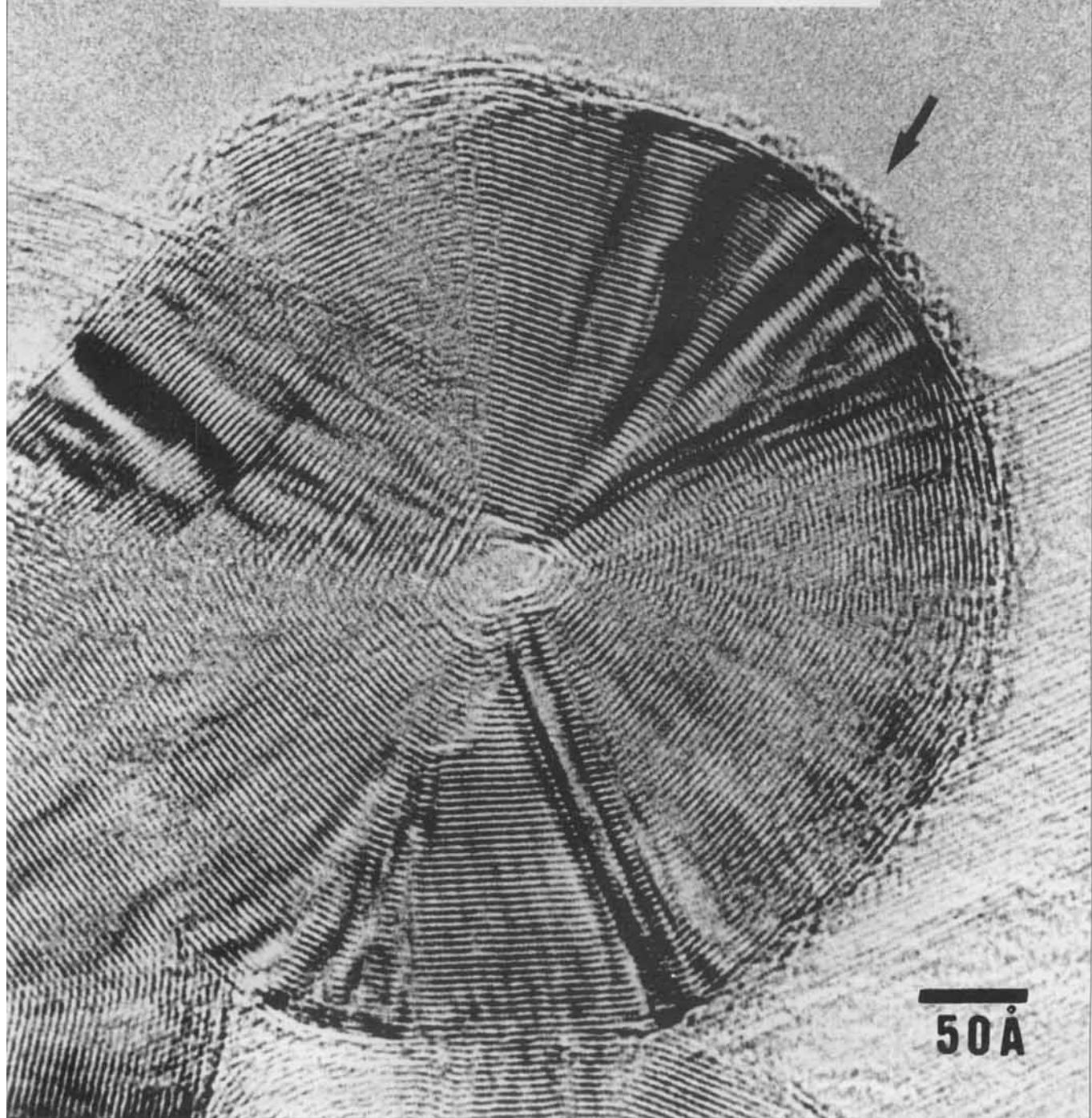


Platinierte und iodierte DNA-Fragmente können an Kohlenstoff-Nanoröhren immobilisiert werden; transmissionselektronenmikroskopisch lässt sich die DNA-Schicht (Pfeil) visualisieren. Mehr über dieses interessante Hybridmaterial berichten P. J. Sadler et al. auf den folgenden Seiten.



