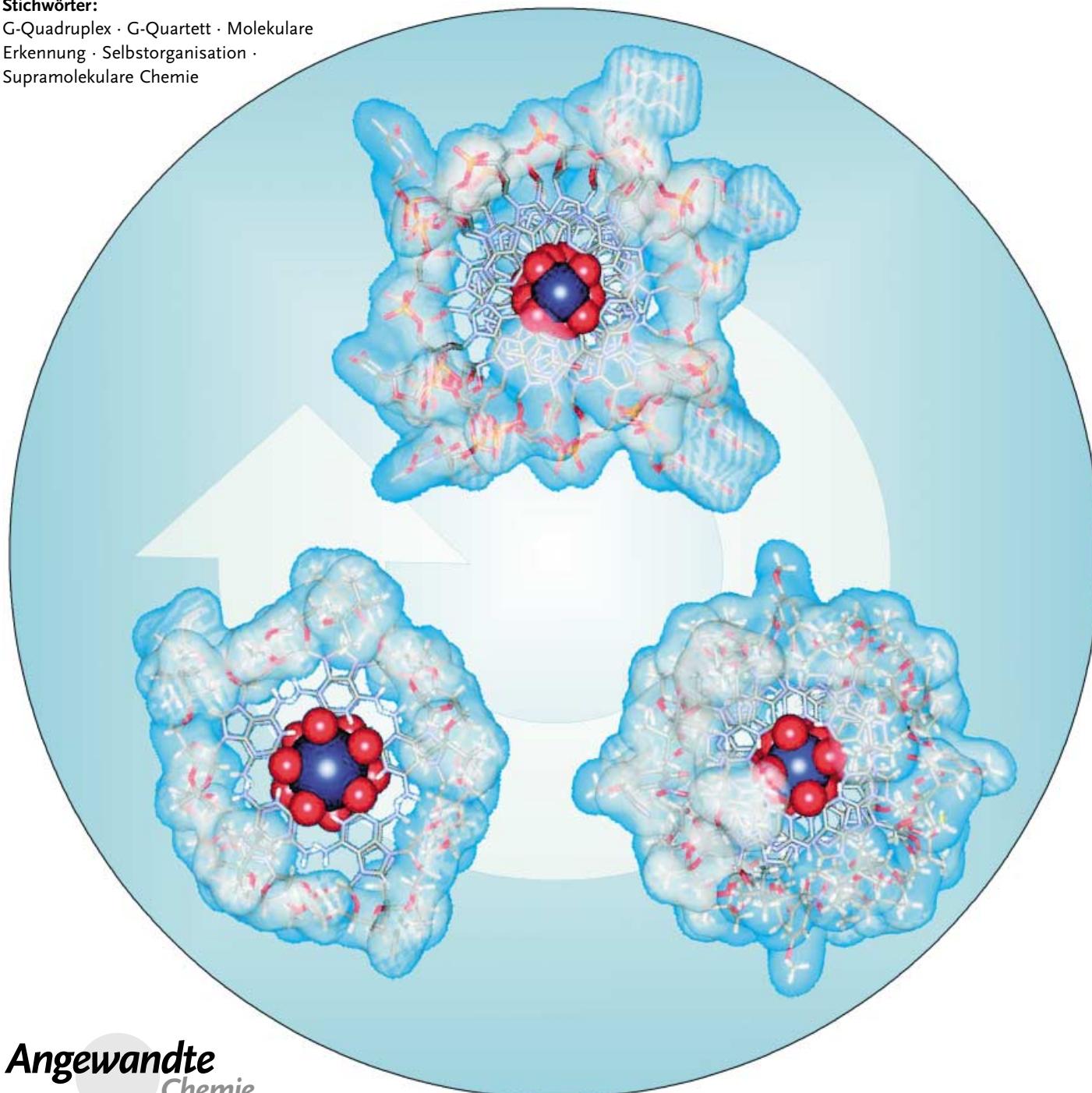


40 Jahre G-Quartetts: von 5'-GMP zur Molekularbiologie und Supramolekularen Chemie

Jeffery T. Davis*

Stichwörter:

G-Quadruplex · G-Quartett · Molekulare Erkennung · Selbstorganisation · Supramolekulare Chemie



Die molekulare Selbstorganisation spielt bei vielen Prozessen in der Biologie und der Supramolekularen Chemie eine zentrale Rolle. Das G-Quartett, ein durch Selbstorganisation von Guanosin an einem kationischen Templat gebildeter, wasserstoffverbrückter Makrocyclus, wurde erstmals 1962 als Basiseinheit der Aggregation von 5'-Guanosinmonophosphat nachgewiesen. Inzwischen weiß man, dass viele Nucleoside, Oligonukleotide und synthetische Derivate eine Vielzahl funktionaler G-Quartetts bilden. Das G-Quartett spielt in vielen Bereichen eine Rolle, angefangen von der Strukturbioologie und der Medizinischen Chemie bis zur Supramolekularen Chemie und Nanotechnologie. Dieser Aufsatz fasst die Ergebnisse aus den unterschiedlichen Gebieten zusammen, wobei der Schwerpunkt auf der Struktur, der Funktion und der molekularen Erkennung des G-Quartetts liegt.

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	685
2. Erste Studien zur Selbstorganisation von 5'-Guanosinmonophosphat	687
3. Nucleinsäure-G-Quadruplexe: Struktur und molekulare Erkennung	690
4. Lipophile G-Quadruplexe: Strukturmodelle für DNA, selbstorganisierte Ionophore und andere Strukturmotive	699
5. Selbstorganisation von Guanosin in Materialwissenschaft, Biosensor-Design und Nanotechnologie	707
6. Zusammenfassung und Ausblick	711

1. Einleitung

1990 veröffentlichten Guschlauer, Chantot und Thiele den Übersichtsartikel „Four-Stranded Nucleic Acid Structures 25 Years Later: From Guanosine Gels to Telomer DNA.“^[1] In diesem Paper wiesen die Autoren auf die aufkommende Bedeutung des G-Quartetts hin, eines 1962 erstmals nachgewiesenen wasserstoffverbrückten Ionophors (Abbildung 1).^[2] Ein erneuerter Interesse am G-Quartett Ende der 80er Jahre ging auf Vermutungen zurück, dass das Strukturmotiv, wenn es in der DNA gebildet wird, biologisch relevant sein könnte.^[3,4] Bis heute hält das Interesse an G-Quartettstrukturen unvermindert an. Tausende von Arbeiten über unterschiedliche Aspekte der Struktur und Wirkung von G-Quartetts sind mittlerweile erschienen, darunter einige ausgezeichnete Übersichten.^[5–14] G-Quartettstrukturen spielen heute in einer Vielzahl von Bereichen eine Rolle, angefangen von der Strukturbioologie und der Medizinischen Chemie bis hin zur Supramolekularen Chemie und Nanotechnologie.

Das G-Quartett, ein wasserstoffverbrückter, kationenbindender Komplex, lässt sich in hervorragender Weise in aktuellen Studien zur molekularen Selbstorganisation und nichtkovalenten Synthese nutzen.^[15–26] Die Arbeiten zur molekularen Selbstorganisation können in drei Bereiche unterteilt werden: 1) biomimetische Studien, 2) Grundlagenforschung zu nichtkovalenten Wechselwirkungen und 3) Synthese neuer Aggregate; die Zusammenhänge zwischen diesen Gebieten sind in Abbildung 2 dargestellt. Die molekulare Selbstorganisation ist ein Merkmal vieler natürlicher und synthetischer Systeme, und durch Beobachten der Natur erhält man oft gute Modelle für selbstorganisierte Systeme (Beziehung A in Abbildung 2).^[27] Ein Modell soll ein kompliziertes System vereinfachen, sodass es möglich ist, sich auf bestimmte, für die Selbstorganisation relevante Wechselwirkungen zu konzentrieren (B). Grundlegende Informationen

aus Modellstudien können dazu dienen, das ursprüngliche System besser zu verstehen (C) oder neue synthetische Systeme aufzubauen und anzuwenden (D–F).^[27,28] Wie im Folgenden ausgeführt wird, ist das G-Quartett ein ausgezeichnetes Modell, um etwas über die Grundlagen und den Nutzen der molekularen Selbstorganisation zu erfahren.

