

- [1] B. Meyer, *Chem. Rev.* **1976**, 76, 367–388.
- [2] R. Steudel in *The Chemistry of Inorganic Homo- and Heterocycles*, Vol. 2 (Hrsg.: I. Haiduc, D. B. Sowerby), Academic Press, London, **1987**, S. 737–768.
- [3] R. Steudel in *Studies in Inorganic Chemistry*, Vol. 5 (Hrsg.: A. Müller, B. Krebs), Elsevier, Amsterdam, **1984**, S. 3–37.
- [4] R. S. Laitinen, P. Pekonen, R. J. Suontamo, *Coord. Chem. Rev.* **1994**, 130, 1–62.
- [5] R. Steudel, *Chem. Unserer Zeit* **1996**, 5, 226–234.
- [6] R. Steudel, R. Strauss, L. Koch, *Angew. Chem.* **1985**, 97, 58–59; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, 24, 59–60.
- [7] M. Stolz, R. Winter, W. S. Howells, R. L. McGreevy, P. A. Egelstaff, *J. Phys.: Condens. Matter* **1994**, 6, 3619–3628.
- [8] D. M. Gardner, G. F. Fraenkel, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 3279–3288.
- [9] D. C. Koningsberger, T. DeNeef, *Chem. Phys. Lett.* **1970**, 4, 615–618.
- [10] F. H. Stillinger, T. A. Weber, R. A. LaViolette, *J. Chem. Phys.* **1986**, 85, 6460–6469.
- [11] R. Car, M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **1985**, 55, 2471–2474.
- [12] J. S. Tse, D. D. Klug, *Phys. Rev. B* **1999**, 59, 34–37.
- [13] F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **1998**, 109, 367–372; F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **1998**, 109, 373–384; R. Ludwig, F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **1999**, 110, 508–515.
- [14] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, T. A. Keith, G. A. Peterson, J. A. Montgomery, K. Raghavachari, M. A. Laham, V. G. Zakrzewski, J. V. Ortiz, J. B. Foresman, J. Cioslowski, B. Stefanov, A. Nanayakkara, M. Challacombe, C. Y. Peng, P. Y. Ayala, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, E. S. Replogle, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, J. S. Binkley, D. J. Defrees, J. Baker, J. J. P. Stewart, M. Head-Gordon, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian 94, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, **1995**.
- [15] M. W. Wong, *Chem. Phys. Lett.* **1996**, 256, 391–399.
- [16] N. C. Baird, *J. Comput. Chem.* **1984**, 5, 35–43.
- [17] K. Jug, R. Iffert, *THEOCHEM* **1989**, 186, 347–359.
- [18] R. S. Laitinen, B. Randolph, T. A. Pakkanen, *J. Comput. Chem.* **1987**, 8, 658–662.
- [19] D. Hohl, R. O. Jones, R. Car, M. Parrinello, *J. Chem. Phys.* **1988**, 89, 6823–6835.
- [20] K. Raghavachari, C. McMichael Rohlfing, J. S. Binkley, *J. Chem. Phys.* **1990**, 93, 5862–5873.
- [21] J. Cioslowski, A. Szarecka, D. Moncrieff, *J. Phys. Chem. A* **2001**, 105, 501–505.
- [22] R. Coppens, Y. W. Yang, R. H. Blessing, W. F. Cooper, F. K. Larsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 760–766.
- [23] R. Steudel, *Spectrochim. Acta Part A* **1975**, 31, 1065–1073.
- [24] R. Steudel, F. Schuster, *J. Mol. Struct.* **1978**, 44, 143–157.
- [25] R. Steudel, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1981**, 478, 156–176.
- [26] R. Steudel, O. Schumann, J. Buschmann, P. Luger, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1409–1410; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 2377–2378.
- [27] V. Pophristic, L. Goodman, *Nature* **2001**, 411, 565–568.
- [28] F. Weinhold, *Nature* **2001**, 411, 539–541.