Immobilisierung von platinierten und iodierten DNA-Oligomeren an Kohlenstoff-Nanoröhren**

Shik Chi Tsang, Zijian Guo, Yao Kuan Chen,
Malcolm L. H. Green, H. Allen O. Hill,
Trevor W. Hambley und Peter J. Sadler*

Die raschen Fortschritte in der Biotechnologie tragen wesentlich zu unserem Verständnis von Gesundheit und Krankheit bei. Großes Interesse besteht an der Entwicklung neuer Systeme zum Nachweis von Anomalien und zur Freisetzung von Wirkstoffen, um Erkrankungen gezielt und mit begrenzten Nebenwirkungen bekämpfen zu können. In diesem Zusammenhang sind Studien zur molekularen Erkennung im Hinblick auf biochemische Nachweismethoden, Arzneimitteltransport und Gentherapie von Bedeutung. Interesse erregte kürzlich beispielsweise die Verankerung von DNA an einer festen Oberfläche, so daß sie als chemisches Erkennungsmittel für die Komplementär-DNA oder für spezifische Proteine dienen kann.^[1]

Kohlenstoff ist wegen seiner Stärke, Stabilität und elektrischen Leitfähigkeit das häufigste Trägermaterial zur Immobilisierung von Biomolekülen.^[2] Über die Struktur und die Morphologie von Biomolekülen, die an Kohlenstoffträger adsorbiert sind, ist jedoch nur wenig bekannt. Die vor kurzem entdeckten Kohlenstoff-Nanoröhren haben Fulleren-ähnliche Strukturen aus konzentrischen tubulären Kohlenstoffschichten und einen charakteristischen zentralen Hohlraum von 30–60 Å Durchmesser. Diese neue Kohlenstoff-Form hat eine höhere elektrische Leitfähigkeit als Graphitmaterialien^[3] und kann im Grammaßstab durch Verdampfen von Graphitelektroden bei hoher Temperatur im Lichtbogen hergestellt werden.^[4, 5] Wir berichten nun über die Synthese kleiner platinierten und iodierter DNA-Oligomere und ihre Immobilisierung an Kohlenstoff-Nanoröhren. Diese durch Schweratome markierten Oligomere streuen leicht Elektronen und ermöglichen so das indirekte Sichtbarmachen durch hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).

Die Kohlenstoff-Nanoröhren wurden wie beschrieben hergestellt.^[6] Die TEM-Untersuchung des erhaltenen Materials ergab, daß es aus faserartigen Nanoröhren (ca. 30%) und Graphitpartikeln (ca. 70%) besteht. TEM-Abbildungen der Enden der Kohlenstoffröhren zeigten, daß diese ausnahmslos geschlossen waren. Um zu prüfen, ob DNA in die Nanoröhren eingelagert werden kann, öffneten wir diese durch Behandeln mit

[*] Prof. Dr. P. J. Sadler, Dr. Z. Guo, Dr. T. W. Hambley [+] Department of Chemistry, University of Edinburgh

West Mains Road, Edinburgh EH9 3JJ (Großbritannien)
Telefax: Int. +131-650-6452
E-mail: P.J.Sadler@ed.ac.uk

[+] Permanente Adresse:

School of Chemistry, University of Sydney, N.S.W. 2006 (Australien)

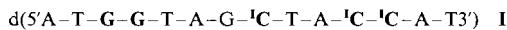
Dr. S. C. Tsang
The Catalysis Research Centre, Department of Chemistry,
University of Reading

Whiteknights, Reading, RG66AD (Großbritannien)

Y. K. Chen, Prof. Dr. M. L. H. Green, Prof. Dr. H. A. O. Hill
Inorganic Chemistry Laboratory, University of Oxford
South Parks Road, Oxford, OX1 3QR (Großbritannien)