1.1. Ein einführendes Beispiel: Stabilisierung von lipophilen G-Quadruplexen durch nichtkovalente Wechselwirkungen

An einem Beispiel aus unserer Forschung werden einige wichtige Strukturmerkmale der G-Quartetts vorgestellt und die unterschiedlichen nichtkovalenten Wechselwirkungen beschrieben, die die Selbstorganisation von Guanosin steuern. In Gegenwart von kationischen Templayen bildet 5'-Silyl-2',3'-O-isopropylidenguanosin (G, **1**) einen lipophilen G-Quadruplex, der in unpolaren Lösungsmitteln stabil ist und außerdem Einkristalle mit weitreichender Ordnung liefert. Ein G-Quadruplex ist definiert als eine Struktur aus mehreren vertikal gestapelten G-Quartetts. In den letzten Jahren haben Fettinger et al. die Strukturen mehrerer lipphiler G-Quadruplexe im Kristall aufgeklärt.^[29–33] Der in Abbildung 3 gezeigte G-Quadruplex mit der Summenformel $[1]_{16} \cdot 3\text{K}^+\cdot\text{Cs}^+\cdot 4\text{pic}^-$ veranschaulicht das Synthesepotenzial der Selbstorganisation. Beim Mischen in einem organischen Lösungsmittel organisieren sich 24 Komponenten zu einem einzigen Diastereomer mit Abmessungen von $26 \times 30 \times 30 \text{ \AA}$ und einem Molekulargewicht von mehr als 8500.^[29] Zudem ist

[*] Prof. Dr. J. T. Davis
Department of Chemistry and Biochemistry
University of Maryland
College Park, MD 20742 (USA)
Fax: (+1) 301-314-9121
E-mail: jd140@umail.umd.edu

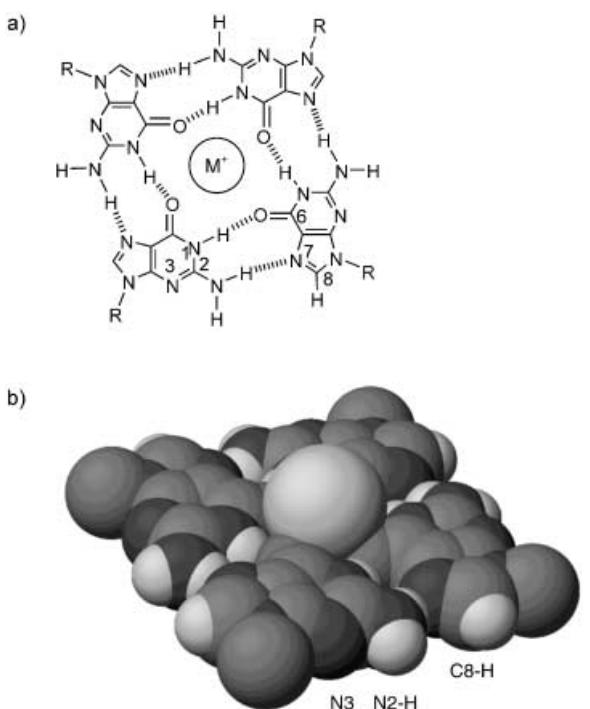


Abbildung 1. a) Das G-Quartett; b) Kalottenmodell der Struktur von $[I]_{16} \cdot 3K^+ \cdot Cs^+ \cdot 4pic^-$ im Kristall. Das K^+ -Ion befindet sich über der Ebene des G-Quartetts.^[29] Riboseeinheiten wurden der Übersicht wegen weggelassen.

der lipophile G-Quadruplex $[I]_{16} \cdot 4M^+ \cdot 4pic^-$ funktional: Er ist ein selbstorganisierter Ionophor, der Salze aus Wasser in organische Solventien extrahieren kann.

Die nichtkovalenten Wechselwirkungen, die die Bildung des G-Quadruplex bewirken, beeinflussen sich gegenseitig, dennoch lässt sich die Struktur in drei Organisationsstufen unterteilen (Abbildung 4). In der ersten Stufe nutzen vier G(1)-Moleküle selbstkomplementäre Wasserstoffbrücken zur Bildung eines planaren G-Quartetts. Die G-Quartetts werden in Stufe II mit 3.3 Å Abstand zwischen den Einzelschichten übereinander gestapelt. Zwischen zwei G-Quartetts befindet sich ein achtfach koordiniertes Kation, das mit acht Einzelmolekülen **1** Kation-Dipol-Wechselwirkungen eingeht, die wasserstoffverbrückten Quartetts stabilisiert und die Basenstapelwechselwirkungen verstärkt, sodass ein C_4 -symmetrisches G_8K^+ -Octamer entsteht. In Stufe III bilden vier Pikratanionen Wasserstoffbrücken zu Aminogruppen, die aus den G-Quartetts herausragen. Diese Wasserstoffbrücken zwischen der Nucleobase und dem Anion verknüpfen die beiden inneren G-Quartetts im D_4 -symmetrischen Hexadecamer $[I]_{16} \cdot 4M^+ \cdot 4pic^-$, einer im festen und im gelösten Zustand stabilen Struktur.^[29–32] Bemerkenswert an dieser Struktur sind unter anderem die vier in einem zentralen Kanal mit 3.3 Å Abstand linear angeordneten Kationen. Die zu erwartende elektrostatische Abstoßung zwischen den Kanalkationen wird durch die Sauerstoffatome und aromatischen Ringen der G-Quartetts verringert.

Die Selbstorganisation von **1** am kationischen Templat hat auch stereochemische Konsequenzen. Ein G-Quartett, in dem jede Nucleobase mit einem chiralen Zuckerrest verknüpft ist, hat zwei diastereotope Seiten: einen „Kopf“ und einen „Schwanz“ (Abbildung 5).^[34] Auf diese Weise übertragen die Nucleosidzuckerreste ihre Chiralität auf die supramolekulare Anordnung chiraler G-Quartetts und verstärken sie. Obwohl es bei einem vierseitigen G-Quadruplex 16 Stapelmöglichkeiten gibt, entsteht nur ein einziges Diastereomer von $[I]_{16} \cdot 4M^+ \cdot 4pic^-$.^[29] Diese Selektivität ist für das nichtkovalente Aggregat $[I]_{16} \cdot 4M^+ \cdot 4pic^-$ überraschend, denn anders als in DNA gibt es kein kovalentes Gerüst, das die G-Untereinheiten verknüpft und supramolekulare Helicität induziert. Unterschiedliche nichtkovalente Wechselwirkungen (Wasserstoffbrücken, Kation-Dipol- und Van-der-Waals-Wechselwirkungen) wirken zusammen, um die Struktur und die Konfiguration dieser lipophilen G-Quadruplex zu fixieren. Das Zusammenwirken nichtkovaler Kräfte ist ein charakteristisches Merkmal der Selbstorganisation von Guanosin in der Biologie und der Synthesekemie.

1.2. Die Themen

Nach dieser Einleitung geben wir in Abschnitt 2 einen Überblick über erste Untersuchungen zur Selbstorganisation von Guanosin. Diese Arbeiten bilden die Grundlage für spätere strukturbiologische und supramolekulare Studien. Abschnitt 3 behandelt G-Quadruplexe in der Molekularbiologie und der Medizinischen Chemie. Einen Schwerpunkt bilden dabei Arbeiten über Struktur und Erkennung, die als



Abbildung 2. Nichtkovalente Wechselwirkungen sind für die biologische Selbstorganisation wie für die Synthese neuer supramolekularer Strukturen von Bedeutung.



Jeff Davis, geboren und aufgewachsen in Massachusetts, erwarb seinen B.A. 1981 am Colby College in Waterville, Maine. Er promovierte 1987 am Massachusetts Institute of Technology bei Professor Satoru Masamune. Nach dreijähriger Tätigkeit bei Genzyme Co. in Boston wechselte er als NIH-Postdoc in die Arbeitsgruppe von Professor Brian Reid an der University of Washington in Seattle. Seit 1993 gehört er dem Department of Chemistry and Biochemistry an der University of Maryland in College Park an, 2003 wurde er zum Professor ernannt. Er beschäftigt sich mit Fragen der molekularen Selbstorganisation und der molekularen Erkennung.