## Zur Entwicklung eines DNA-ähnlichen Duplexes ohne wasserstoffverbrückte Basenpaare\*\*

Gérald Mathis und Jürg Hunziker\*

In jüngster Zeit wurde intensiv an der Entwicklung alternativer Basenpaare zur Erweiterung des genetischen Alphabets geforscht.<sup>[1–13]</sup> Erste Arbeiten basierten auf der systematischen Permutation der Anordnung von Wasserstoffbrückendonoren und -acceptoren der Pyrimidin- respektive Purinkerne.<sup>[1–3]</sup> In weiterführenden Studien wurde dieses Paradigma der Watson-Crick-Komplementarität vollständig aufgegeben.<sup>[4–9]</sup> Es konnte gezeigt werden, dass aromatische Reste ohne jegliche Wasserstoffbrückenfunktionen zumindest einen Teil der Ansprüche an ein replizierbares Basenpaar erfüllen können, nämlich eine genügende thermodynamische Stabilität des modifizierten Duplexes, Orthogonalität zu den natürlichen Nucleobasen und enzymatische Prozessierbarkeit. Solche unpolaren Basenpaar-Isostere werden durch hydrophobe Dispersionskräfte zusammengehalten, welche vorwiegend entlang der Helixachse wirken und weniger zwischen den Kontaktflächen gegenüberliegender Basenanaloga. In einem Versuch, die Basenpaarungskräfte senkrecht zur Helixachse zu orientieren, wurden chelatisierende Nucleoside entwickelt.<sup>[10–13]</sup> Allerdings dürften solche Metallvermittelten Basenpaare kaum enzymatisch replizierbar sein.

Auf der Suche nach alternativen Prinzipien für die Entwicklung von künstlichen Basenpaaren erregte die Wechselwirkung zwischen Benzol und Hexafluorbenzol unsere Aufmerksamkeit.<sup>[14–18]</sup> Die beiden bei Raumtemperatur flüssigen Verbindungen bilden ein festes Aggregat,<sup>[19,20]</sup> welches nicht nur durch  $\pi$ -Stapel alternierender Zusammensetzung, sondern auch durch die seitliche Alternanz von Benzol- und Hexafluorbenzolringen charakterisiert ist (Abbildung 1). Die inversen Quadrupolmomente von Benzol und Hexafluorbenzol führen also zu seitwärts gerichteten, anziehenden intermolekularen Kräften, welche in neuartigen Basenpaaren, wie jenem zwischen den C-Nucleosiden **1** und **2** (Schema 1) Verwendung finden könnten. An dieser Stelle möchten wir über die Synthese und die vielversprechenden Paarungseigenschaften von Oligonucleotiden, die **1** und **2** enthalten, berichten.

Die Synthese des Phenyl-2-desoxyribosids **2** und dessen Einbau in Oligonucleotide ist bereits in der Literatur beschrieben.<sup>[21]</sup> Das entsprechende Pentafluorphenyl-Derivat **1** ist neu und wurde ausgehend von 2-Desoxyribonolacton gemäß einer bereits publizierten Methode hergestellt (Schema 2).<sup>[22]</sup> Kommerziell erhältliches Brompentafluorbenzol wurde lithiiert und anschließend das silylgeschützte 2-Desoxyribonolacton **3**<sup>[22]</sup> zugegeben. Das resultierende Halbace-

[\*] Priv.-Doz. Dr. J. Hunziker, Dipl.-Chem. G. Mathis  
Departement für Chemie und Biochemie  
Universität Bern  
Freiestrasse 3, 3012 Bern (Schweiz)  
Fax: (+41) 31-631-8057  
E-mail: juerg.hunziker@ioc.unibe.ch

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch den Schweizerischen Nationalfonds (Projekt-Nr. 20-61730.00) finanziell unterstützt.