[**] Diese Arbeit wurde von der Association for International Cancer Research und vom BBSRC gefördert. P. J. S. dankt der Europäischen Union (Human Capital and Mobility- und COST-Programm) und dem Engineering and Physical Sciences Research Council (EPSRC) für Unterstützung, S. C. T. der Royal Society für ein University Fellowship. Dem Medical Research Centre (MRC) Mill Hill danken wir für die Bereitstellung von NMR-Einrichtungen, Dr. J. L. Hutchinson, Department of Materials, University of Oxford, für die Benutzung des JEOL-400-EX-Mikroskops und hilfreiche Diskussionen und Dr. R. Henderson (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge) für kritische Anmerkungen zu diesem Manuskript.

HNO_3 und entfernten die meisten aciden Gruppen an der Oberfläche durch Erhitzen.^[7] TEM-Aufnahmen der Probe ergaben, daß nun mehr als 80% der Röhren selektiv an den Enden geöffnet^[8] und die inneren Hohlräume glatt und leer waren. Anschließend wurden die Nanoröhren mit einer durch Schweratome markierten Duplex-DNA behandelt, die durch TEM leicht zu erkennen ist. Wir verwendeten das selbstkomplementäre Tetradecanucleotid **I**, das 5-Iodcytosin (¹³C) sowie ein GG-Paar enthält, das durch *cis*- $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ chelatisierend markiert werden kann.



Das ¹H-NMR-Spektrum dieses Oligonucleotids in Lösung ($\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}, 9/1, 0.1 \text{ M NaClO}_4$) zeigte im pH-Bereich 4.4–7 fünf bis elf Signale bei $\delta = 11.5$ –13.5, wie sie für die Iminoprotonen in Watson-Crick-Basenpaaren typisch sind.^[9] Der Duplex **II** wurde an $\text{G(3)} \cdot \text{G(4)}$ durch Umsetzung mit 0.9 Moläquivalenten (d.h. ca. einem Platinatom je Duplex) einer Lösung äquimolarer Mengen *cis*- $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ und *cis*- $[\text{PtCl}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{+}$, den reaktiven Hydrolyseprodukten des Antitumormittels Cisplatin,^[10] platiniert und die Reaktion durch $[\text{H}^1, \text{N}^{15}]\text{HSQC}$ -2D-NMR-Spektroskopie verfolgt.^[11, 12] Der Diaqua-Komplex reagierte sehr rasch zum GG-Chelatkomplex, wobei Aquazwischenstufen mit einzähniger Koordination nicht beobachtet wurden, während der Aqua-chloro-Komplex durch einzähnige Komplexierung zu den beiden Intermediaten *cis*- $[\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2(\text{G3-N7})]$ und *cis*- $[\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2(\text{G4-N7})]$ führte (Abb. 1). Dabei überwog eines dieser beiden Addukte – ein

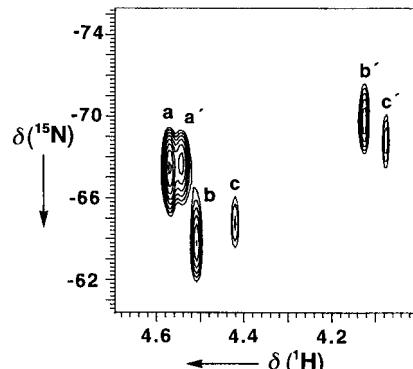


Abb. 1. 2D- $[\text{H}^1, \text{N}^{15}]$ -NMR-Spektrum, 12 h nach Mischen des Duplex **II** mit 0.9 Moläquivalenten einer Lösung aus *cis*- $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ und *cis*- $[\text{PtCl}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{+}$ aufgenommen. Bei Ende der Reaktion (nach ca. 72 h) waren nur die Signale **a** und **a'** vorhanden, die den nichtäquivalenten Pt-NH_3 -Liganden im GG-Chelatkomplex **Pt-II** zuzuordnen sind. Die Signale **b**, **b'** und **c**, **c'** gehören zu den einzähnigen, an G(3) oder G(4) platinierten Intermediaten (je zwei Signale: NH_3 in *trans*-Stellung zu N7 und Cl).

