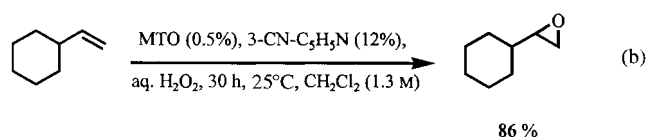


das Zwei-Phasen-System, wie von Herrmann et al. gezeigt, als außerordentlich nützlich.<sup>[10]</sup> Das für die Katalysatoraktivität schädliche Pyridinoxid löst sich zum größten Teil in der wäßrigen Phase, so daß fast nur das für Katalysatoraktivität und -selektivität entscheidende Pyridin als Ligand für MTO in der organischen Phase verbleibt. Sterisch anspruchsvollere Pyridine wie Picolin beschleunigen die Reaktion nicht.

Die Epoxidierung terminaler Olefine verläuft unter diesen Bedingungen noch schleppend (länger als 92 h). Schneller Umsatz kann durch Liganden-Tuning erreicht werden. Sterisch anspruchslose elektronenarme Pyridine wie 3-Cyanpyridin führen zu vollständiger Reaktion in weniger als 30 Stunden.<sup>[11]</sup> Die Elektronenarmut des Liganden scheint eine Koordination des Olefins zu erleichtern. Für sehr empfindliche Produkte, z.B. Styroloxid, muß noch Pyridin zugesetzt werden, um die Epoxidzersetzung zu verhindern [Gl. (b)].



Das neue, von Sharpless et al. beschriebene, Ligandenbeschleunigte katalytische System<sup>[12]</sup> bietet eine einfache, sichere, ökonomische und leicht durchzuführende Epoxidierungs-Reaktion, die zweifellos zahlreiche Anwendungen in der Synthese von Epoxiden aus Olefinen finden wird. Da

effiziente Verfahren zur Darstellung und zum Recycling von MTO durch Herrmann et al. entwickelt worden sind,<sup>[13]</sup> scheint die Methode besonders für Umsetzungen im großen Maßstab geeignet und durch Verwendung chiraler Pyridine auch enantioselektiv durchführbar.

**Stichwörter:** Chemoselektivität • Epoxidierungen • Homogene Katalyse • Rhenium

- [1] A. S. Rao in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 7 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming, G. Pattenden), Pergamon, Oxford, **1991**, S. 358–375.
- [2] T. Yamada, T. Takai, O. Rhode, T. Mukaiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, 2109–2117.
- [3] S. Inoki, T. Takai, T. Yamada, T. Mukaiyama, *Chem. Lett.* **1991**, 941–944.
- [4] a) W. Zhang, N. H. Lee, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 425–426; b) H. Sasaki, R. Irie, T. Katsuki, *Synlett* **1994**, 356.
- [5] W. A. Herrmann, R. W. Fischer, D. W. Marz, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1706–1709; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1157–1160.
- [6] W. A. Herrmann, R. W. Fischer, W. Scherer, M. U. Rauch, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1209–1212; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1638–1641.
- [7] W. A. Herrmann, R. W. Fischer, M. U. Rauch, W. Scherer, *J. Mol. Catal.* **1994**, 86, 243–266.
- [8] W. Adam, C. M. Mitchell, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 578–581, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 533–535.
- [9] J. Rudolph, K. L. Reddy, J. P. Chiang, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6189–6190.
- [10] W. A. Herrmann, H. Ding, R. M. Kratzer, F. E. Kühn, J. Haider, R. W. Fischer, *J. Organomet. Chem.* **1997**, im Druck.
- [11] C. Copéret, H. Adolfsson, K. B. Sharpless, *Chem. Commun.* **1997**, 1565–1566.
- [12] D. J. Berrisford, C. Bolm, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1159–1171, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1059–1070.
- [13] W. A. Herrmann, R. M. Kratzer, R. W. Fischer, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2767–2768; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, Nr. 23.

