]</sup>. Strukturuntersuchungen konn-

[\*] Prof. E. T. Kool, X.-F. Ren, B. A. Schweitzer, C. J. Sheils

Department of Chemistry, University of Rochester

Rochester, NY 14627 (USA)

Telefax: Int. + 716/473-6889

E-mail: etk@chem.rochester.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (GM 52956) gefördert. E. T. K. dankt für ein Camille and Henry Dreyfus Teacher-Scholar Award und für ein Alfred P. Sloan Foundation Fellowship.

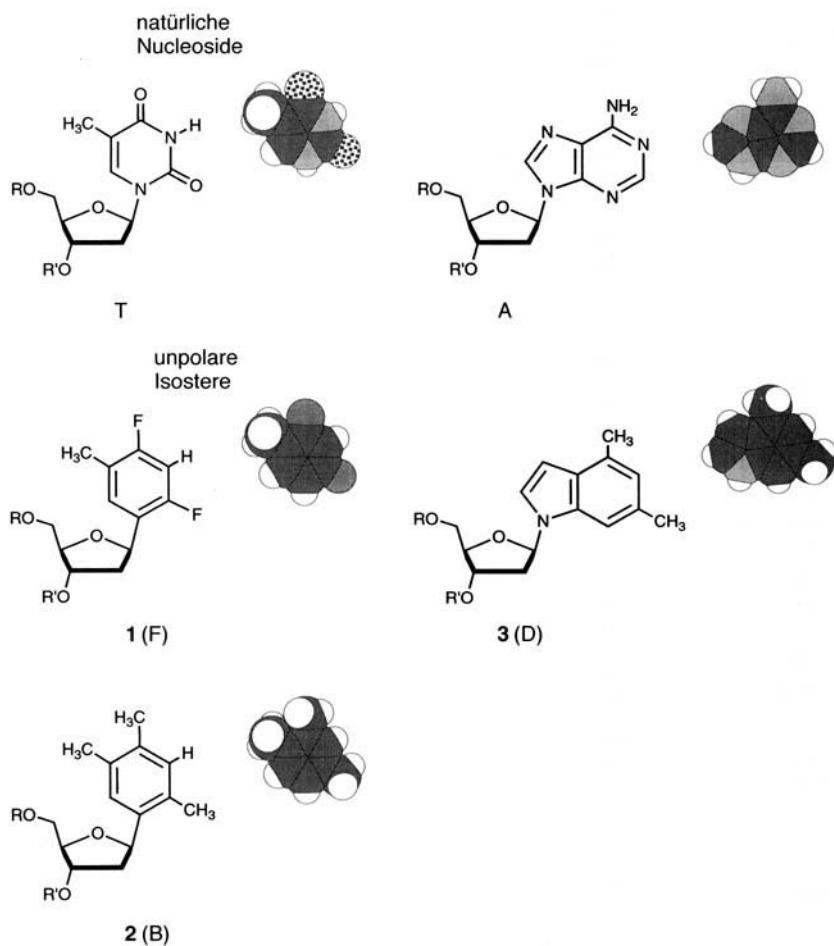
ten in nahezu allen Fällen Wasserstoffbrücken zwischen den Basen und/oder Phosphatresten innerhalb der Schleifen als bedeutendes Strukturelement identifizieren. Es ist jedoch schon lange bekannt, daß Wasserstoffbrücken in wäßrigem Milieu sehr schwach sind. Eine detailliertere Analyse der Bildung von Wasserstoffbrücken in GAAA-Viererschleifen von RNA ergab, daß jede einzelne Wasserstoffbrücke verhältnismäßig wenig zur Gesamtstabilität der Strukturen beiträgt<sup>[5]</sup>. Nucleinsäurestrukturen werden ferner durch bisher nicht voll verstandene Stapelwechselwirkungen zwischen Basen stabilisiert<sup>[6-8]</sup>. Untersuchungen an Schleifenstrukturen in RNAs und DNAs haben sich bis jetzt noch nicht mit der Quantifizierung der Anteile von Basenstapelung und Wasserstoffbrückenbildung an der Stabilisierung solcher Schleifen beschäftigt.