Effekt, der kürzlich bei einem DNA-Tetradecanucleotid-Duplex beobachtet worden war.^[12] Nach drei Tagen war der GG-Chelatkomplex das einzige, durch $[\text{H}^1, \text{N}^{15}]$ -NMR-Spektroskopie nachweisbare Endprodukt. Das Vorhandensein von etwa zehn Signalen im Bereich der Iminoprotonenresonanzen im ¹H-NMR-Spektrum läßt darauf schließen, daß die Duplexstruktur von **II** nach der Platinierung – wie bei derartigen Addukten üblich^[10] – wiederhergestellt war. Das in Abbildung 2 gezeigte Modell von **Pt-II** soll die Position der Schweratome in diesem Duplex veranschaulichen.

Sowohl die geschlossenen als auch die offenen Nanoröhren wurden mit **Pt-II** umgesetzt. Abbildung 3 zeigt geschlossene Nanoröhren (mit graphitartigen Schichten), die vollständig von

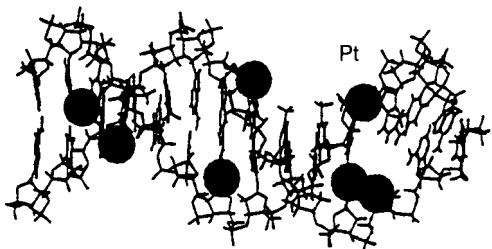


Abb. 2. B-DNA-Modell von Pt-II mit den Positionen der Schweratome (vergrößert dargestellt; nichtbezeichnete Schweratome sind Iodatome).

einer Lage amorphen Materials bedeckt sind. Ein kleiner Teil des amorphen Materials kann von Verunreinigungen der Probe beim Herstellen und Überführen herrühren, und lokale, elektronenstrahlinduzierte elektrische Ladungen können zu einer Anziehung von amorphem Material innerhalb der Mikroskopkammer führen. Allerdings wurde eine derart hohe „Kontamination“ durch amorphes Material, wie sie in Abbildung 3 gezeigt ist, an den Oberflächen von Nanoröhrchen noch nie beobachtet. Tatsächlich fanden wir bei ähnlich, aber ohne Pt-II behandelten Nanoröhren glatte, von Verunreinigungen freie Oberflächen. Da die Röntgendifpersionsanalyse ergab, daß das adsorbierte Material Pt, P, I, Cl, Na und etwas Ca enthielt, nehmen wir an, daß die amorphe Oberflächenschicht von Pt-II (und NaClO₄) herröhrt. Das IR-Spektrum des immobilisierten Materials zeigte die für DNA typischen Absorptionsbanden bei 1630 cm⁻¹

(NH₂-Beugeschwingung), 1097 cm⁻¹ (Phosphatgerüst), 1000–1400 cm⁻¹ (Nucleobasen) und 800 cm⁻¹ (Desoxyribose).^[13]

Der gute Kontrast des amorphen Materials in einigen TEM-Abbildungen könnte auf die schweren Elemente Platin und Iod zurückzuführen sein, die Elektronen leichter streuen als der Hintergrund. Der amorphe Stoff tendierte dazu, die Oberfläche der Nanoröhren sehr gleichmäßig mit einer durchschnittlichen Dicke von 7–13 Å zu bedecken, obwohl auch einige größere Aggregationsstellen auftraten (Abb. 3 oben). Dies deutet auf gute Benetzungseigenschaften und eine starke Wechselwirkung des Materials mit der Kohlenstoffoberfläche hin. Die im folgenden beschriebenen Versuche veranschaulichen die starke Bindung: An offenen Nanoröhren (2 mg) war nach Behandeln mit Pt-II (1 mL einer 3 µM Lösung, 24 h) und anschließendem Inkubieren in Wasser (24 h) noch Material nachweisbar. Die Adsorption des Duplex II wurde UV-spektroskopisch untersucht (siehe *Experimentelles*). Dabei zeigte sich, daß sogar nach dem Waschen noch ca. 25 µg II (46 % der zugefügten DNA) an 2 mg der geschlossenen und 12 µg II (22 % der zugefügten DNA) an den offenen Röhren adsorbiert waren. Das von den Röhren abgewaschene Material wurde anhand von Schmelzexperimenten als doppelhelicale DNA identifiziert. Die höhere Adsorption von DNA an die geschlossenen Nanoröhren ist in Einklang mit der Erhöhung der negativen Ladung an der Oberfläche durch die Oxidation.