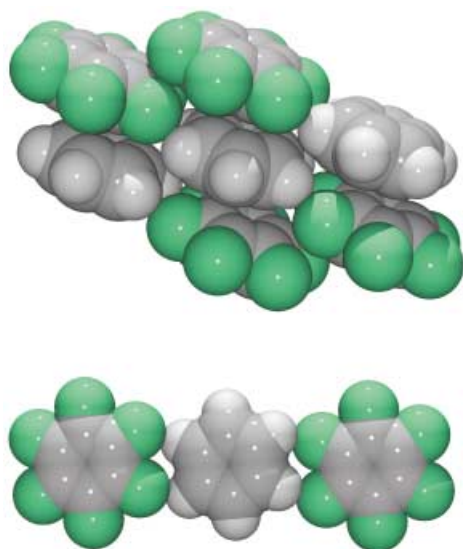
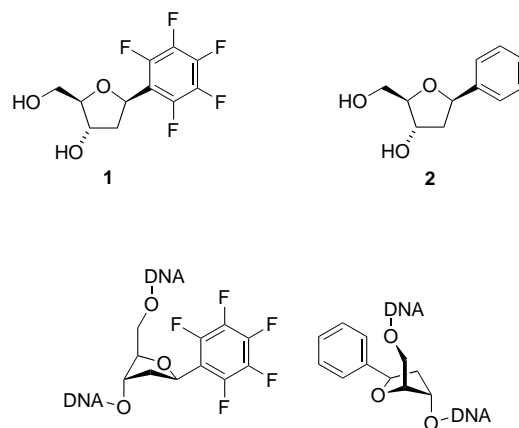


Abbildung 1. Details der Struktur des festen 1:1-Komplexes von Benzol und Hexafluorbenzol (grau: Kohlenstoff, weiß: Wasserstoff, grün: Fluor). Die Seitenansicht (oben) zeigt die  $\pi$ -Stapel mit alternierender Zusammensetzung. Die aromatischen Moleküle sind gegenüber der Stapelachse geneigt, was zu einer seitlichen Alternanz in der Ebene einzelner Benzol- oder Hexafluorbenzolköle führt (unten).

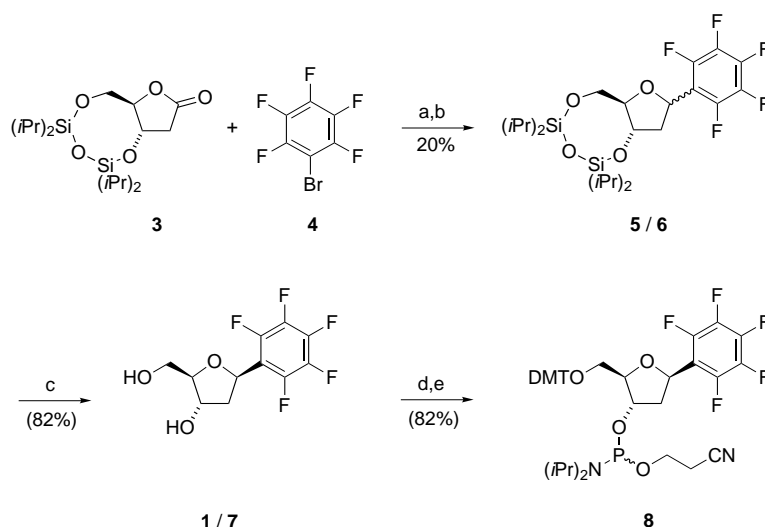
tal wurde in situ mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  reduziert, was in recht geringer Ausbeute ein 9:1-Gemisch der beiden Anomere **5** ( $\beta$ ) und **6** ( $\alpha$ ) ergab. Diese konnten nach dem Entschützen des Desoxyriboseteils und erneutem Schützen als 5'-Dimethoxytritylether chromatographisch voneinander getrennt werden. Auf dieser Stufe war auch eine eindeutige Zuordnung der Konfiguration der beiden Isomere durch  $^1\text{H-NMR-NOE-Experimente}$  möglich.<sup>[23]</sup> Der Pentafluorphenyl- $\beta$ -D-ribosid-Phosphoramidit **8** konnte dann durch Phosphitylierung unter Standardbedingungen erhalten werden.<sup>[24]</sup> Oligonucleotide mit den Bausteinen **1** und **2** (Tabellen 1 und 2) wurden mit einer üblichen Festphasen-DNA-Synthesemethode hergestellt.<sup>[24,25]</sup>

Ein einzelnes Pentafluorphenyl-Phenyl-Basenpaar ( $\text{F}^5\text{-P}$ ) im Zentrum eines 10-mer Duplexes führt zu einer starken Destabilisierung, was sich in der Abnahme der Schmelztemperatur  $T_m$  ausdrückt (Tabelle 1). Die Stabilität des neuen Basenpaares liegt zwischen derjenigen der relativ gut tolerierten Fehlpaarungen A-G und G-G, sowie des Wobble-Paares



Schema 1. Struktur der Pentafluorphenyl- ( $\text{F}^5$ , **1**) und Phenyl- $\beta$ -D-desoxyribose (**P**, **2**), welche zur Untersuchung der Stabilität von  $\text{F}^5\text{-P}$ -Basenpaaren in Oligonucleotidduplexen verwendet wurden.