Wir planten deshalb Entwurf und Synthese von Nucleosid-Analoga, die keine Wasserstoffbrücken bilden; diese Analoga sollten zur Untersuchung nichtkovaler biologischer Wechselwirkungen, an denen Nucleotide und Nucleinsäuren beteiligt sind, verwendet werden<sup>[9]</sup>. Wir berichten hier über den Einbau dreier Nucleosid-Isostere in DNA-Schleifen, wobei signifikante Stabilisierungen von doppel- und dreifachhelicalen, gefalteten Strukturen der DNA beobachtet wurden.

Die Nucleoside **1** (F), **2** (B) und **3** (D) wurden als Isostere der natürlich vorkommenden Nucleoside Thymidin (T) und Des-

oxyadenosin (A) entworfen (Abb. 1). Im Unterschied zu den natürlichen Nucleosiden können die Analoga **1-3** jedoch fast keine Wasserstoffbrücken bilden<sup>[9]</sup>. Die Verbindungen **1-3** sind wesentlich hydrophober und weniger polar als ihre natürlichen Analoga, und nach jüngsten Studien in unserem Labor sind sie auch bei der Basenstapelung effektiver<sup>[9b, 10]</sup>. Um die Auswirkungen der Eigenschaften von **1-3** auf gefaltete DNA-Strukturen zu überprüfen, haben wir die Nucleoside **1-3** in Schleifenpositionen von haarnadelbildenden DNA-Sequenzen eingebaut und deren thermische und thermodynamische Stabilität untersucht.

Die Synthese der Nucleoside **1-3** wurde mit bekannten Methoden durchgeführt<sup>[9]</sup>. Primär entstehen bei der Kupplung der „Basen“ von **1** und **2** mit  $\alpha$ -Chlordesoxyribose-toluoylestern  $\alpha$ -Anomere<sup>[11]</sup>, die säurekatalysiert in die  $\beta$ -Anomere umgewandelt wurden<sup>[11b]</sup>. Die Verbindungen **1-3** sind neu, lediglich zwei andere substituierte Indolnucleosidderivate wurden kürzlich beschrieben<sup>[12]</sup>. Die Nucleoside **1-3** konnten in Oligonucleotidsynthesen mit Phosphoramidit-Standardchemie eingesetzt werden; die Ausbeuten der Einzelschritte betrugen über 95% (Tritylkationen-Monitoring). Zu Vergleichszwecken wurden Sequenzen synthetisiert, die an den gleichen Positionen die entsprechenden natürlichen Nucleoside enthalten (siehe Tabelle 1 und 2).



**1,2,3: a, R, R' = H;**

**b, R = DMT, R' = OH;**

**c, R = DMT, R' = P(NiPr<sub>2</sub>)OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN**

Abb. 1. Formeln und Kalottenmodelle der unpolaren Nucleosid-Isostere **1** (F), **2** (B) und **3** (D) sowie der natürlichen Nucleoside Thymidin und Desoxyadenosin.

Tabelle 1. Auswirkungen natürlicher und nichtnatürlicher Nucleoside in Viererschleifen auf die Stabilität doppelsträngiger DNA-Haarnadelstrukturen bei pH 7.0 [a].

Sequenz	$T_m$ [°C]	$-\Delta G_{60}^{\circ}$ [kcal mol <sup>-1</sup> ]
Thymidin und Analoga		
5'-G C A A T T G C T T 3'-C G T T A A C G T T	67.7 (0.6)	1.3 (0.1)
5'-G C A A T T G C F F 3'-C G T T A A C G F F	78.5 (0.5)	3.6 (0.3)
5'-G C A A T T G C B B 3'-C G T T A A C G B B	78.4 (0.5)	3.1 (0.3)
Desoxyadenosin und Analoga		
5'-G C A A T T G C A A 3'-C G T T A A C G A A	62.9 (0.4)	0.4 (0.2)
5'-G C A A T T G C D D 3'-C G T T A A C G D D	67.2 (1.2)	1.1 (0.1)

[a] Bedingungen: 100 mM NaCl, 10 mM Phosphat (pH = 7.0); DNA-Konzentration: 5.0  $\mu$ M. Die natürlich substituierten Sequenzen sind die gleichen wie die in Lit. [13] beschriebenen. Alle Daten sind Mittelwerte; die Fehler sind in Klammern angegeben.