## Polyamide als künstliche Regulatoren der Genexpression

Klaus Weisz\*

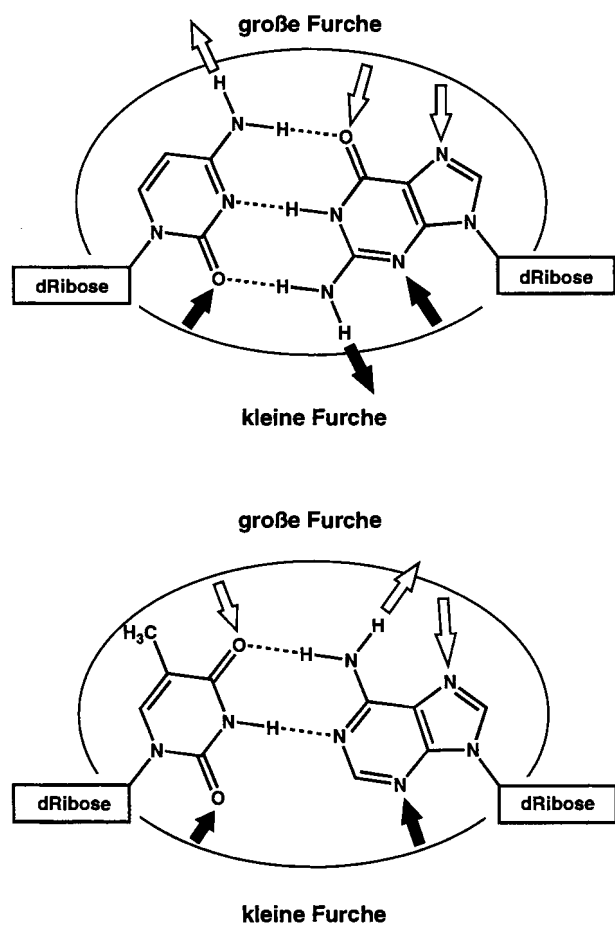
Die sequenzspezifische Erkennung von Nucleinsäuren ist Grundlage vielfältiger Steuerungsmechanismen in der lebenden Zelle. So wird die Genexpression in Organismen durch Proteine kontrolliert, welche spezifisch Nucleinsäuresequenzen erkennen und daran anbinden können. Aber auch viele natürliche, niedermolekulare Wirkstoffe können mit der DNA wechselwirken und dabei in genetische Mechanismen eingreifen. Die daraus erwachsende Möglichkeit, DNA-spezifische Liganden als neuartige molekularbiologische Werkzeuge oder Medikamente zur gezielten Kontrolle der Genexpression einzusetzen, hat zu großen Anstrengungen in der rationalen Entwicklung synthetischer DNA-bindender Verbindungen geführt. Sowohl die große als auch die kleine Furche einer DNA-Doppelhelix kann dabei als spezifische

Bindungsstelle für Liganden dienen. Jedes der vier Basenpaare weist eine charakteristische Anordnung an freien Wasserstoffdonor und -acceptorstellen auf, die eine Erkennung durch Bildung spezifischer Wasserstoffbrückenbindungen über beide Furchen ermöglicht (Schema 1). Allerdings läßt die fast symmetrische Anordnung der Thymin-O2- und Adenin-N3-Acceptorstelle eine Unterscheidung von AT- und TA-Basenpaaren in der kleinen Furche zumindest über H-Wechselwirkungen kaum zu.

Netropsin und Distamycin sind zwei natürliche Antibiotica, welche spezifisch an A/T-Sequenzen in der kleinen Furche einer DNA-Doppelhelix binden (Schema 2a,b).<sup>[1]</sup> Die konkave Form dieser Oligopeptide ermöglicht wegen der Komplementarität ihrer Struktur zum konvex geformten Boden der kleinen Furche maximale Wechselwirkungen mit der DNA, welche durch die für A/T-Sequenzen charakteristische enge Furche der Doppelhelix noch verstärkt werden. Zusätzlich zu elektrostatischen und van-der-Waals-Kräften tragen H-Brücken zwischen den Amidprotonen der Oligopeptide