Von der an die Oberfläche adsorbierten DNA konnte – möglicherweise aufgrund von Strahlenschäden – keine klare Abbildung erhalten werden. Daß Abbildungen infolge strahleninduzierter Bewegung und Ladungserhöhung der Probe unscharf werden, wurde schon früher beschrieben.^[14] Dennoch spricht die ziemlich einheitliche Dicke der Adsorbschicht (7–13 Å) für eine ausgezeichnete Oberflächenerkennung. Die große Furche der B-DNA führt zu einem regelmäßigen Querschnitt und ist mit der beobachteten zweidimensionalen Schwankung der Dicke von 7–13 Å in Einklang, die vom Projektionswinkel und der relativen Stellung zum Elektronenstrahl abhängt. Die die Nanoröhren bedeckende Oberflächenschicht besteht daher wahrscheinlich aus doppelsträngiger helicaler DNA. Andere Autoren haben gezeigt,^[15] daß DNA auf manchen inerten Oberflächen (z. B. Glas) ähnliche Gestalt haben kann wie in wässriger Lösung. Einige TEM-Bilder schienen hoch verknäultes, in offene Nanoröhren eingelagertes Pt-II zu zeigen, das mit Unterbrechungen die gesamte Länge der Röhren ausfüllt. Vermutlich hat sich die DNA an der inneren Oberfläche gleichmäßig verankert, als die Röhren getrocknet wurden. Das eingelagerte Material schien in den Nanoröhrchen lange Aggregate zu bilden.

Schon früher haben wir die Immobilisierung von Proteinen und Enzymen in und an Nanoröhren beschrieben.^[6] Kohlenstoff-Nanoröhren mit ihrer genau definierten Struktur, ihrer defektfreien Oberfläche und ihrer tubulären Form könnten sich für Studien zur molekularen Erkennung, einschließlich der für die Entwicklung von Biosensoren wichtigen Biomolekül-Kohlenstoff-Wechselwirkungen, als nützlich erweisen.

Experimentelles

Chemikalien: Das iodierte Oligonukleotid I wurde von OSWEL DNA Service (University of Southampton) bezogen. *cis*-[PtCl₂(¹⁵NH₃)₂] wurde nach einem Standardverfahren [16] synthetisiert und mit 1.5 Moläquivalenten AgNO₃, 24 h umgesetzt. Anschließendes Abfiltrieren von AgCl ergab die Lösung aus *cis*-[Pt(H₂O)₂(¹⁵NH₃)₂]²⁺ und *cis*-[PtCl(H₂O)(¹⁵NH₃)₂]⁺. Kohlenstoff-Nanoröhren wurden durch Verdampfen im Lichtbogen hergestellt [6]. Offene Röhren entstanden durch Suspendieren geschlossener Röhren in HNO₃ und Erhitzen unter Rückfluß (4 h) [8]. Die offenen Röhren wurden gründlich mit Wasser gewaschen, bei 100 °C an der Luft getrocknet und 4 h auf 700 °C erhitzt, um die meisten aciden Gruppen an der Oberfläche zu entfernen [7]. Die Immobilisierung erfolgte durch Mischen