Zuerst wurden die Auswirkungen von **1** (F), **2** (B) und **3** (D) auf doppelsträngige DNA-Haarnadelschleifen untersucht. Dazu wurden zwei selbstkomplementäre Basenpaarstücke aus acht Basen durch eine Vierernucleotidschleife mit identischen Resten verbrückt. Frühere Studien an dieser Sequenz von Breslauer et al.<sup>[13]</sup> hatten gezeigt, daß Sequenzen, die A<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, G<sub>4</sub>- oder T<sub>4</sub>-Schleifen enthalten, mit T<sub>4</sub> am stabilsten sind und mit A<sub>4</sub> am instabilsten. Wir haben die F<sub>4</sub>, B<sub>4</sub> und D<sub>4</sub> enthaltenden Sequenzen und zum Vergleich die natürlichen, T<sub>4</sub> und A<sub>4</sub> enthaltenden Analoga synthetisiert. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse für die doppel-

strängigen Haarnadelsequenzen. Die Lösung war auf pH 7.0 gepuffert (10 mM Phosphat) und enthielt 100 mM NaCl. Die Schmelztemperaturen ( $T_m$ ) aller fünf Sequenzen waren unabhängig von der Konzentration, was für Haarnadelstrukturen und intermolekulare Komplexe spricht. Die Haarnadelsequenzen mit **1** (F) und **2** (B) waren signifikant stabiler als die mit  $T_4$ -Brücken. Die Schmelztemperatur der  $F_4$ -Sequenz mit Difluortoluol-Nucleosiden beträgt 78.5 °C, d.h. sie ist 10.8 K höher als die der  $T_4$ -Schleifenstruktur, die die stabilste Viererschleife mit natürlichen Nucleosiden ist<sup>[13]</sup>. Die vier Haarnadelstrukturen mit natürlichen Nucleosiden ( $A_4$ ,  $T_4$ ,  $C_4$  und  $G_4$ ) haben  $T_m$ -Werte, die in einem engen Bereich zwischen ca. 62 und 68 °C liegen<sup>[13]</sup>. Durch Kurvenanpassung wurde die freie Enthalpie erhalten (Tabelle 1); danach ist die mit **1** modifizierte Schleife thermodynamisch stabiler als die stabilste natürliche Schleife ( $T_4$ -Schleife). Die  $B_4$ -Haarnadelsequenz mit dem Trimethylphenyl-Nucleosid ist fast genauso stabil wie die  $F_4$ -Schleifenstruktur.

So wie Pyrimidin-Isostere zu stabileren Schleifen führen als das natürliche Pyrimidin, ist auch das Purin-Analogon **3** besser stabilisierend als das natürliche Desoxyadenosinderivat:  $\Delta T_m = 4.5$  K. Wie schon von Breslauer et al.<sup>[13]</sup> beschrieben, ist eine  $T_4$ -Schleife besser stabilisierend als eine  $A_4$ -Schleife. Darüber hinaus zeigte sich, daß die nichtnatürlichen Pyrimidin-Isostere **1** und **2** besser stabilisierend wirken als das Purin-Isoster **3**. Dieser Unterschied in den natürlichen Haarnadelstrukturen wurde stets mit der Bildung von schleifenverbrückenden Wasserstoffbrücken erklärt. Für die nichtnatürlichen Fälle können solche Differenzen nicht auf Wasserstoffbrückenbindungen zurückgeführt werden. Somit ist es wahrscheinlicher, daß sterische Unterschiede zwischen Pyrimidin- und Purin-Analoga eine entscheidende Rolle sowohl in natürlichen als auch in nichtnatürlichen Schleifen spielen.

Da sich das unpolare Thymidin-Isoster **1** als das besser stabilisierende der beiden Analoga herausgestellt hatte und darüber hinaus die beste iso-sterische Substitution ist, wurde es zur Untersuchung der Bildung von Tripelhelix-Schleifenstrukturen verwendet. Derartige Tripelhelix-bildende Nucleotide werden zunehmend als Liganden für einzelsträngige Nucleinsäuren verwendet<sup>[14]</sup>. Die Stabilisierung von Schleifen in solchen Komplexen hängt sehr stark von der ersten und letzten Base in der Schleife ab<sup>[14]</sup>. Das Nucleosid **1** wurde deshalb an diesen Positionen einer Pentanucleotidschleife eingebaut, die zwei Achter-Pyrimidinstränge verbrückt. Zum Vergleich wurde auch das natürliche,  $T_5$ -verbrückte Oligonucleotid synthetisiert (siehe Tabelle 2). Es wurden sowohl die 5'- als auch die 3'-Schleifenorientierungen bei pH 7 mit 100 mM NaCl und 10 mM MgCl<sub>2</sub> untersucht.