[\*] Dr. K. Weisz

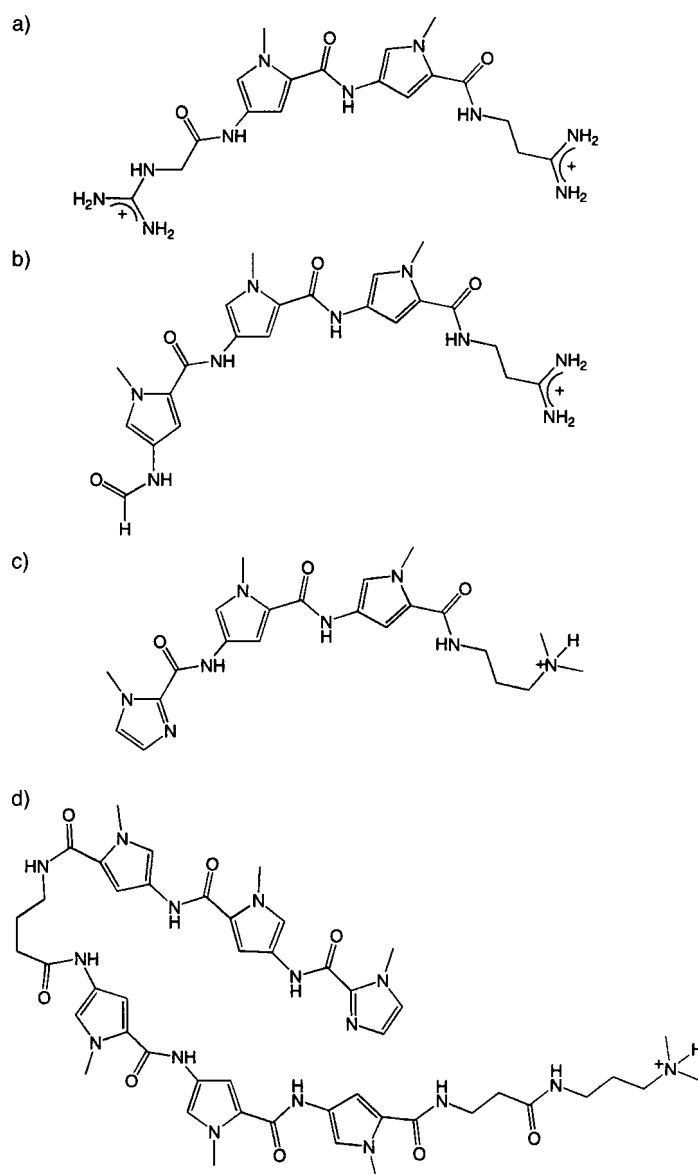
Institut für Organische Chemie der Freien Universität  
Takustraße 3, D-14195 Berlin  
Telefax: Int. + 30/838-5310  
E-mail: weisz@chemie.fu-berlin.de



Schema 1. GC- (oben) und AT-Basenpaar (unten). Freie Wasserstoffdonor- sowie -acceptorstellen in der großen und in der kleinen Furche von Doppelhelix-DNA sind durch weiße bzw. graue Pfeile gekennzeichnet.

und den Adenin-N3- sowie Thymin-O2-Acceptorstellen der Basenpaare zur Stabilität und A/T-Präferenz dieser Wirkstoffe bei. Als der am besten untersuchte, in der kleinen Furche von DNA bindende Ligand wurde Netropsin häufig als Leitstruktur in der rationalen Entwicklung synthetischer Wirkstoffe verwendet. Der Austausch einer oder beider Pyrrolringe in Netropsin gegen Imidazol war ein erster Versuch, die Erkennungssequenzen auf G/C-Basenpaare auszuweiten.<sup>[2]</sup> Die so gebildeten Netropsin-Analoga sollten spezifische Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Imidazolringstickstoffatom und der exocyclischen Aminogruppe von Guanin-Basen ermöglichen. Zwar wurden G/C-Basenpaare in der Bindungssequenz zunehmend toleriert, doch nahm insgesamt die Affinität und Spezifität solcher Liganden stark ab. Offensichtlich spielen H-Brücken in diesen Komplexen eine untergeordnete Rolle und die Abnahme anderer nichtkovalenter Wechselwirkungen in der erweiterten kleinen Furche von G/C-Abschnitten beeinträchtigt die effektive Bindung des Liganden.