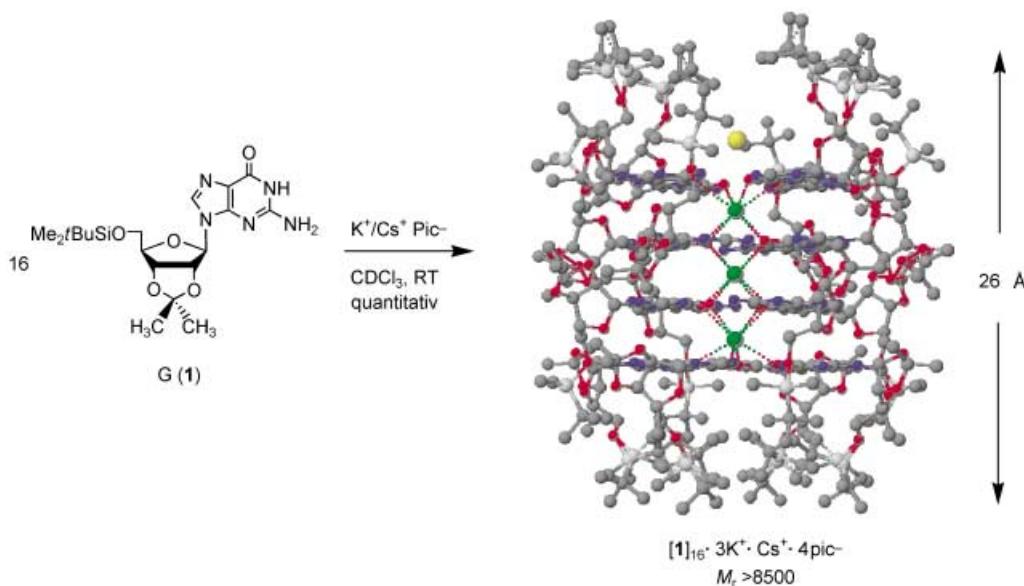
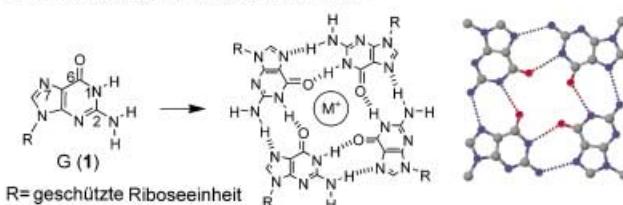
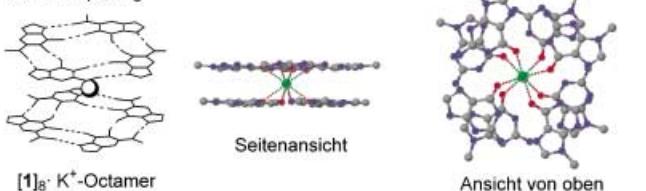


Abbildung 3. Die Selbstorganisation von 16 Äquivalenten 5'-Silyl-2',3'-O-isopropylidenguanosin (G, 1) an einem kationischen Templat liefert im festen und im gelösten Zustand den lipophilen G-Quadruplex $[1]_{16} \cdot 3\text{K}^+ \cdot \text{Cs}^+ \cdot 4\text{pic}^-$ (grün K, gelb Cs, blau N, rot O).^[29] Dieser G-Quadruplex aus vier gestapelten G-Quartetts entsteht quantitativ durch Extrahieren der Salze aus Wasser mit einer Lösung von 1 in CDCl_3 .

Stufe I. Wasserstoffverbrücktes G-Quartett



Stufe II. Bildung des $\text{G}_8 \cdot \text{M}^+$ -Octamers durch Kation-Dipol-Wechselwirkungen und π -Stapelung



Stufe III. Hexadecamerer G-Quadruplex mit Anion-Nucleobasen-Wasserstoffbrücken

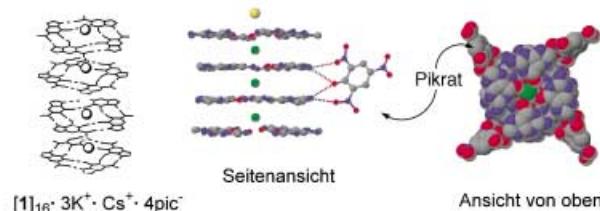
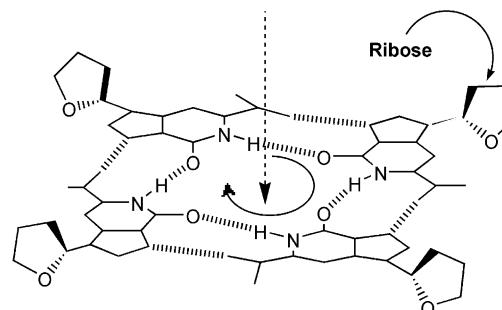


Abbildung 4. Darstellung der hierarchischen Selbstorganisationsprozesse, die zum lipophilen G-Quadruplex $[1]_{16} \cdot 3\text{K}^+ \cdot \text{Cs}^+ \cdot 4\text{pic}^-$ führen.^[29] Die Struktur wird durch Wasserstoffbrücken zwischen den Nukleobasen, Kation-Dipol-Wechselwirkungen, Stapelwechselwirkungen und Wasserstoffbrücken zwischen Nukleobasen und Anionen zusammengehalten. Riboseeinheiten wurden der Übersicht wegen weggelassen.

Anregung dienen können, sich nach natürlichen Vorbildern für die Selbstorganisation umzusehen. Abschnitt 4 gibt einen



H-Brücken zwischen NH und C=O sind im Uhrzeigersinn gerichtet

Abbildung 5. Das chirale G-Quartett hat wegen der gebundenen Zuckerreste diastereotope Seiten, d. h. einen „Kopf“ und einen „Schwanz“. Der „Kopf“ des G-Quartetts ist die Seite, in der die Wasserstoffbrücken von NH zu C=O im Uhrzeigersinn gerichtet sind.^[34]

Überblick über die Selbstorganisation lipphiler Nukleoside. Es werden Aggregate behandelt, die nicht nur als Modelle für die DNA-Struktur, sondern auch als Anregung für neuartige supramolekulare Formen und Funktionen dienen. In Abschnitt 5 werden Anwendungen von selbstorganisierte Guanosin in der Materialwissenschaft und der Nanotechnologie besprochen, Abschnitt 6 fasst die Ergebnisse zusammen und gibt einen Ausblick.

2. Erste Studien zur Selbstorganisation von 5'-Guanosinmonophosphat

Eine Selbstassoziation von Guanin tritt bei vielen Verfestigungsprozessen auf. Manche Spinnen haben als Guanozyten bezeichnete Zellen, die mit kristallinen Guaninplättchen gefüllt sind (Abbildung 6). Bei einer Störung ändern die

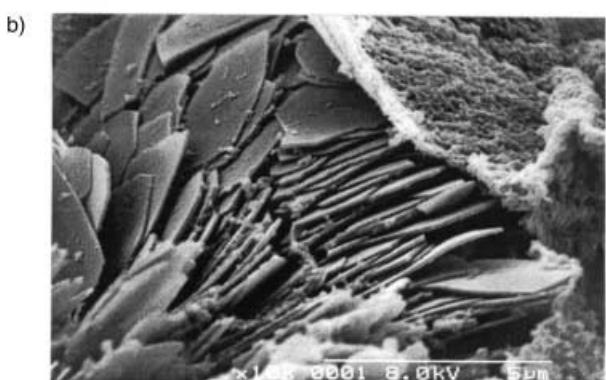
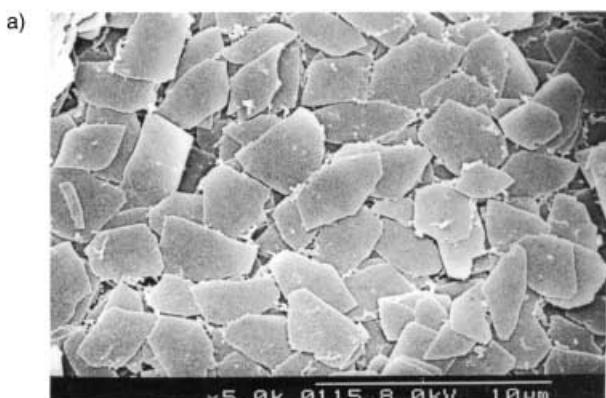
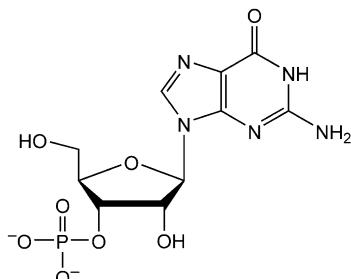