Das unpolare Nucleosid **1** ergab die thermisch und thermodynamisch stabileren Komplexe (Tabelle 2). Das hydrophobe Nu-

cleosid **1** gibt Komplexe, die 4.8–5.4 K thermodynamisch stabiler sind als die T,T-substituierten Oligonucleotide. Die freien Enthalpien unterscheiden sich um 1.8–2.2 kcal mol<sup>-1</sup>. Frühere Untersuchungen mit natürlichen Basen in diesen Schleifen<sup>[4]</sup> ergaben für den T,T-Fall eine mittlere Stabilität, während sich die C,C-Schleife am instabilsten und die G,G-Schleife am stabilsten erwies; die G,G-Schleife ist 1.5 kcal mol<sup>-1</sup> stabiler als die T,T-Schleife<sup>[4]</sup>. Daraus folgt, daß unsere F,F-Schleife stabiler ist als alle mit natürlichen Basen substituierten Schleifen.

In der Vergangenheit wurden auch einfache Nichtnucleotidbrücken als Ersatz für Schleifen in Nucleinsäuren verwendet<sup>[15]</sup>. Derartige Brücken sind oft weniger stabilisierend als Nucleotidbrücken. Dies könnte darauf zurückgeführt werden, daß die Nucleotidbrücken viel starrer sind als die hochbeweglichen Nichtnucleotidbrücken und obendrein Basenstapelwechselwirkungen auftreten können. Die hier präsentierten Nucleosid-Analoga führen zu starren Brücken und ermöglichen die Basenstapelung zur Stabilisierung der Nucleinsäurehelices. Anders als natürliche DNA-Strukturen sind die Schleifen mit **1**–**3** gegenüber Nucleasen resistent (Daten nicht gezeigt). Hinzu kommt, daß unpolare Nucleoside **1**–**3** mit geringer Affinität und Spezifität mit natürlichen Sequenzen paaren<sup>[9b]</sup>. Sie sollten deshalb die erwarteten Paarungen in biologischen Systemen kaum stören.

Unsere Untersuchungen zum Einbau hydrophober Nucleosid-Analoga in Oligonucleotidschleifen ergaben, daß diese Verbindungen signifikant stabilisierend wirken. Da sie keine Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen eingehen<sup>[9b]</sup>, scheint die beste Erklärung für das beobachtete Verhalten eine relativ starke Stapelwechselwirkung zu sein. Zur Stabilisierung von Nucleinsäurekomplexen, die Schleifen enthalten, sollten also Arene anstelle natürlicher Basen, besonders an Positionen in Nachbarsstellung zu einer Helix, positioniert werden. Ob in den vorliegenden Verbindungen hydrophobe oder van-der-Waals-Wechselwirkungen eine stabilisierende Rolle spielen, muß in genauen Struktur- und physikalischen Studien geklärt werden.