Unerwartete NMR-Befunde von Pelton und Wemmer an Komplexen von Distamycin mit Doppelhelix-DNA markierten schließlich einen Wendepunkt auf der Suche nach Netropsin-Derivaten mit modifizierter Sequenzspezifität.<sup>[3]</sup> Bei höherer Konzentration von monokationischem Distamycin wurde festgestellt, daß zwei Moleküle des Wirkstoffs



Schema 2. Strukturen von DNA-bindenden natürlichen und synthetischen Polyamiden. a) Netropsin, b) Distamycin, c) 1-Methylimidazol-2-carboxamid-Netropsin, d) das Hairpin-Polyamid ImPyPy- $\gamma$ -PyPyPy- $\beta$ -Dp (Im = *N*-Methylimidazol, Py = *N*-Methylpyrrol,  $\gamma$  =  $\gamma$ -Aminobuttersäure,  $\beta$  =  $\beta$ -Alanin, Dp = *N,N*-Dimethylaminopropylamid).

gleichzeitig in der kleinen Furche des zentralen 5'-AAATT-3'-Segments einer DNA-Doppelhelix gebunden werden können. In diesen 2:1-Komplexen sind die beiden Liganden antiparallel zueinander gestapelt, wobei jedes Distamycin-Molekül vorwiegend zum naheliegenden DNA-Strang H-Brücken mit den Nucleobasen bildet. Durch Einlagerung eines Dimers in die kleine Furche wird diese aufgeweitet, so daß an Sequenzen mit verbreiterter Furche ein solches 2:1-Motiv bevorzugt sein sollte.

Der Durchbruch auf dem Weg zur Entwicklung von Netropsin-Analoga mit einem erweiterten Erkennungsrepertoire gelang schließlich den Arbeitsgruppen von Dervan und Wemmer. 1-Methylimidazol-2-Carboxamid-Netropsin (Schema 2c), ein synthetisches, monokationisches Tripeptid mit einem N-terminalen 1-Methyl-2-carboxamidimidazolrest und zwei *N*-Methyl-2-carboxamidpyrrol-Einheiten erkannte eine

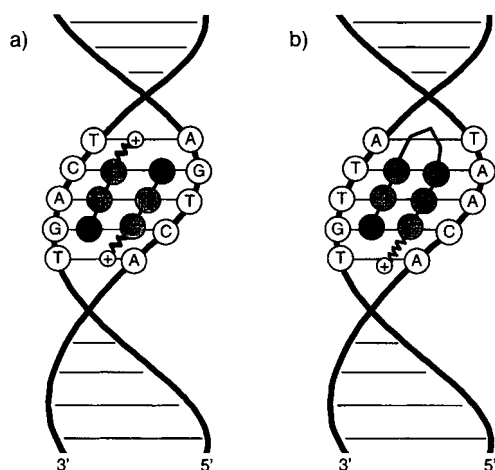
5'-TGACT-3'-Sequenz mit hoher Spezifität.<sup>[4]</sup> Strukturuntersuchungen ergaben die Bildung eines 2:1-Komplexes mit antiparalleler Anordnung der zwei Liganden in der kleinen Furche der DNA, wie sie schon für Distamycin bei hoher Konzentration festgestellt wurde (Schema 3a).<sup>[5]</sup> Als Überraschung erwies sich die spezifische Erkennung von GC- und CG-Basenpaaren, welche auf die erhoffte Wechselwirkung zwischen dem Imidazol-N3-Ringstickstoffatom und der vom Boden der kleinen Furche hervortretenden 2-Aminogruppe von Guanin zurückgeführt werden mußte. Offensichtlich war für die Unterscheidung von GC-, CG- und AT-Basenpaaren ein binärer Code bestehend aus zwei Polyamid-Einheiten notwendig: Ein Imidazolring gepaart mit einem Pyrrolring am zweiten Liganden des Dimermotivs erkennt ein GC-Basenpaar; die Kombination Pyrrol/Imidazol erkennt entsprechend ein CG- und die Kombination Pyrrol/Pyrrol sowie N- und C-terminale Alkylreste ein AT- oder TA-Basenpaar. Letztere sind vorwiegend entartet. Die ursprünglichen Netropsin-Analoga waren dagegen aufgrund ihrer dikationischen Struktur und der damit auftretenden Abstoßungskräfte nicht in der Lage, in einem solchen 2:1-Motiv zu binden. Die allgemeine Gültigkeit des 2:1-Erkennungscode konnte anschließend an mehreren kürzeren Sequenzen bestätigt werden.<sup>[6]</sup> Weitere Verbesserungen im Design von Pyrrol-Imidazol-Polyamiden gelangen in der Folgezeit Dervan und Mitarbeitern. Durch kovalente Verknüpfung zweier Polyamide über einen  $\gamma$ -Aminobuttersäure-Linker und Einführung eines C-terminalen  $\beta$ -Alaninrestes konnte einerseits eine deutlich höhere DNA-Affinität und Spezifität durch Bildung eines Hairpin-Motivs erzielt werden (Schema 2d und 3b), andererseits waren die Polyamide nun auch durch Festphasensynthesen in einfacherer Weise zugänglich.<sup>[7,8]</sup>