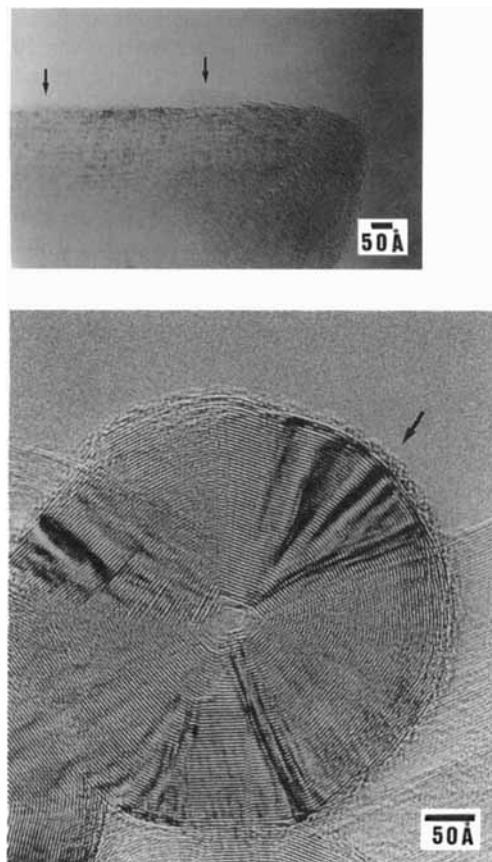


Abb. 3. TEM-Abbildungen geschlossener Nanoröhrchen nach der Umsetzung mit Pt-II. Oben: Seitenansicht; unten: Aufsicht. Die Pfeile kennzeichnen an der Oberfläche adsorbierte Schichten aus amorphem Material (DNA).

von 0.5 mL einer 0.5 mM Lösung von Pt-II (wie für die NMR-Spektroskopie verwendet) mit 2 mg der geschlossenen oder geöffneten Röhren. Von einer Ultraschallbehandlung wurde abgesehen, um die DNA nicht zu schädigen. Die Probe wurde normalerweise im Vakuum vorkonzentriert und ein kleiner Tropfen der Suspension auf ein mit einem durchlöcherten Kohlenstofffilm überzogenes Kupfergitter (400 mesh) gegeben. Röhren für Kontrollexperimente wurden ebenso, allerdings ohne Zugabe von Pt-II, behandelt.

Geräte: DNA-Proben wurden durch UV-, IR- und NMR-Spektroskopie sowie durch hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) charakterisiert. UV-Spektren wurden in 1 cm-Küvetten mit einem Perkin-Elmer-Lambda-16-Spektrometer und PTP-1-Peltier-Temperaturprogrammierer aufgenommen. NMR-Spektren wurden mit den Varian-Spektrometern UNITY-plus-500 oder UNITY-600 aufgezeichnet, die mit Modulen für gepulste Gradientenfelder ausgestattet waren. Chemische Verschiebungen der Protonensignale wurden auf TSP ($\text{Me}_3\text{Si}(\text{CD}_2)_2\text{CO}_2\text{Na}$, intern) bezogen, der Standard für ^{15}N -Spektren war 1.5 M NH_4Cl in 1 M HCl (extern). Die 2 D- $^1\text{H}, ^{15}\text{N}$ -HSQC-Spektren (optimiert auf $^1\text{J}(\text{N},\text{H}) = 72\text{ Hz}$) wurden wie bereits beschrieben [11, 12, 17] mit der von Stonehouse et al. verwendeten Sequenz [18] aufgenommen. Elektronenmikroskopische Aufnahmen wurden mit den hochauflösenden Mikroskopen JEOL-4000 EX und JEOL-2000 FX erhalten. Die Beschleunigungsspannungen betrugen in allen Fällen 200 kV. Die Mikroskope wurden bei optimalen Defokussierungsbedingungen betrieben. Um die Kontamination zu verringern, verwendeten wir kurze Belichtungszeiten ($<1\text{ min}$), eine niedrige Strahlenintensität sowie ein durch Kühlfallen mit flüssigem Stickstoff verbessertes Vakuum. Die Anwesenheit von Pt und I auf den mit Pt-II behandelten Nanoröhrchen wurde durch energiedispersive Röntgenanalyse (EDX) bestätigt.