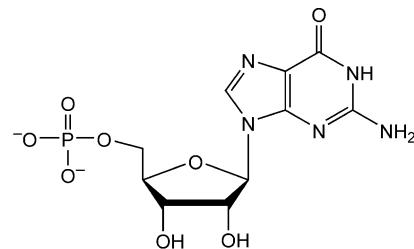
Abbildung 6. Kristalline Guaninabscheidungen aus der Spinne *Tetragnatha polychromata*.^[35b] a) Oberflächenansicht kristalliner Guaninplättchen (ca. $4 \times 2 \mu\text{m}$). b) In der Seitenansicht derselben Kristalle wird die Dünneheit und die Stapelung der Guaninplättchen erkennbar. Die Photographien wurden von Harriet Mitchell angefertigt.

Spinnen augenblicklich ihre Farbe, indem sie die Guanocyten von der Oberfläche zurückziehen.^[35] Die Augen bestimmter Tiefseefische enthalten geschichtete Guaninkristalle, die das Licht auf die Photorezeptoren fokussieren.^[36]

Im Labor sind Guanosinderivate bekanntermaßen schwer zu handhaben.^[37] Die Übersicht von Guschlbauer et al. führt 30 unterschiedliche G-Derivate auf, die in Wasser ein Gel bilden.^[1] Dass Guanosin eine Selbstorganisation eingeht, ist nicht überraschend: An den Kanten weist es selbstkomplementäre Wasserstoffbrücken-Donoren und -Acceptoren auf, und seine polarisierbare aromatische Oberfläche mit hohem Moleküldipolmoment^[38] ist zum Stapeln ideal geeignet. Dieses Selbstorganisationsvermögen wurde vor über 40 Jahren nachgewiesen, als Gellert et al. berichteten, dass 3'-GMP (**2**) und 5'-GMP (**3**) Schichten aus wasserstoffverbrückten Tetrameren bilden.^[2] Nach Faserbeugungsstudien wurde ein Modell entworfen, in dem die N1-H- und N2-H-Donoratome eines Guaninmoleküls mit den N7- und O6-Atomen des benachbarten Guaninmoleküls Paare bilden. Das resultierende G-Quartett ist ein ebener Makrocyclus, der von acht Wasserstoffbrücken zusammengehalten wird. Den Autoren zufolge bilden die im Abstand von 3.25 Å gestapelten G-Quartette eine Helix, was mit später erhaltenen Beugungsdaten von Guanosinanalogen und Polyguanylsäure in Einklang ist.^[39–41] Kurz nach der Publikation von Gellert et al. berichteten Fresco und Massoulie, dass auch Poly-



3'-GMP (**2**)



5'-GMP (**3**)

guanylsäure in Lösung eine mehrsträngige Helix bildet.^[42] Auch sie nahmen richtigerweise an, dass die Polyguanyltaggregate durch Stapelung der wasserstoffverbrückten G-Quartette stabilisiert werden.

In den 70er und 80er Jahren gab es bezüglich der Selbstorganisation von Guanosin zwei wichtige Entdeckungen: Erstens lieferte 5'-GMP (**3**) nicht immer Gele, sondern bildete bei basischem pH-Wert als Dianion kleinere Aggregate, die NMR-spektroskopisch untersucht werden konnten.^[43] Zweitens wurden diese Komplexe durch Alkalimetallkationen, besonders durch K^+ und Na^+ , stabilisiert.^[44] Die Bindung von Kationen ist begreiflich, da das Zentrum eines G-Quartetts vier dicht gedrängte Sauerstoffatome enthält. Ohne ein gebundenes Kation wäre diese cyclische Anordnung elektronisch ungünstig.^[45] Das Kation ist daher für das G-Quartett als Templat und zur Stabilisierung essenziell. Es wurde vermutet, dass diskrete, kationengebundene Octamere vom Typ G_8M^+ als Bausteine für längere Säulen aus gestapelten G-Quartetts dienen (Abbildung 7). Trotz abweichender Schlussfolgerungen bezüglich der Stöchiometrie und der Konfiguration^[46,47] stand fest, dass die Selbstorganisation von Guanosin auf G-Quartetts beruht. Durch dynamische Lichtstreuung, Einkristallstrukturanalyse, Elektrospray-Massenspektrometrie und Festkörper-NMR-Spektroskopie wurden die Grundzüge der Selbstorganisation von Guanosin bestätigt.^[48–53]

Diese ersten Arbeiten über G-Quartetts sind nach wie vor aktuell, denn sie betreffen zentrale Themen der heutigen Supramolekularen Chemie. Ein Beispiel ist die dynamische kombinatorische Chemie, eine wirkungsvolle Methode zur Erzeugung von molekularen Rezeptoren.^[54–57] Ergebnisse, wonach die Selbstassoziation von 5'-GMP (**3**) nur mit bestimmten Kationen erfolgt^[44] und G-C-Basenpaare bei

G-Quartetts

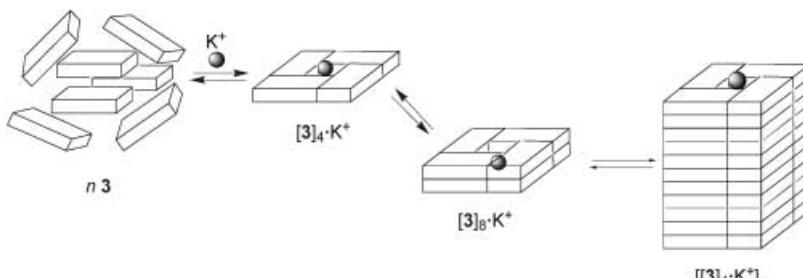


Abbildung 7. Gleichgewichte bei der Selbstassoziation von 5'-GMP (3). Ohne Kationen liefert 5'-GMP weitgehend undefinierte Aggregate. An kationischen Templatoren entstehen planare G-Quartetts, die diskrete $[3]_8 \cdot M^+$ -Octamere oder helicale G-Quadruplexstapel bilden können.

Zugabe von K^+ zugunsten der G-Quartettbildung getrennt werden,^[58] sind Beispiele für Gleichgewichtsverschiebungen als Basis einer dynamischen kombinatorischen Chemie. Während Li^+ und Cs^+ in Templatexperimenten keine Wirkung zeigten, entstanden durch Zugabe von Na^+ oder K^+ zu 5'-GMP Strukturen auf der Basis von G-Quartetts. Pinnavaia et al. erkannten die Bedeutung dieses Resultats: „*We believe this to be the first demonstration of the ability of alkali metal ions to direct structure formation of a nucleotide through a size-selective coordination mechanism.*“^[44] Da K^+ wegen seiner Größe nicht coplanar angeordnet sein kann, nahmen die Autoren an, dass es sich zwischen zwei G-Quartetts einfügt und ein $G_8 \cdot K^+$ -Octamer bildet. Der geschätzte K-O-Abstand in diesem Octamer entspricht den Bindungslängen in bekannten achtfach koordinierten K^+ -Komplexen. Die Autoren fassten dieses Schlüsselmerkmal zusammen: „*We suggest that cavity complexation as described contributes stability to the complex, and that it is a necessary condition for self-structure formation by neutral GMP.*“^[44] Kristallographische Strukturanalysen des lipophilen G-Quadruplex $[1]_{16} \cdot 3K^+/Cs^+ \cdot 4pic^-$ und des DNA-G-Quadruplex $[d(GGGGTTTGCGG)]_4$ ergaben später, dass K^+ sandwichartig von den G-Quartetts umschlossen wird.^[29,59,60]

Auch aus dem NMR-Spektrum des Aggregats ergaben sich Fragen bezüglich der supramolekularen Konfiguration, einem gegenwärtig intensiv erforschten Aspekt.^[61–63] Durch Stapelung zweier chiraler G-Quartetts können abhängig von der Stapelungsrichtung und der relativen Rotation um die Mittelachse mindestens sechs mögliche Diastereomere eines $G_8 \cdot M^+$ -Octamers entstehen.^[46] Die NMR-Spektren von 5'-GMP- Na^+ ließen jedoch nur zwei stabile Diastereomere erkennen und belegen damit die hohe Stereoselektivität dieses Selbstorganisationsprozesses.