Die kürzlich veröffentlichte Arbeit von Gottesfeld et al. fügt der Erfolgsgeschichte der Pyrrol-Imidazol-Polyamide ein weiteres Kapitel hinzu.<sup>[9]</sup> Zum ersten Mal konnte gezeigt werden, daß Polyamide als künstliche Regulatoren gezielt in die Genexpression eukaryontischer Zellen eingreifen können. Ein gegen die Bindungsstelle des Transkriptionsfaktors TFIIIA in der kleinen Furche gerichtetes Polyamid mit acht

aromatischen Einheiten blockierte in spezifischer Weise die Transkription des 5S-RNA-Gens in *Xenopus*-Nierenzellen. Daraus kann geschlossen werden, daß Polyamide in die Zelle und den Kern gelangen und dort aufgrund ihrer höheren Affinität gegenüber der Zielsequenz Transkriptionsfaktoren wirksam verdrängen können.

Das Potential synthetischer Polyamide, als spezifische Genregulatoren zu wirken, kann allerdings trotz vielversprechender Ansätze noch nicht endgültig abgeschätzt werden. Die Mehrzahl der DNA-bindenden Proteine wechselwirkt mit Nucleobasen in deren großer Furche. Es bleibt deshalb zu klären, ob und wie in der kleinen Furche bindende Liganden die Protein-DNA-Erkennung und daraus resultierende Regulationsmechanismen wirksam in verschiedenen Zelltypen modulieren können. Auch bleibt abzuwarten, wie selektiv einzelne Gene durch synthetische Polyamide erkannt werden. Statistischen Überlegungen zufolge müssen abhängig von der Basenzusammensetzung ungefähr 17 Basenpaare gelesen werden, damit ein Ligand eine einzigartige Sequenz im menschlichen Genom erkennt.<sup>[10]</sup> Infolge der Entartung von AT- und TA-Basenpaaren im Imidazol/Pyrrol-Erkennungscode muß diese Zahl allerdings noch höher angesetzt werden. Gerade hier bestehen jedoch noch Einschränkungen bei Polyamidliganden. Die Affinität und Spezifität von Polyamiden mit mehr als fünf Ringen, d.h. mit Erkennungssequenzen von mehr als sieben Basenpaaren, nehmen gegenüber denen der Zielsequenz mit wachsender Zahl der Ringe kontinuierlich ab.<sup>[11]</sup> Dies kann darauf zurückgeführt werden, daß die Polyamidgeometrie nicht perfekt der Doppelhelix angepaßt ist und sich leichte Unregelmäßigkeiten mit zunehmender Länge der Bindungsstelle verstärken. Durch Verbrückung zweier Dreiring-Polyamid-Untereinheiten mit einem Spacer wie  $\beta$ -Alanin konnte jedoch die Erkennungssequenz eines solchermaßen verlängerten Liganden bis auf 13 Basenpaare ausgedehnt werden.<sup>[12]</sup> Allerdings treten neben dem 2:1-Bindungsmotiv mit vollständig überlappenden Polyamiden auch „Slipped“-Motive mit nur teilweise überlappenden Monomeren auf. Für die Zukunft wird es deshalb wichtig sein, Polyamide zu entwickeln, welche in eindeutiger und vorbestimmter Weise auch an längere Basensequenzen mit hoher Affinität und Spezifität binden.