### Experimentelles

Epimerisierung der  $\alpha$ -Anomere von **1a** und **2a** (Bis-*p*-toluolester) zu  $\beta$ -Anomeren: **1a**: Zu einer Lösung des  $\alpha$ -Anomers des Bis-*p*-toluolesters der Verbindung **1a** (Synthese beschrieben in Lit. [9a]) (780 mg, 1.62 mmol) in Toluol (60 mL) wurden eine katalytische Menge Benzolsulfinsäure (ca. 10%), ein Tropfen konzentrierte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und zwei bis vier Tropfen H<sub>2</sub>O gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4–6 h unter Rückfluß gerührt und dann in eine wäfigre NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL, 5%ig) gegossen; es wurde mit EtOAc (3 × 50 mL) extrahiert und die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Säulenchromatographie (mit Hexan/EtOAc 8:1 → 2:1) der rohen Mischung gab 430 mg **1a** ( $\beta$ -Epimer, 46% Ausbeute). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.02 (2H, d,  $J$  = 8.0 Hz), 7.97 (2H, d,  $J$  = 8.0), 7.30–7.37 (1H, m, undeutlich), 7.31 (2H, d,  $J$  = 8.0), 7.25 (2H, d,  $J$  = 8.0), 6.75 (1H, dd,  $J$  = 8.0, 8.0), 5.64 (1H, br, d,  $J$  = 5.8), 5.47 (1H, dd,  $J$  = 5.1, 10.8), 4.78 (1H, dd,  $J$  = 3.8, 11.8), 4.66 (1H, dd,  $J$  = 3.7, 11.8), 4.54 (1H, m), 2.64 (1H, m), 2.46 (3H, s), 2.43 (3H, s), 2.23 (1H, m), 2.17 (3H, s); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 13.8 (d), 22.0 (d), 40.1, 64.9, 74.9, 83.0, 103.0 (t), 120.1 (d), 124.5 (d), 127.3 (d), 128.6, 128.8 (d), 128.9 (d), 144.0 (d), 156.5 (d), 158.0 (d), 155.9 (d), 162.3 (d), 166.1 (d); hochauflößtes Massenspektrum (FAB, 3-Nitrobenzylalkohol-Matrix,  $M + H^+$ ): berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 481.1827, gefunden 481.1853.

**2a** ( $\beta$ -Epimer, 54% Ausbeute): <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.02 (2H, d,  $J$  = 8.0 Hz), 7.97 (2H, d,  $J$  = 8.0), 7.30–7.37 (1H, m, undeutlich), 7.32 (2H, br, d,  $J$  = 10.7), 7.31 (2H, br, d,  $J$  = 11.2), 7.24 (1H, s), 6.95 (1H, s), 5.65 (1H, br, d,  $J$  = 5.6), 5.42 (1H, dd,  $J$  = 5.0, 10.8), 4.76 (1H, dd,  $J$  = 3.9, 11.8), 4.70 (1H, dd,  $J$  = 3.6, 11.8), 4.55 (1H, m), 2.56 (1H, m), 2.46 (3H, s), 2.43 (3H, s), 2.31 (3H, s), 2.23 (3H, s), 2.18 (1H, m), 2.13 (3H, s); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 18.2, 19.5, 22.1 (d), 41.0, 65.0, 82.5, 126.2, 127.0 (d), 128.6 (d), 128.8 (d), 132.1 (d), 135.5, 136.2, 141.4, 144.5, 165.5, 166.0; hochauflößtes Massenspektrum (FAB, 3-Nitrobenzylalkohol-Matrix,  $M^+$ ): berechnet für C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> 472.2250, gefunden 472.2234.

Umwandlung der Nucleosid-bis-*p*-toluolester von **1a** und **2a** in die Phosphoramidit-Derivate **1c** bzw. **2c**: Die Hydrolyse der Bis-*p*-toluolester, die anschließende Umwandlung zu 5'-O-Dimethoxytrityl-Derivaten und die 3'-O-Phosphitylierung in Vorbereitung für die automatisierte DNA-Synthese wurden mit den bereits beschriebenen Methoden für das  $\alpha$ -Anomer durchgeführt [9b]. Die analytischen Da-

Tabelle 2. Auswirkung der Variation des ersten und letzten Schleifenucleotids auf die Stabilität von Tripelhelices am Beispiel der Komplexe aus 21-Nucleotid-Pyrimidin-DNA- und komplementären 8-Nucleotid-Purin-DNA-Strängen bei pH 7.0 [a].

Komplex mit 5'-Schleife	$T_m$ [°C]	$\Delta G_{25}^{\circ}$ [kcal mol <sup>-1</sup> ]	Komplex mit 3'-Schleife	$T_m$ [°C]	$\Delta G_{25}^{\circ}$ [kcal mol <sup>-1</sup> ]
T <sup>5</sup> T C T T T C T T -3'			5'- T T C T T T C T T -T		
T <sup>5</sup> G A A A G A A -3'	27.2	8.8	5'- A A G A A A A G T	25.6	8.4
T <sup>5</sup> T C T T T C T T -5'			3'- T T C T T T C T T -T		
T <sup>5</sup> F C T T T C T T -3'			5'- T T C T T T T C F T		
T <sup>5</sup> G A A A G A A -3'	32.6	10.6	5'- A A G A A A A G T	32.4	10.6
T <sup>5</sup> F C T T T C T T -5'			3'- T T C T T T T C F T		