Ein weiteres wichtiges Ergebnis betrifft die Stabilität des Aggregats gegen Dissoziation. In den 1H -NMR-Spektren von 5'-GMP- Na^+ waren die Signale für das Monomer und das Aggregat getrennt.^[43,44] Dieser langsame Austausch ist deshalb bemerkenswert, weil kinetisch derart stabile Systeme selten sind, besonders in Wasser. Normalerweise besteht zwischen wasserstoffverbrückten Aggregaten und ihren Komponenten ein rascher Austausch, der zu gemittelten NMR-Signalen führt. Die Selbstorganisation von 5'-GMP ist auch heute noch ein wichtiges Thema, denn die Herstellung diskreter nichtkovalerter Aggregate, die in Wasser thermo-

dynamisch und kinetisch stabil sind, ist nach wie vor eine Herausforderung.^[64–67]

Ein weiteres aktuelles Gebiet der Supramolekularen Chemie betrifft die Mechanismen der Aggregation und Disaggregation.^[68] Auch die frühen Arbeiten zu GMP beschäftigten sich mit diesen Fragen. Besonders aufschlussreich waren die Multikern-NMR-Untersuchungen von Laszlo, Detellier et al.^[47,69,70] So ließ das ^{23}Na -NMR-Spektrum erkennen, dass sich die Na^+ -Ionen 10^4 – 10^8 -mal pro Sekunde in das $[3]_8 \cdot Na^+$ -Octamer hinein- und wieder herausbewegen – ein um Größenordnungen schnellerer Prozess als der Ligandenaustausch.^[69] Die Aggregate müssen zur Freisetzung ihrer Gast-Ionen nicht vollständig dissoziieren, weshalb solche Systeme zur Vermittlung eines Kationenaustauschs von Nutzen sein könnten. Die 1H -NMR-Daten lieferten thermodynamische Konstanten für die Bildung des Octamers $[3]_8 \cdot K^+$ ($\Delta H = -17 \pm 2 \text{ kcal mol}^{-1}$ und $\Delta S = -51 \pm 6 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), die für einen enthalpischen Prozess sprechen: „*Self-assembly of the 5'-GMP nucleotides does not occur because of release of water. Self-assembly of 5'-GMP, unlike a normal stacking interaction is not determined predominantly by hydrophobic forces. Cation binding plays an important role, together with and reinforcing the hydrogen bonding of the guanines into planar tetramers.*“^[47]

Zu den aktiven Gebieten der Supramolekularen Chemie gehört schließlich auch die Selbstorganisation nichtkovalerter Aggregate, die in der Materialwissenschaft und der Nanotechnologie eine Rolle spielt.^[71] Ein interessantes Beispiel für diese Selbstaagggregation/Selbstorganisation ist das auf 5'-GMP (3) basierende G-Quartettsystem.^[72–74] Es wurde nachgewiesen, dass GMP-Oligomere – vom Mononucleotid 5'-GMP (3) bis zum d(GGGGG)-Hexanucleotid – in Wasser Flüssigkristalle bilden (Abbildung 8).^[72,73] Die CD- und Röntgenbeugungsdaten dieser Oligomere waren in Einklang mit der Bildung helicaler Stäbchen aus gestapelten G-

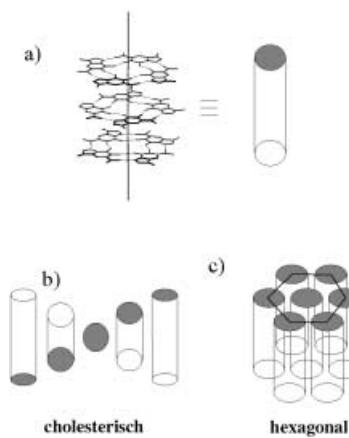


Abbildung 8. Bildung von Flüssigkristallen durch G-Derivate. a) G-Quartetts werden zu einer säulenartigen Struktur gestapelt. b) Relative Anordnung der G-Quartettsäulen in der cholesterischen Phase und c) in der hexagonalen flüssigkristallinen Phase. Wiedergabe in veränderter Form aus Lit. [7].

Quartetts. Mit zunehmender Konzentration bildete sich durch seitliche Assoziation der G-Säulen eine hexagonale flüssigkristalline Phase (Abbildung 8c). Dass selbstassoziierte G-Quadruplexe durch Selbstorganisation Flüssigkristalle mit weitreichender Ordnung bilden konnten, hatte Auswirkungen für spätere Anwendungen in der Materialwissenschaft und der Nanotechnologie (siehe Abschnitt 5).

Rückblickend wurden bereits in diesen ersten Arbeiten zur Selbstassoziation von 5'-GMP (3) viele Themen aufgegriffen, die auch in der aktuellen supramolekularen Forschung von Bedeutung sind, z.B. die Zusammenhänge zwischen Struktur und Stereochemie, Mechanismus und Funktion. Aber erst Ende der 80er Jahre setzte sich der Begriff G-Quartett wirklich durch, als man annahm, dass G-Quartetts biologisch wirksam sein könnten.^[3,4,75,76] So schlugen Sen und Gilbert vor, dass G-Quartetts an der Chromosomenassoziation während der Meiose beteiligt sind.^[75] Sundquist und Klug postulierten, dass der G-Quadruplex eine wichtige Sekundärstruktur ist, die biochemische Vorgänge in der Telomerregion des Chromosoms steuert.^[76] Was folgte, war eine explosionsartige Entwicklung der Forschung zu G-Quadruplexen.

3. Nucleinsäure-G-Quadruplex: Struktur und molekulare Erkennung

G-Quadruplexe werden *in vitro* von DNA- und RNA-Oligonukleotiden mit Sequenzen gebildet, die in chromosomalen Telomeren, Genpromoterregionen, an Rekombinationsorten, RNA-Packungsorten und RNA-Dimerisierungsdomänen vorkommen.^[12–14] Es gab eine langwierige Diskussion darüber, ob diese Strukturen in lebenden Zellen irgendwelche Aufgaben erfüllen. Viele Publikationen enthalten die Ankündigung, die Rolle der G-Quartetts *in vivo* werde nun bewiesen. Inzwischen mehren sich tatsächlich die Hinweise, dass DNA- und RNA-G-Quadruplexstrukturen *in vivo* von Bedeutung sind. So wird die häufigste Form der mentalen Retardierung, das Fragile-X-Syndrom, durch eine Mutation zum FMR-Protein (FMR = fragile X mental retardation) hervorgerufen, das Messenger-RNA transportiert. Einer Theorie zufolge tritt das Fragile-X-Syndrom auf, wenn die

Mutante FMRP mRNA nicht korrekt bindet.^[77] Darnell et al. entdeckten, dass FMRP besonders fest an G-Quadruplex-RNA bindet:^[78a] „(*T*)hese data demonstrate that G quartets serve as physiologically relevant targets for FMRP and identify mRNAs whose dysregulation may underlie human mental retardation.“ In einer zugehörigen Arbeit verwendeten Warren et al. Antikörper zur Isolierung von FMRP und seinen gebundenen RNAs aus Mäusehirn.^[78b] 70 % der mehreren hundert identifizierten mRNAs sollen einem Vorschlag zufolge einen RNA-G-Quadruplex bilden.