Einsträngige „Anti-Gen“-Oligonucleotide binden anders als Polyamide in der großen Furche einer Doppelhelix unter Bildung einer Tripelhelix. Neuere Untersuchungen mit einem kovalent verknüpften Polyamid-Oligonucleotid-Konjugat haben ergeben, daß dieses bereits bei subnanomolaren Konzentrationen gleichzeitig an die große und kleine Furche binden kann.<sup>[13]</sup> Anti-Gen-Oligonucleotide, welche modular aus den gleichen Bausteinen wie die Doppelhelix selbst aufgebaut und damit optimal an das Zielmolekül angepaßt sind, kennen keine Einschränkungen bezüglich der Länge ihrer Zielsequenz. Die Erkennung ist allerdings vorwiegend auf AT- und GC-Basenpaare in Homopurinsequenzen beschränkt, da bislang kein effektiver Erkennungscode für TA- und CG-Basenpaare existiert. Die Kombination beider Bindungsmotive zu einem chimären Liganden kann deshalb nicht nur die Bindungsaffinität und Spezifität erheblich erhöhen, sondern sollte auch das Spektrum möglicher Zielsequenzen stark erweitern. Angesichts dieser Entwicklung im Design künst-



Schema 3. Modell der sequenzspezifischen Bindung von a) 1-Methylimidazol-2-carboxamid-Netropsin und b) ImPyPy- $\gamma$ -PyPyPy- $\beta$ -Dp in der kleinen Furche einer DNA-Doppelhelix. Graue und schwarze Kreise repräsentieren Pyrrol- bzw. Imidazol-Einheiten des Polyamids.

licher Regulatoren der Genexpression scheinen DNA-bindende Polyamide trotz einiger noch offener Fragen auf dem besten Weg in eine vielversprechende Zukunft.

**Stichwörter:** DNA-Erkennung • Genexpression • Nucleinsäuren • Polyamide

- [1] S. Neidle, *Biopolymers* **1997**, 44, 105–121.
- [2] J. W. Lown, K. Krowicki, U. G. Bhat, A. Skorobogaty, B. Ward, J. C. Dabrowiak, *Biochemistry* **1986**, 25, 7408–7416.
- [3] J. G. Pelton, D. E. Wemmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, 86, 5723–5727.
- [4] W. S. Wade, M. Mrksich, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 8783–8794.
- [5] M. Mrksich, W. S. Wade, T. J. Dwyer, B. H. Geierstanger, D. E. Wemmer, P. B. Dervan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 7586–7590.
- [6] B. H. Geierstanger, M. Mrksich, P. B. Dervan, D. E. Wemmer, *Science* **1994**, 266, 646–650.
- [7] J. W. Trauger, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Nature* **1996**, 382, 559–561.
- [8] a) E. E. Baird, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6141–6146; b) M. E. Parks, E. E. Baird, P. B. Dervan, *ibid.* **1996**, 118, 6147–6152; c) *ibid.* **1996**, 118, 6153–6159.
- [9] J. M. Gottesfeld, L. Neely, J. W. Trauger, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Nature* **1997**, 387, 202–205.
- [10] N. T. Thuong, C. Hélène, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 697–723; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 666–690.
- [11] J. J. Kelly, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 6981–6985.
- [12] J. W. Trauger, E. E. Baird, M. Mrksich, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6160–6166.
- [13] J. W. Szewczyk, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1596–1598; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1487–1489.

## ABONNIEREN STATT FOTOKOPIEREN

Zeitschriften-Beiträge sind mit Sachverstand und Sorgfalt aus dem großen Berg von Informationen ausgewählt, geschrieben, zusammengestellt...

... ergeben zielgerechte Informationen: Erfahrungen, die man kaufen kann.

Denn uns liegt daran, daß Sie als Leser mit erweitertem Wissen und vermehrten Einsichten gut gerüstet sind.

Dies ist in Gefahr, wenn Zeitschriftenaufsätze kopiert werden!

**Deutsche Fachpresse, Frankfurt am Main, Bonn**

Fotokopien werden nicht abonniert...

... und das bedeutet langfristig, daß Fachzeitschriften und wissenschaftlichen Zeitschriften die wirtschaftliche Basis entzogen wird.

... und außerdem: Sie als Leser sollen immer ein komplettes Heft in die Hand bekommen, damit Ihr Wissen nicht einseitig wird...

... und damit IHRE ZEITSCHRIFT auch künftig für Sie da ist.