[a] Bedingungen: 100 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Na-PIPES (pH = 7.0); DNA-Konzentration: 2.0  $\mu$ M pro Strang. Fehler:  $\pm 5$  K in  $T_m$  und  $\pm 10\%$  in der freien Enthalpie.

ten für diese Verbindungen waren in Übereinstimmung mit ihren Strukturen [11 b]. Oligonucleotidsynthese: Die DNA-Oligonucleotide wurden mit einem Applied-Biosystems-392-Gerät mit der Standard- $\beta$ -Cyanethylphosphoramid-Chemie hergestellt [16]. Die Methoden für den Schutz, die Tritylierung und die Phosphitylierung der Nucleoside 3a–c wurden bereits beschrieben [9 b]. Die Oligomere wurden durch präparative, 20 % denaturierende Polyacrylamid-Gelektrophorese gereinigt (260 nm Detektion). Die molaren Extinktionskoeffizienten der mit natürlichen Nucleosiden substituierten Sequenzen wurden mit der Methode der nächsten Nachbarn berechnet [17]. Die gemessenen molaren Extinktionskoeffizienten der Nucleoside 1, 2 und 3 waren 1200, 851 bzw. 6362. Die molare Absorptivität von Oligonucleotiden, die derartige Reste enthalten, wurde wie beschrieben abgeleitet [9 b]. Oligodesoxynucleotide wurden nach der Reinigung als Na-Salz erhalten. Der richtige Einbau der Reste 1–3 wurde durch die Synthese kurzer Oligomere der Sequenz 5'-T-X-T (X = 1, 2 oder 3) bestätigt. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie (500 MHz) zeigte die Anwesenheit intakter aromatischer Ringstrukturen mit den erwarteten Signalintensitäten im Vergleich zu denen der Thymin-C-5-Protonen und Methylgruppen. Eine Analyse durch enzymatischen Abbau konnte nicht durchgeführt werden, da die nichtnatürlichen Reste die enzymatische Spaltung hemmten.

Thermische Denaturierung: verwendete Puffer: 100 mM NaCl, 10 mM Na-Phosphat (für doppelhelicale Systeme); 100 mM NaCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Na-PIPES (1,4-Piperazinbisethansulfonat) (für Tripelhelices). Der pH-Wert des Puffers ist der einer 1.4fach konzentrierteren Stammlösung bei 25 °C, die Puffer und Salze enthält. Nachdem die Lösung präpariert war, wurde sie auf 90 °C erhitzt und langsam auf Raumtemperatur abgekühlt, bevor sie für Schmelzexperimente verwendet wurde.

Die Schmelzuntersuchungen wurden in teflonüberzogenen 1-cm-Quarzellen unter Stickstoff an einem Varian-Cary-1-UV/Vis-Spektrometer, ausgerüstet mit einem Temperaturprogramm, durchgeführt. Die Absorption wurde bei 260 nm verfolgt, während die Temperatur mit 0.5 K min<sup>-1</sup> erhöht wurde. Eine langsamere Aufheizgeschwindigkeit hatte keinen Einfluss auf die Ergebnisse. Alle Komplexe zeigten scharfe Schmelzübergänge. Die Schmelztemperatur  $T_m$  wurde durch rechnerische Anpassung der ersten Ableitung der Absorption nach 1/T bestimmt. Die relative Abweichung der einzelnen  $T_m$ -Werte liegt bei  $\pm 0.5$  K. Die Werte der freien Enthalpie wurden durch Computeranpassung der Denaturierungsdaten mit einem Algorithmus erhalten, der ein lineares Auslaufen der Basislinie und eine Zwei-Zustände-Annäherung für den Schmelzvorgang annimmt [7]. Der Fehler wird auf  $\pm 5$  bis  $\pm 10$  % geschätzt.