Weitere wichtige Entwicklungen folgten 2002, als Hurley et al. Struktur und Wirkung eines G-Quadruplex in vivo in einer Genpromoterregion in menschlichen Zellen nachwiesen.^[79] Dieser intramolekulare G-Quadruplex, bestehend aus einer Region von 20 bis 30 Basenpaaren, wurde als spezifisches Target für ein stabilisierendes kleines Molekül genutzt, das die Transkription des onkogenen c-myc-Proteins unterdrückt. Riou et al. entwickelten ein weiteres kleines Molekül zur Stabilisierung von G-Quadruplex-DNA, das die Telomerase-Aktivität in Tumorzellen vermindert.^[80] Berichte, wonach die Genexpression und die Enzymaktivität *in vivo* durch G-Quadruplex-Targets reguliert werden, sind sicherlich ein Anreiz für weitere Untersuchungen zur Charakterisierung und Steuerung dieser Nucleinsäurederivate.

3.1. Überblick über Oligonukleotid-G-Quadruplexstrukturen

Im vergangenen Jahrzehnt wurden viele NMR-Untersuchungen und eine Reihe von Kristallstrukturanalysen an G-Quadruplexen durchgeführt (siehe Tabelle 1); das Thema ist Gegenstand mehrerer Übersichtsartikel.^[8–10,13]

Oligonukleotid-G-Quadruplexe unterscheiden sich in der Zahl ihrer Ketten und deren Orientierung (Abbildung 9). Quadruplexe sind immer durch Kationen stabilisiert und können aus vier Einzelsträngen, aus zwei Strängen oder aus einem Einzelstrang gebildet werden. NMR-spektroskopisch wurde nachgewiesen, dass Oligonukleotide mit nur einer Sequenz aus G-Resten Quadruplexe aus vier Parallelsträngen bilden (Abbildung 9a).^[81,82] Abbildung 10 zeigt die Struktur von $[d(TGGGGT)]_4$ mit gebundenem Na^+ im Kristall.^[83,84] Zwei separate Helices mit je vier G-Quartetts sind zu einer

Tabelle 1: Röntgenkristallanalysen von G-Quadruplexstrukturen.

Struktur	Anmerkung	Jahr	PDB-Eintrag	Lit.
<i>Oxytricha d(G₄T₄G₄)₂</i>	K^+ -gebundener bimolekularer G-Quadruplex	1992	1D59	[91]
Thrombin bindendes Aptamer und Thrombin	Protein-DNA-Komplex	1993	1HUT	[129]
		1996	1HAP	[130]
d(TGGGGT) mit Na^+	parallel-viersträngiger G-Quadruplex	1994	244D	[83]
		1997	352D	[84]
$[\text{G}(1)]_{16}\cdot 3\text{K}^+/\text{Cs}^+\cdot 4\text{pic}$ $r(\text{UGGGGU})_4$ mit Sr^{2+}	erster lipophiler G-Quadruplex	2000		[29]
$d(\text{G}_4\text{T}_4\text{G}_4)_2$ und <i>Oxytricha</i> , Telomer bindendes Protein menschliche Telomer-DNA-Sequenzen	RNA-G-Quadruplex mit Basenoctade	2001	1J8G	[126]
	DNA-Protein-Komplex mit bimolekularem G-Quadruplex	2001	1JB7	[59]
	parallel-bimolekularer G-Quadruplex mit zurückgefalteten Schleifen	2002	1K8P	[95]
<i>Oxytricha d(G₄T₄G₄)₂</i>	K^+ -gebundener bimolekularer Quadruplex	2002	1JPQ 1JRN	[60]
<i>Oxytricha d(G₄T₄G₄)₂ mit 9 $d(\text{TGGGGT})_4$ mit Daunomycin-Trimer</i>	erster DNA-Quadruplex-Wirkstoff-Komplex	2003	1L1H	[190]
	DNA-Quadruplex-Wirkstoff-Komplex	2003	1OOK	[191]

G-Quartetts

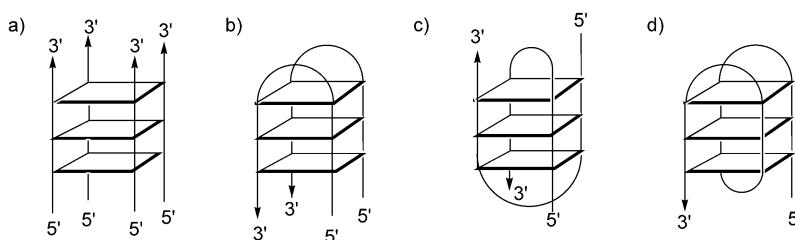


Abbildung 9. Strukturen von G-Quadruplex-DNA. a) Parallelstrang-Tetraplex; b) durch Haarnadel-Dimerisierung gebildeter bimolekularer Komplex mit „seitlichen“ Schleifen; c) bimolekularer Komplex mit „diagonalen“ Schleifen; d) monomolekularer G-Quadruplex.

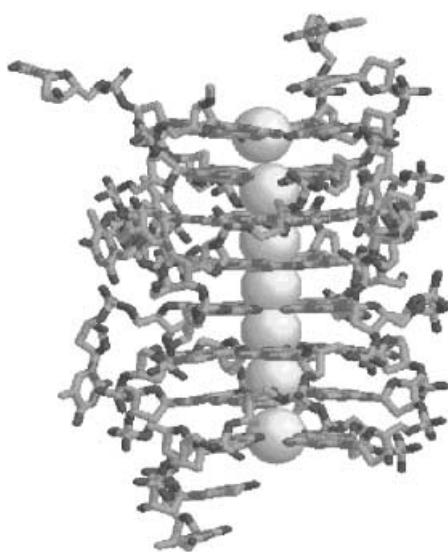


Abbildung 10. Struktur der Na^+ -Form des Parallelstrang-G-Quadruplex $[\text{d}(\text{TGGGGT})_4]$ im Kristall.^[84] Die sieben in einer Reihe angeordneten Na^+ -Ionen vermitteln den Eindruck eines Ionenkanals. PDB-Code der Struktur: 352D.

Säule aus acht G-Quartetts gestapelt, wobei die 5'-Enden in die gleiche Richtung weisen. Die viersträngige DNA mit sieben in einer Linie angeordneten Na^+ -Ionen sieht wie ein Ionenkanal aus und hat sehr große Ähnlichkeit mit dem lipophilen G-Quadruplex $[\text{I}]_{16}\cdot 3\text{K}^+\cdot \text{Cs}^+\cdot 4\text{pic}^-$ in den Abbildungen 3 und 4.^[29] In diesem parallelen DNA-Tetraplex werden die Na^+ -Ionen entweder sandwichartig von den G-Quartetts eingeschlossen oder sind coplanar mit einem G-Quartett.

Die elektrostatische Abstoßung zwischen derart dicht gepackten Kationen muss durch Koordination an die Sauerstoffatome des G-Quartetts verringert werden. Nach Ab-initio-Rechnungen findet ein Ladungstransfer von den Sauerstoffatomen des G-Quartetts auf das gebundene Kation statt.^[85] Anderen Rechnungen zufolge tragen die Carbonyl-Kation-Enthalpien stärker zur Stabilisierung bei als Wasserstoffbrücken oder Stapelwechselwirkungen.^[86] Außerdem deuten Moleküldynamiksimulationen darauf hin, dass G-Quadruplex-DNA nur mit gebundenem Na^+ stabil ist,^[87] während beim Entfernen der Kationen aus dem Kanal die Struktur zusammenbricht.