G-T auf der einen Seite und allen anderen, stärker destabilisierenden Fehlpaaren zwischen natürlichen Basen auf der anderen Seite. Die Wechselwirkung zwischen der Phenyl- und der Pentafluorphenyleinheit ist stärker als jene mit den natürlichen Basen. Leider bestehen in diesem Sequenzkon-



Schema 2. a) 2.0 Äquiv. **4**, 1.8 Äquiv.  $\text{BuLi}$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 1 h, dann 1.0 Äquiv. **3** in  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 2.5 h; b)  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 12 h; c)  $\text{Bu}_4\text{NF}$ , THF, RT, 2 h; d) DMT-Cl,  $N,N$ -Dimethylaminopyridin, Pyridin, RT, 3 h; e)  $[(i\text{Pr})_2\text{N}(\text{NCCH}_2\text{CH}_2\text{O})\text{P}]\text{Cl}$ ,  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , THF, RT, 1 h. DMT = 4,4'-Dimethoxytrityl.

Tabelle 1. Aus UV-Schmelzexperimenten bestimmte  $T_m$ -Werte [ $^\circ\text{C}$ ] für den 10-mer DNA-Duplex **9** mit verschiedenen Basen in Position **X** und **Y**.<sup>[a]</sup>

		5'-CTGAXTCGAC-3'		3'-GACTYAGCTG-5'		<b>9</b>	
		A		T		d (CTGAXTCGAC)	
		G		C		F <sup>5</sup>	
		P					
d (GTCGAYTCAG)	A	29.0	<b>44.3</b>	36.2	28.1	25.0	25.1
	T	<b>45.0</b>	27.1	35.5	27.1	22.0	21.1
	G	35.6	36.1	38.9	<b>49.0</b>	25.0	23.0
	C	29.8	28.0	<b>50.0</b>	25.1	24.1	24.1
	F <sup>5</sup>	25.0	22.0	28.7	21.1	29.9	<b>30.6</b>
	P	25.1	21.0	27.2	17.6	<b>30.0</b>	30.0

[a] Duplexkonzentration: 4  $\mu\text{M}$ . Puffer: 10 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 150 mM  $\text{NaCl}$ , pH 7.0. Detektion bei 260 nm,  $T_m$  = Mittelwert aus drei Schmelzkurven, Aufheizgeschwindigkeit = 0.5  $\text{K min}^{-1}$ .

Tabelle 2. Aus UV-Schmelzexperimenten bestimmte  $T_m$ -Werte [°C] für die 10-mer Oligodesoxynucleotide **10–21** mit mehreren F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren.<sup>[a]</sup>

Oligonucleotide	$T_m$ [°C]	$\Delta T_m/\text{mod. [K]}$	Hyperchromie
d(CTGATATCAG) <b>10</b>	38.0	–	27 %
d(CTGAGCTCAG) <b>11</b>	48.5	+ 5.3	23 %
d(CTGAF <sup>5</sup> PTCAG) <b>12</b>	30.0 <sup>[b]</sup>	–4.0	14.5 %
d(CTGF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> PCAG) <b>13</b>	44.0	+ 1.5	8 %
d(CTGF <sup>5</sup> F <sup>5</sup> PPCAG) <b>14</b>	44.7 <sup>[b]</sup>	+ 1.7	8 %
d(CTGF <sup>5</sup> GF <sup>5</sup> GCAG) <b>15</b>	35.8	–1.1	6 %
d(CTGF <sup>5</sup> AF <sup>5</sup> ACAG) <b>16</b>	37.7	–0.2	6.5 %
d(CF <sup>5</sup> GPAF <sup>5</sup> CPG) <b>17</b>	– <sup>[c]</sup>	–	2.5 %
d(CTPF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> AG) <b>18</b>	– <sup>[d]</sup>	–	7.5 %
d(CTF <sup>5</sup> F <sup>5</sup> F <sup>5</sup> PPAG) <b>19</b>	– <sup>[d]</sup>	–	5 %
d(CF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> GCPF <sup>5</sup> PG) <b>20</b>	23.1 <sup>[b]</sup>	–2.5	9 %
d(CF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> PG) <b>21</b>	– <sup>[c]</sup>	–	–1 %