Eingegangen am 4. April,  
veränderte Fassung am 27. Dezember 1995 [Z 7865]

**Stichworte:** Basenstapelung · DNA · Nucleoside · Tripelhelix · Wasserstoffbrücken

- [1] D. R. Grobe, O. C. Uhlenbeck, *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 11 725–11 735.
- [2] H. A. Heus, A. Pardi, *Science* **1991**, *253*, 191–194.
- [3] I. Hirao, Y. Nishimura, Y. Tagawa, K. Watanabe, K. Miura, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 3891–3896.
- [4] S. Wang, M. A. Booher, E. T. Kool, *Biochemistry* **1994**, *33*, 4639–4644.
- [5] J. SantaLucia, R. Kierzek, D. H. Turner, *Science* **1992**, *256*, 217–219.
- [6] C. R. Cantor, P. R. Schimmel, *Biophysical Chemistry, Part III: The Behavior of Biological Macromolecules*, W. H. Freeman, San Francisco, **1980**, S. 1117–1133.
- [7] M. Petersheim, D. H. Turner, *Biochemistry* **1983**, *22*, 256–263.
- [8] M. Senior, R. A. Jones, K. J. Breslauer, *Biochemistry* **1988**, *27*, 3879–3885.
- [9] a) B. A. Schweitzer, E. T. Kool, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7238–7242; b) *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1863–1872.
- [10] X.-F. Ren, B. A. Schweitzer, C. J. Shiels, N. C. Chaudhuri, E. T. Kool, unveröffentlicht.
- [11] a) N. C. Chaudhuri, E. T. Kool, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1795–1798; *ibid.* **1995**, *36*, 4910; b) X.-F. Ren, N. C. Chaudhuri, E. T. Kool, unveröffentlicht.
- [12] a) R. S. Coleinan, Y. Dong, J. C. Arthur, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6867–6870; b) D. Loakes, D. M. Brown, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 4039–4043.
- [13] M. M. Senior, R. A. Jones, K. J. Breslauer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 6242–6246.
- [14] a) L. E. Xodo, G. Manzini, F. Quadrifoglio, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Nucleic Acids Res.* **1991**, *19*, 5625–5631; b) E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6265–6266; c) G. Prakash, E. T. Kool, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, *1161*–1162; *ibid.* **1994**, 646; d) C. Giovannangeli, T. Montenay-Garestier, M. Rougée, M. Chassignol, N. T. Thuong, C. Hélène, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7775–7776; e) G. Prakash, E. T. Kool, *ibid.* **1992**, *114*, 3523–3528; f) M. Salunkhe, T. Wu, R. L. Letsinger, *ibid.* **1992**, *114*, 8768–8772; g) D. J. D'Souza, E. T. Kool, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1992**, *10*, 141–152; h) S. Rumney, E. T. Kool, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1686–1689; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1617–1619; i) T. A. Perkins, J. L. Goodman, E. T. Kool, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, *215*–217; j) C. Giovannangeli, N. T. Thuong, C. Hélène, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10013–10017; k) S. M. Gryaznov, D. H. Lloyd, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 5909–5915; l) R. H. E. Hudson, M. J. Damha, *Nucleic Acids Symp.* **1993**, *29*, 97–99; m)

D. J. D'Souza, E. T. Kool, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 965–970; n) S. Wang, E. T. Kool, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 2326–2333; o) S. Wang, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8857–8858; p) E. R. Kandimal, S. Agrawal, *Gene* **1994**, *149*, 115–121; q) D. M. Noll, J. L. O'Rear, C. D. Cushman, P. S. Miller, *Nucleosides Nucleotides* **1994**, *13*, 997–1005; r) T. L. Trapane, M. S. Christopherson, C. D. Roby, P. O. P. Ts'o, D. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8412–8413; s) R. Bandaru, H. Hashimoto, C. Switzer, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 786–788; t) N. C. Chaudhuri, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10 434–10 442.