Ein Oligonucleotid mit zwei G-reichen Regionen kann zu einer Haarnadelstruktur gefaltet sein, die durch G-G-Hoogsteen-Paare zusammengehalten wird (Abbildung 9b,c). Die Dimerisierung der Haarnadelstrukturen liefert einen bimolekularen G-Quadruplex mit zwei Schleifen. Diese Schleifen können auf zwei Arten angeordnet sein, aus denen unterschiedliche Faltungen resultieren: „Kantenschleifen“ verknüpfen benachbarte anti-parallele Ketten, während „Diagonalschleifen“ den G-Quadruplex überkreuzen und antiparallele Ketten verbinden. Zu Beginn der 90er Jahre ergaben Untersuchungen der Telomerwiederholungseinheit $d(\text{G}_4\text{T}_4\text{G}_4)$ von *Oxytricha*, dass diese Sequenz mit unterschiedlichen Kationen unterschiedliche Strukturen annimmt.^[88] Das NMR-Spektrum in Lösung zeigte mit Na^+ einen bimolekularen G-Quadruplex mit Diagonalschleifen,^[89,90] während die K^+ -Form von $[\text{d}(\text{G}_4\text{T}_4\text{G}_4)]_2$ im Kristall Kantenschleifen aufwies.^[91] Die Signifikanz dieser Unterschiede wird allerdings durch neuere Kristallstrukturanalysen infrage gestellt, wonach die K^+ -Form von $[\text{d}(\text{G}_4\text{T}_4\text{G}_4)]_2$ im Kristall ebenfalls einen bimolekularen Quadruplex mit Diagonalschleifen bildet,^[59,60] der auch NMR-spektroskopisch in Lösung nachgewiesen wurde.^[92] Die Sekundärstruktur des G-Quadruplex kann als Templat für die Synthese anderer ungewöhnlicher DNA-Topologien verwendet werden. Beispielsweise nutzten Chan et al. die Form bimolekularer G-Quadruplexe, um eine Einzelstrang-DNA durch einen Phosphodiester zu verknüpfen und so ringförmige Oligonucleotide herzustellen (Abbildung 11).^[93]

Monomolekulare G-Quadruplexe mit drei Schleifen bilden sich aus einem Einzelstrang (Abbildung 9d).^[94] Dabei sorgen die Schleifen im Allgemeinen dafür, dass alle G-Quadruplexketten antiparallel sind. Eine noch andere Schleifengeometrie bei G-Quadruplexen entdeckte man durch Kristallstrukturanalysen von Oligonucleotiden, die die menschliche Telomersequenz $d(\text{TTAGGG})$ in der K^+ -gebundenen Form enthielt.^[95] Das 22-mer $d(\text{AGGG}-$

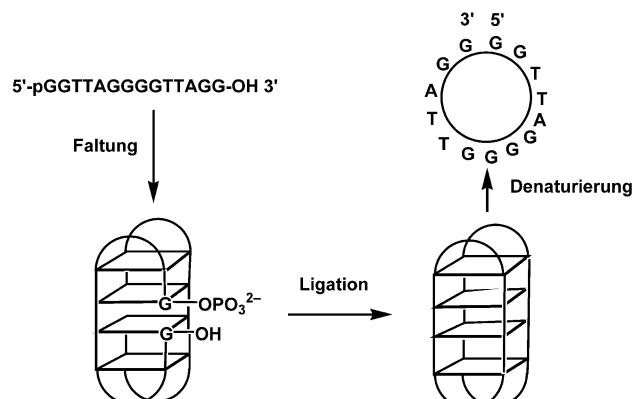


Abbildung 11. Synthese von cyclischen DNA-Oligonucleotiden mit einem bimolekularen G-Quadruplex als Templat.^[93] An die Kation-vermittelte Faltung des DNA-Einzelstrangs schließt sich eine chemische Verknüpfung und die Denaturierung zur ringförmigen DNA an.

(TTAGGG)₃) bildete einen intramolekularen G-Quadruplex, in dem alle drei TTA-Schleifen eine „doppelte Kettenumkehr“ erfahren, sodass ein monomolekularer G-Quadruplex mit vier parallelen Ketten entsteht. Diese TTA-Schleifen reichen weit aus dem G-Quartettkern heraus und sind daher potenzielle Proteinerkennungsorte (Abbildung 12). Diese Struktur mit ihren ausladenden Schleifen und dem exponierten G-Quadruplexkern verdeutlicht, wie unterschiedlich TTAGGG-Wiederholungseinheiten im Chromosom gepackt sein können.^[96]

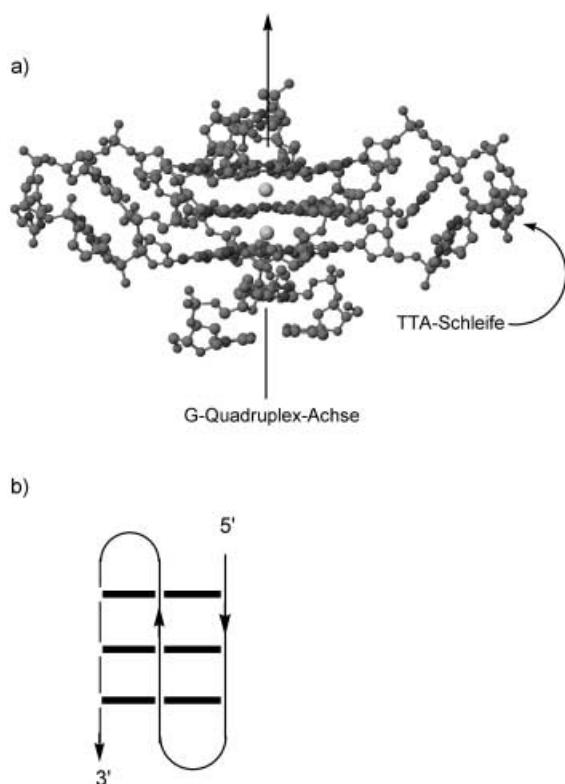


Abbildung 12. Struktur des Oligonukleotids d(AGGG(TAGGG)₃), das die menschliche Telomersequenz enthält, im Kristall.^[95] a) Die Seitenansicht des G-Quadruplex zeigt die großen TTA-Schleifen. b) Schematische Darstellung der „doppelten Kettenumkehr“ innerhalb der TTA-Schleifen. PDB-Code der Struktur: 1K8P.

G-Quadruplexe sind kationenabhängig und werden von Alkali- und Erdalkalikationen stabilisiert. Die größte Aufmerksamkeit galt den in der Zelle am häufigsten vorkommenden K⁺- und Na⁺-Ionen.^[97] Generell binden DNA/RNA-G-Quadruplexe bevorzugt K⁺ gegenüber Na⁺. Diese Selektivität wird oft auf die bessere Einpassung von K⁺ in den G₈-Octamerkäfig zurückgeführt. Ross und Hardin kamen aber zu dem Schluss, dass die K⁺/Na⁺-Selektivität des G₈-Octamers mit dem Prinzip der „optimalen Passform“ nicht vollständig erklärt werden kann, und postulierten die Bedeutung elektronischer Faktoren.^[98] Später belegten Hud et al., dass die K⁺/Na⁺-Selektivität hauptsächlich von den Hydrationsenergien des Kations bestimmt wird.^[99] Beide Kationen passen zwar zwischen die G-Quartette, K⁺ ist aber leichter zu

dehydratisieren. Rechnungen sprechen ebenfalls für das Argument der Ionendehydratation.^[100]

Neben Oligonukleotiden bilden auch Polymere mit modifizierten Grundgerüsten G-Quadruplexe. Peptidnucleinsäuren (PNAs) sind Nucleinsäure-Mimetika, in denen das geladene Grundgerüst durch ungeladene N-(2-Aminoethyl)-glycin-Linker ersetzt ist.^[101] Anders als bei DNA wird die Hybridisierung und Selbstassoziation neutraler PNA nicht durch die elektrostatische Abstoßung zwischen den Strängen destabilisiert. Komplementäre C-reiche PNA kann in intramolekulare G-Quadruplexe eindringen und diese entfalten.^[102–104] Kürzlich berichteten Armitage et al., dass G-reiche PNA auch direkt an viersträngigen Strukturen beteiligt sein kann.^[105] Durch CD-Messungen und Fluoreszenzresonanz-Energietransfer (FRET) konnten sie nachweisen, dass 1:1-Gemische homologer DNA- und PNA-Sequenzen zu einem stabilen PNA₂:DNA₂-Hybrid-G-Quadruplex aggregieren (Abbildung 13). Diese Ergebnisse erweitern den Anwendungsbereich von PNA in molekularen Erkennungsprozessen und sind auch ein Hinweis darauf, dass PNA als potenzielles, gegen G-Quadruplexe gerichtetes Therapeutikum Beachtung verdient.