[a] Duplexkonzentration: 4  $\mu\text{M}$ . Puffer: 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM NaCl, pH 7.0. Detektion bei 260 nm,  $T_m$  = Mittelwert aus drei Schmelzkurven, Aufheizgeschwindigkeit = 0.5 K min<sup>–1</sup>. [b] Monomolekulare Haarnadelstruktur bei 4  $\mu\text{M}$ . [c] Kein Schmelzvorgang beobachtet. [d] Kein sigmoider (kooperativer) Schmelzvorgang.

text aber keine oder nur sehr geringe Unterschiede zwischen dem Basenpaar F<sup>5</sup>-P und den Selbstpaaren P-P und F<sup>5</sup>-F<sup>5</sup>.

Betrachtet man hingegen selbstkomplementäre 10-mer Duplexe mit mehreren F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren verändert sich das Bild drastisch. Mit zwei solchen Paaren im Zentrum (Duplex **12**<sub>2</sub>) resultiert immer noch eine thermodynamische Destabilisierung ( $\Delta T_m/\text{mod.}$  –4.0 K im Vergleich zu A-T, Tabelle 2), die aber erheblich geringer ausfällt als im Fall einer einzelnen Substitution ( $\Delta T_m/\text{mod.}$  –15 K). Führt man vier nacheinander folgende F<sup>5</sup>-P-Paare ein (**13**<sub>2</sub>), erhält man erstaunlicherweise einen Duplex, der stabiler ist als sein natürliches Pendant mit vier A-T-Basenpaaren ( $\Delta T_m/\text{mod.}$  +1.5 K). Diese günstige Wechselwirkung beschränkt sich in diesem System auf Phenyl- und Pentafluorphenylreste. Die Duplexe **15**<sub>2</sub> und **16**<sub>2</sub> mit vier F<sup>5</sup>-G- respektive F<sup>5</sup>-A-Paaren sind im Vergleich dazu eindeutig destabilisiert.

Die unterschiedlichen Duplexstabilitäten von Sequenzen mit einem, zwei oder vier aufeinander folgenden F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren könnten durch die veränderte Geometrie dieses künstlichen Basenpaares verursacht sein. Für einen optimalen Kontakt zwischen gegenüberliegenden Phenyl- und Pentafluorresten sollte die Distanz zwischen den beiden Zucker-Phosphat-Rückgraten vermutlich kleiner ausfallen als die 11 Å bei einem kanonischen Pyrimidin-Purin-Basenpaar. Das DNA-Rückgrat kann sich der Verkürzung erst anpassen, wenn mehrere F<sup>5</sup>-P-Paare hintereinander auftreten.<sup>[26]</sup>

Die Bestimmung der thermischen Stabilität von 10-mer Duplexen mit mehr als vier F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren ist aus technischen Gründen nicht mehr möglich: die UV-Absorption der C-Nucleoside **1** und **2** ist im Wellenlängenbereich der Schmelzpunktexperimente extrem schwach. Im Wesentlichen wird nur die Entstapelung der natürlichen Basen detektiert, wie man aus dem Abfall der Hyperchromie der Duplexe **12**<sub>2</sub> (14.5 %, Tabelle 2), **13**<sub>2</sub> (8 %), **18**<sub>2</sub> (7.5 %) und **21**<sub>2</sub> (–1 %) erkennen kann. Daneben zeigt der Duplex **18**<sub>2</sub> mit sechs F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren

keinen sigmoiden Kurvenverlauf, der normalerweise einen kooperativen Übergang charakterisiert.