UV-Untersuchungen der DNA-Adsorption: Offene oder geschlossene Nanoröhren (2 mg) wurden mit 1 mL einer 7 μ m Lösung des Duplex II in 0.1 M NaClO₄ bei Raumtemperatur unter gelegentlichem Umrühren 24 h inkubiert. Der Überstand wurde durch Ultrafiltration (Centricon, Amicon, Ausschlußvermögen: 30 kDa, 6 h bei 15 °C) abgetrennt. Nach Waschen der Nanoröhren mit 0.6 mL Wasser wurde die Trennung wiederholt. In einem Kontrollversuch zur Prüfung der DNA-Adsorption an den Membranfilter wurden die beschriebenen Trenn- und Waschgänge im Ultrafiltrierrörchen mit der DNA-Lösung ohne Nanorörchen durchgeführt. DNA-Konzentrationen wurden anhand der Absorption bei 260 nm bestimmt. Die Wiederfindung von DNA im Kontrollexperiment betrug >87%. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Röhren mit 0.1 M NaClO₄ gewaschen und anschließend UV-spektroskopisch Schmelzkurven der desorbierten DNA bestimmt.

Molecular Modelling: An einem Strang eines B-DNA-Modells wurde mit dem HyperChem-Programm [19], mit eingeschränkter Energieminimierung, ein zweizähniges Pt-Addukt konstruiert und anschließend Amminliganden in einer passenden geometrischen Anordnung „angedockt“. Das so entstandene Modell des bifunktionalen Addukts glich denen, die mit der Newton-Raphson-Energieminimierung und mit einem für Pt/DNA-Wechselwirkungen entwickelten Kraftfeld erhalten wurden [20]. Danach wurde in jede Cytosinbase in 5-Stellung ein Iodatom eingefügt.

Eingegangen am 3. Dezember 1996,
veränderte Fassung am 23. Mai 1997 [Z 9850]

Stichwörter: Elektronenmikroskopie · Immobilisierungen ·
Molekulare Erkennung · Nanoröhren · Oligonukleotide

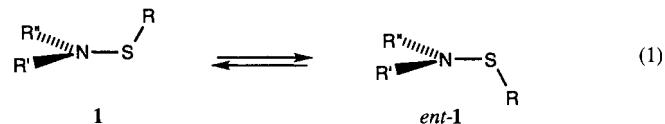
- [1] K. M. Millan, A. J. Spurmanis, S. R. Mikkelsen, *Electroanalysis* **1992**, *4*, 929–932.
 - [2] P. Pantano, W. G. Kuhn, *Electroanalysis* **1995**, *7*, 405–416.
 - [3] H. J. Dai, E. W. Wong, C. M. Lieber, *Science* **1996**, *272*, 523–526.
 - [4] S. Iijima, *Nature* **1991**, *354*, 56–58.
 - [5] T. W. Ebbesen, P. M. Ajayan, *Nature* **1992**, *358*, 220–222.
 - [6] S. C. Tsang, J. J. Davis, M. L. H. Green, H. A. O. Hill, Y. C. Leung, P. J. Sadler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1803–1804.
 - [7] R. M. Lago, S. C. Tsang, K. L. Lu, Y. K. Chen, M. L. H. Green, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1995**, 1355–1356.
 - [8] S. C. Tsang, Y. K. Chen, P. J. F. Harris, M. L. H. Green, *Nature* **1994**, *372*, 159–162.
 - [9] G. C. K. Roberts, *NMR of Macromolecules, a Practical Approach*, Oxford University Press, Oxford, **1993**.
 - [10] J. Reedijk, *Chem. Commun.* **1996**, 801–806.
 - [11] K. J. Barnham, S. J. Berners-Price, T. A. Frenkel, U. Frey, P. J. Sadler, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2040–2043; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1874–1877.
 - [12] S. J. Berners-Price, K. J. Barnham, U. Frey, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1283–1291.
 - [13] R. J. H. Clark, E. E. Hester, *Spectroscopy of Biological Systems*, Wiley, Chichester, **1986**.
 - [14] R. Henderson, *Q. Rev. Biophys.* **1995**, *28*, 171–193.
 - [15] Y. S. Melnikova, N. Kumazawa, K. Yoshikawa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *214*, 1040–1044.