- [15] a) M. Durand, K. Chevrie, M. Chassignol, N. T. Thuong, J. C. Maurizot, *Nucleic Acids Res.* **1990**, *18*, 6353–6359; b) M. Durand, S. Peloille, N. T. Thuong, J. C. Maurizot, *Biochemistry* **1992**, *31*, 9197–9204; c) M. Y.-X. Ma, L. S. Reid, S. C. Clime, W. C. Lin, R. Kuperman, M. Sumner-Smith, R. W. Barnett, *ibid.* **1993**, *32*, 1751–1758; d) M. J. Doktycz, T. M. Paner, A. S. Benight, *Biopolymers* **1993**, *33*, 1765–1777; e) J. B. Thomson, T. Tuschl, F. Eckstein, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 5600–5603; f) F. Benseler, D. Fu, J. Ludwig, L. W. McLaughlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8483–8484; g) S. Rumney IV, E. T. Kool, *ibid.* **1995**, *117*, 5635–5646.
- [16] a) S. L. Beauchage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859–1862; b) N. D. Sinha, J. Biernat, H. Köster, *ibid.* **1983**, *24*, 5843–5846.
- [17] P. N. Borer in *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 1, 3. Aufl. (Hrsg.: G. D. Fasman), CRC Press, Cleveland, OH, USA, **1985**, S. 589.

## Supraleitung in intercaliertem und substituiertem $\text{Y}_2\text{Br}_2\text{C}_2$

Michael Bäcker, Arndt Simon\*, Reinhard K. Kremer, Hans-Jürgen Mattausch, Richard Dronskowski und Jean Rouxel

Die Supraleiter  $(\text{SE})_2\text{X}_2\text{C}_2$  ( $\text{SE}$  = nicht magnetisches Seltenerelement;  $\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$ ) sind Modellsysteme für ein Verständnis des Phänomens Supraleitung aus der Sicht der Chemie<sup>[1, 2]</sup>. Die Verbindungen von Yttrium wurden bisher eingehend untersucht<sup>[3, 4]</sup>; sie weisen Strukturen mit planaren  $\text{X}-\text{Y}-\text{Y}-\text{X}$ -Schichtpaketen und dichtester Anordnung der Atome auf. Alle Oktaederlücken innerhalb der  $\text{Y}-\text{Y}$ -Doppelschicht sind mit  $\text{C}_2$ -Einheiten besetzt, und zwischen den  $\text{X}$ -Atomen zweier Schichtpakete gibt es van-der-Waals-Kontakte<sup>[5]</sup>.  $\text{Y}_2\text{Cl}_2\text{C}_2$  und  $\text{Y}_2\text{I}_2\text{C}_2$  einerseits, und  $\text{Y}_2\text{Br}_2\text{C}_2$  andererseits bilden unterschiedliche Strukturtypen, die sich in der Art der Stapelung unterscheiden. Die monoklinen Zellen weisen Winkel von  $\beta \approx 93^\circ$  (1s-Form)<sup>[6]</sup> bzw.  $\approx 100^\circ$  (3s-Form) auf.

Dem Zintl-Klemm-Konzept zufolge lässt sich die chemische Bindung in erster Näherung mit der Formel  $(\text{Y}^{3+})_2(\text{X}^-)_2(\text{C}_2^-)_2$  beschreiben. Durch Mischung der  $\text{C}_2$ - $\pi^*$ - und  $\text{Y}$ -d-Niveaus resultiert jedoch eine Delokalisierung von Elektronen und metallische Leitfähigkeit in zwei Dimensionen. Im Gegensatz dazu ist die Verbindung  $\text{Y}_2\text{Br}_2\text{C}$   $[(\text{Y}^{3+})_2(\text{Br}^-)_2(\text{C}_2^-)]$ , die einzelne  $\text{C}$ -Atome aufweist, erwartungsgemäß halbleitend. Nach unserer Auffassung ist die Supraleitung bei  $\text{Y}_2\text{X}_2\text{C}_2$  auf die Nähe zur elektronischen Lokalisierung, d. h. auf die Tendenz zur paarweisen Besetzung quasimolekularer  $\text{C}_2$ - $\pi^*$ -Zustände an der Fermi-Kante  $E_F$  zurückzuführen. Diese Annahme wird durch Bandstrukturrechnungen gestützt<sup>[3]</sup>.

[\*] Prof. Dr. A. Simon, Dipl.-Chem. M. Bäcker, Dr. R. K. Kremer, Dr. H.-J. Mattausch, Priv.-Doz. Dr. R. Dronskowski  
Max-Planck-Institut für Festkörperforschung  
Heisenbergstraße 1, D-70569 Stuttgart  
Telefax: 0711/689-1642  
E-mail: micha@vaxff2.mpi-stuttgart.mpg.de  
Prof. Dr. J. Rouxel  
Université de Nantes (Frankreich)