Die Stärke und Ausrichtung der Wechselwirkung zwischen Phenyl- und Pentafluorphenylresten zeigt sich in Schmelzpunktexperimenten bei wechselnder Duplexkonzentration, die darüber hinaus auch die thermodynamischen Parameter der Duplexbildung liefern (Tabelle 3). Ein einzelnes F<sup>5</sup>-P-Basenpaar im Duplex d(CTGAPTTCGAC)-d(GTCGAF<sup>5</sup>T-CAG) (**24–25**) führt zu einer Verringerung der Paarungsenthalpie im Vergleich zum unmodifizierten Referenzduplex, welche nicht durch eine vorteilhaftere Paarungsentropie ausgeglichen werden kann. Anders verhält sich der selbstkomplementäre Duplex d(CTGF<sup>5</sup>PF<sup>5</sup>PCAG)<sub>2</sub> (**13**)<sub>2</sub>. Die im Vergleich zur Referenzduplex d(CTGATATCAG)<sub>2</sub> (**10**)<sub>2</sub> beinahe 40 % größere Enthalpie der Duplexbildung in diesem System kann sehr wahrscheinlich den außerordentlich starken Stapelungswechselwirkungen zwischen alternierenden Phenyl- und Pentafluorphenyl-, „Basen“ zugeschrieben werden. Unterstützung für diese Annahme bieten die folgenden Beobachtungen. Das Oligonucleotid d(CTGF<sup>5</sup>PF<sup>5</sup>PCAG) **13** bildet lediglich oberhalb einer Konzentration von 3  $\mu\text{M}$  einen Duplex, unterhalb dieser Schwelle überwiegt ein monomolekularer Komplex – vermutlich eine Haarnadelstruktur (Abbildung 2). Im Unterschied dazu bevorzugt die Sequenz d(CTGF<sup>5</sup>F<sup>5</sup>PPCAG) **14**, wie auch d(CTGAF<sup>5</sup>PTCAG) **12**,

Tabelle 3. Thermodynamische Daten von 10-mer DNA-Duplexen mit F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren sowie den entsprechenden Referenzproben.<sup>[a]</sup>

Oligonucleotide	$\Delta H^\circ$ [kcal mol <sup>–1</sup> ]	$\Delta S^\circ$ [cal mol <sup>–1</sup> K]	$\Delta G^\circ$ (25 °C) [kcal mol <sup>–1</sup> ]
d(CTGAATCGAC)- d(GTCGATTCAG) <b>22–23</b>	–77.6	–213	–13.8
d(CTGAPTTCGAC)- d(GTCGAF <sup>5</sup> TCAG) <b>24–25</b>	–61.5	–175	–9.1
d(CTGATATCAG) <sub>2</sub> ( <b>10</b> ) <sub>2</sub>	–67.5	–192	–10.1
d(CTGAGCTCAG) <sub>2</sub> ( <b>11</b> ) <sub>2</sub>	–82.3	–231	–13.3
d(CTGF <sup>5</sup> PF <sup>5</sup> PCAG) <sub>2</sub> ( <b>13</b> ) <sub>2</sub>	–94.3	–273	–13.0

[a] Duplexkonzentration: 1–32  $\mu\text{M}$ . Puffer: 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM NaCl, pH 7.0.

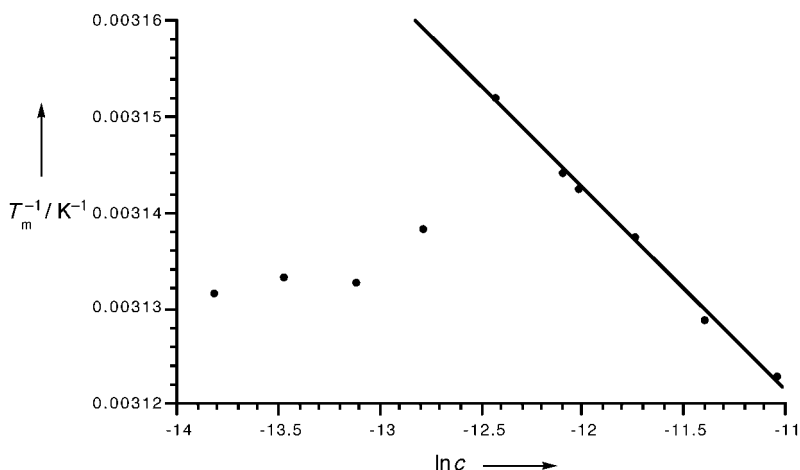


Abbildung 2. Van't-Hoff-Auftragungen  $1/T_m$  gegen  $\ln c$  ( $c$  in  $\text{mol L}^{-1}$ ) für das Oligonucleotid d(CTGF<sup>5</sup>PF<sup>5</sup>PCAG) **13**. Sequenz **13** mit vier alternierenden F<sup>5</sup>-P-Basenpaaren in der Mitte bildet oberhalb einer Konzentration von 3  $\mu\text{M}$  einen Duplex (abfallende Region, lineare Regression eingezeichnet). Dagegen bilden die Oligonucleotide d(CTGAF<sup>5</sup>PTCAG) **12** und d(CTGF<sup>5</sup>F<sup>5</sup>PPCAG) **14** erst bei viel höherer Konzentration einen Duplex.