- [16] S. J. S. Kerrison, P. J. Sadler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 861–863.
 - [17] S. J. Berners-Price, U. Frey, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8649–8659.
 - [18] J. Stonehouse, G. L. Shaw, J. Keeler, E. D. Laue, *J. Magn. Reson. Ser. A* **1994**, *104*, 174–184.
 - [19] HyperChem, Release 2 for Windows, Autodesk, Sausalito, CA, USA.
 - [20] T. W. Hambley, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 937–942.

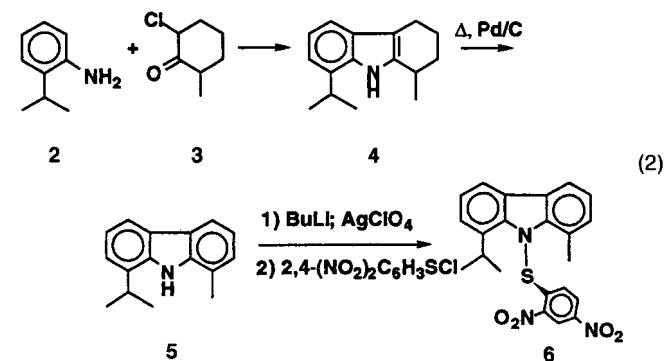
Die chirale S-N-Achse in Sulfenamiden: Enantiomerentrennung, direkter Nachweis der optischen Aktivität und Kinetik der Enantiomerenumwandlung**

Merav Ben-David Blanca, Eric Maimon und
Daniel Kost*

Sulfenamide **1** sind im Grundzustand chiral (für $R' \neq R''$), weil die R-S-N- und die gemittelte R'-N-R''-Ebene senkrecht zueinander stehen.^[1] Die Enantiomere werden ineinander (**1** \rightleftharpoons *ent*-**1**) durch Rotation um die S-N-Bindung umgewandelt [Gl. (1)], durch die eine stereolabile chirale Achse geht. Die Fak-



toren, die die Höhe der Rotationsbarriere beeinflussen, sind seit einiger Zeit bekannt:^[2] a) elektronenziehende Gruppen im Rest R am Schwefelatom und b) sterische Hinderung im Rotationsübergangszustand. In der Literatur sind Barrieren von 10 bis 22 kcal mol⁻¹ aufgeführt.^[1] Sulfenamide mit ausreichend hohen Barrieren zur Isolierung von Stereoisomeren bei Raumtemperatur wurden beschrieben, es wurde aber keine Auftrennung versucht.^[3, 4] Hier beschreiben wir die Herstellung des stereostabilen Sulfenamids **6** und den direkten Nachweis seiner Chiralität durch Enantiomerentrennung und Messung der Circulardichroismus(CD)-Spektren.^[5] Außerdem wird die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten der Racemisierung über einen großen Temperaturbereich beschrieben. **6** wurde gemäß Gleichung (2) hergestellt. Die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren bei



[*] Prof. Dr. D. Kost, M. Ben-David Blanca, E. Maimon
Department of Chemistry, Ben Gurion University of the Negev
P.O.B. 653, Beer-Sheva 84105 (Israel)
Telefax: Int. + 7/6472943
E-mail: kostd@bgu-mail.bgu.ac.il

[**] Wir danken Dr. Shulamit Levin für ihre Unterstützung bei der HPLC-Trennung, Frau Marina Sterin für die Messung der CD-Spektren und Frau Hadar Kost für die Lösung der Differentialgleichungen.