eine monomolekulare Struktur mit konstantem  $T_m$  bis hin zu viel höheren Konzentrationen ( $> 10 \mu\text{M}$ ). Der alternierende  $\text{F}^5\text{-P-F}^5\text{-P}$ -Stapel, welcher in **12** und **14** kürzer ist oder fehlt, versteift im Fall von **13** die Mitte des Oligonucleotids.<sup>[27]</sup> Der Einfluss der intramolekularen Stapelungswechselwirkung zwischen Phenyl- und Pentafluorphenylresten auf die Duplexstabilität ist also größer als die seitliche, intermolekulare Komponente. Dies ist nicht weiter überraschend, wenn man sich die unterschiedliche Ausdehnung der Kontakte in den beiden Richtungen vor Augen hält.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass komplementäre Ladungsverteilung wie in den Phenyl- und Pentafluorphenyl-C-Nucleosiden **1** und **2** ein neuartiges Designprinzip für künstliche Basenpaare darstellt. Die Resultate dieser Studie unterstreichen ferner die Bedeutung intramolekularer Stapelungskräfte für die thermodynamische Stabilisierung von Oligonucleotidduplexen. Andererseits konnten intermolekulare Stapelwechselwirkungen kürzlich in einem Basenpaar, bestehend aus zwei Bipyridinresten, genutzt werden.<sup>[13]</sup> Eine Kombination dieser Eigenschaften könnte zu orthogonalen, nicht wasserstoffverbrückten, nicht form-komplementären Basenpaaren führen. Experimente in dieser Richtung, wie auch Versuche, das Pentafluorphenyl-Phenyl-Basenpaar mit Polymerasen zu replizieren, sind gegenwärtig im Gange.

Eingegangen am 18. Januar 2002 [Z18923]

- [1] J. A. Piccirilli, T. Krauch, S. E. Moroney, S. A. Benner, *Nature* **1990**, *343*, 33–37.
- [2] J. D. Bain, C. Switzer, A. R. Chamberlin, S. A. Benner, *Nature* **1992**, *356*, 537–539.
- [3] J. J. Voegel, S. A. Benner, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1863–1880; J. J. Voegel, S. A. Benner, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1881–1898.
- [4] T. J. Matray, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6191–6192.
- [5] R. S. Coleman, M. L. Madaras, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5700–5703.
- [6] K. M. Guckian, B. A. Schweitzer, R. X.-F. Ren, C. J. Sheils, D. C. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2213–2222.
- [7] M. Berger, A. K. Ogawa, D. L. McMinn, Y. Wu, P. G. Schultz, F. E. Romesberg, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3069–3071; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2940–2942.
- [8] E. Lee Tae, Y. Wu, G. Xia, P. G. Schultz, F. E. Romesberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7439–7440.
- [9] I. Singh, W. Hecker, A. K. Prasad, V. S. Parmar, O. Seitz, *Chem. Commun.* **2002**, 500–501.
- [10] M. Shionoya, K. Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, *73*, 1945–1954.
- [11] E. Meggers, P. L. Holland, W. B. Tolman, F. E. Romesberg, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10714–10715.
- [12] H. Weizman, Y. Tor, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3375–3376.
- [13] C. Brotschi, A. Häberli, C. J. Leumann, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3101–3103; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3012–3014.
- [14] F. Cozzi, F. Ponzini, R. Annunziata, M. Cinquini, J. S. Siegel, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1092–1094; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1019–1020.
- [15] R. E. Gaillard, J. F. Stoddart, A. J. P. White, B. J. Williams, D. J. Williams, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4504–4505.
- [16] G. W. Coates, A. R. Dunn, L. M. Henling, D. A. Dougherty, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 290–293; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 248–251.
- [17] F. Ponzini, R. Zagha, K. Hardcastle, J. S. Siegel, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2413–2415; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2323–2325.
- [18] C.-Y. Kim, P. P. Chandra, A. Jain, D. W. Christianson, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9620–9627.
- [19] C. R. Patrick, G. S. Prosser, *Nature* **1960**, *187*, 1021.
- [20] J. H. Williams, J. K. Cockcroft, A. N. Fitch, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1666–1669; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1655–1657.

- [21] T. A. Millican, G. A. Mock, M. A. Chauncey, T. P. Patel, M. A. W. Eaton, J. Gunning, S. D. Cutbush, S. Neidle, J. Mann, *Nucleic Acids Res.* **1984**, *12*, 7435–7453.
- [22] U. Wichai, S. Wosky, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1173–1176.
- [23] Das tritylierte Pentafluorphenyl- $\beta$ -D-desoxyribosid wurde unter sauren Bedingungen ( $\text{CHCl}_3\text{COOH}$ , Pyrrol,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 20 min) zu anomerenreinem **1** entschützt.  $^1\text{H-NMR-NOE}$  (400 MHz,  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ): Einstrahlen auf das Signal von H-C(1') (5.30 ppm) und H-C(4') (3.75 ppm) führt zur Verstärkung des Signals von H-C(4') bzw. H-C(1').
- [24] B. A. Conolly in *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach* (Hrsg.: F. Eckstein), Oxford University Press, Oxford, **1991**, S. 151–183.
- [25] Die Identität der synthetisierten Oligonucleotide wurde mit ESI-Massenspektrometrie überprüft.
- [26] Dieses Problem könnte durch Ersetzen des Phenylrestes in einem  $\text{F}^5\text{-P}$ -Basenpaar durch einen Naphthalin- oder Indolrest behoben werden. Experimente mit entsprechend modifizierten Oligonucleotiden sind derzeit im Gange.
- [27] Experimente mit den nicht-selbstkomplementären 10-mer Duplexen d(CTGF $^{\text{F}^5}$ PF $^5$ PGAC)-d(GTCF $^{\text{F}^5}$ PF $^5$ PCAG) und d(CTGF $^{\text{F}^5}$ F $^5$ F $^5$ GAC)-d(GTCPPPPCAG) brachten keinen Aufschluss, da diese einen Schmelzpunkt von unter  $10^\circ\text{C}$  aufweisen.


## Aktivität von Lipasen und Esterasen gegenüber tertiären Alkoholen: neue Einblicke in Struktur-Funktions-Beziehungen\*

Erik Henke, Jürgen Pleiss und Uwe T. Bornscheuer\*  
Professor Rolf D. Schmid zum 60. Geburtstag gewidmet

Hydrolytische Enzyme sind vielseitige Biokatalysatoren und finden zunehmend Anwendungen in der organischen Synthese.<sup>[1]</sup> Eine beträchtliche Zahl industrieller Verfahren unter Einsatz dieser Enzyme wurde bereits etabliert.<sup>[2]</sup> Innerhalb dieser Enzymklasse werden Lipasen (E.C. 3.1.1.3) und Carboxylesterasen (E.C. 3.1.1.1) häufig eingesetzt, da sie ein sehr breites Spektrum nicht natürlicher Substrate akzeptieren, üblicherweise in organischen Lösungsmitteln sehr stabil sind und gute bis ausgezeichnete Stereoselektivität zeigen. Der weitaus größte Teil der (chiralen) Substrate, die von

[\*] Prof. Dr. U. T. Bornscheuer, Dr. E. Henke  
Institut für Chemie & Biochemie  
Abt. Technische Chemie & Biotechnologie  
Universität Greifswald  
Soldmannstraße 16, 17487 Greifswald (Deutschland)  
Fax: (+49) 3834-86-4346  
E-mail: bornsche@uni-greifswald.de  
Dr. J. Pleiss  
Institut für Technische Biochemie  
Universität Stuttgart  
Allmandring 31  
70569 Stuttgart (Deutschland)

[\*\*] Wir danken Prof. R. D. Schmid (Institut für Technische Biochemie (ITB), Universität Stuttgart) für hilfreiche Diskussionen und Sandra Vorlová (ITB) für die Bereitstellung rekombinanter hAChE und bAChE. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziell unterstützt (Bo 1475/2-1).

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.