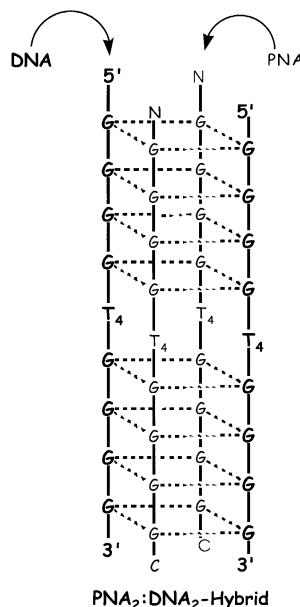
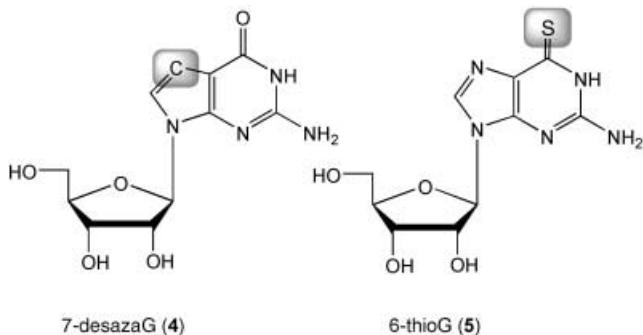


Abbildung 13. Strukturvorschlag für einen PNA₂:DNA₂-Hybrid-G-Quadruplex, in dem sich DNA- (fett) und PNA-Stränge diagonal gegenüber befinden.^[105]

Bisweilen bildet G-reiche DNA unerwünschte Sekundärstrukturen. Beispielsweise ist die DNA-Sequenzierung und die PCR-Vervielfältigung (PCR = Polymerase-Kettenreaktion) G-reicher Sequenzen aufgrund der umfangreichen Selbstassoziation oft problematisch. Um dies zu umgehen, wurden modifizierte Nucleobasen eingesetzt, die zwar Watson-Crick-G/C-Basenpaare bilden, aber nicht selbstassoziiieren können. Mizusawa et al. konnten nachweisen, dass 7-desazag (4) die genaue Nucleotidsequenzierung G-reicher

DNA ermöglicht.^[106] Später gelang Seela und Mersmann der Nachweis, dass der RNA-G-Quadruplex [r(UGGGGU)]₄ zerfällt, wenn G stufenweise durch 7-desazaG (**4**) ersetzt wird.^[107,108] Durch das fehlende N7-Atom von Guanosin entsteht demnach ein System, das keine stabilen G-Quadruplex bildet.



plex bildet. Auch bei Oligonucleotiden, die 6-thioG (**5**) enthalten, nimmt die Tendenz zur Bildung von G-Quadruplexen ab.^[109] Dieser Effekt könnte auf den erheblich größeren Van-der-Waals-Radius von Schwefel sowie dessen schwächer ausgeprägte Tendenz zur Bildung von Wasserstoffbrücken und zur Kationenbindung zurückzuführen sein. Moleküldynamikrechnungen für DNA mit 6-thioG (**5**) sprechen für die Annahme, dass ein Schwefelatom an C6 schlichtweg zu groß ist, um ein G-Quartett zu bilden.^[110]

3.2. G-Quartetts stabilisieren gestapelte Nucleobasen-Triaden und -Tetraden

Wie aus Abbildung 14 und Tabelle 2 hervorgeht, gibt es unterschiedliche Arten der Wechselwirkung zwischen Molekülen und G-Quadruplexen: durch faciale Erkennung, seit-

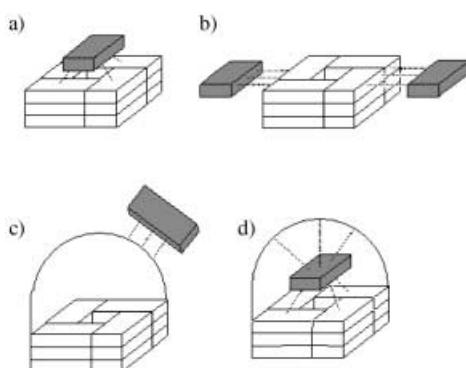


Abbildung 14. Beispiele für die Erkennung eines bimolekularen G-Quadruplex durch Moleküle. a) Faciale Erkennung durch Stapelwechselwirkungen entweder mit dem terminalen G-Quartett oder durch Intercalation zwischen G-Quartett-Schichten; b) Seitenerkennung über die exponierten N3-, N2-H- und C8-H-Atome des G-Quartetts; c) Bindung an einsträngige Schleifen des G-Quadruplexkerns; d) gleichzeitige terminale Stapelung und Wechselwirkung von Molekülen mit benachbarten Schleifen- oder Furchenregionen.

Tabelle 2: Molekulare Erkennung von G-Quadruplexen.

faciale Erkennung durch Stapelung:

- Nucleobasen-Triaden und -Tetraden
- aromatische Moleküle, Telomerase-Inhibitoren

Seitenerkennung durch Wasserstoffbrücken:

- Wasserstoffbrücken zu anderen Nucleobasen
- Proteinerkennung: seitliche Wechselwirkungen mit Aminosäuren
- Wasser-Nucleobase-Wechselwirkungen

Schleifenerkennung durch Wasserstoffbrücken und elektrostatische Wechselwirkungen:

- Proteinwechselwirkungen: elektrostatische Phosphat-Ammonium-Anziehung
- Niedermolekulare Verbindungen und Wasser

Furchenerkennung durch Wasserstoffbrückenbindung und elektrostatische Wechselwirkungen:

- Wasserwechselwirkungen über Hydrationsgrat
- Seitenketten von gestapelten aromatischen Molekülen

liche Erkennung, Schleifenerkennung oder durch gleichzeitige Bindung an die Oberfläche des G-Quartetts und eine benachbarte Schleife oder Furche.

In der Umgebung von Nucleinsäuren haben benachbarte Nucleobasen im Wesentlichen zwei Möglichkeiten, ein G-Quartett zu erkennen: durch Stapelung an dessen Oberfläche oder durch Wasserstoffbrückenbindung an eine exponierte Seite. Außerdem sind angrenzende Schleifen in bimolekularen oder monomolekularen G-Quadruplexen molekulare Erkennungsorte, besonders für Proteine und niedermolekulare Verbindungen.^[59] Biophysikalische Untersuchungen hatten gezeigt, dass das G-Quartett eine Plattform zur Stabilisierung von anderen wasserstoffverbrückten Strukturmotiven bietet.^[9] Nachweisen konnten dies erstmals Cheong und Moore mit [r(UG₄U)]₄.^[111] Aus dem NMR-Spektrum leiteten sie eine Struktur ab, in der ein wasserstoffverbrücktes U₄-Quartett auf den G-Quadruplex gestapelt ist. Nach Auf-fassung der Autoren ist die Bildung des U₄-Quartetts zurück-zuführen auf „...the special context provided at the end of a tetra G stack, not because it is an intrinsically stable structure.“^[111] Patel et al. nutzten das G-Quartett als Templat zur Bildung von Basentriplets und -quartetts^[112-116] und wiesen nach, dass diese wasserstoffverbrückten Anordnungen durch Stapelwechselwirkungen stabilisiert werden. Zum Bei-spiel dimerisiert das Dodecamer d(A₂G₂T₄A₂G₂) in Gegen-wart von Na⁺ zu einer Diamantstruktur mit symmetriever-wandten G-Quartetts im Zentrum.^[114] Charakteristisch für die Diamantstruktur ist die progressive Stapelung eines G-Quartetts, eines T-[A-A]-Basentriplets, eines Mismatch-Dimers und einer Einzelbase (Abbildung 15). Diese Arbeiten veranschaulichen die Fähigkeit des G-Quartetts, die struk-turelle Diversität von DNA zu erweitern. Solche ungewöhnlichen Strukturen dürften ausgezeichnete Kandidaten für die Bindung kleiner Moleküle oder Proteine sein.

Basentetraden wie U₄, T₄ und A₄ können die G-Quadruplexe überdachen.^[111,117,118] Auch stabile gemischte Tetraden mit mehr als einer Nucleobasenart bilden sich über dem G-Quartett. Patel et al. konnten nachweisen, dass d(GCGGT₃GCGG) in Lösung zu einem Quadruplex dime-

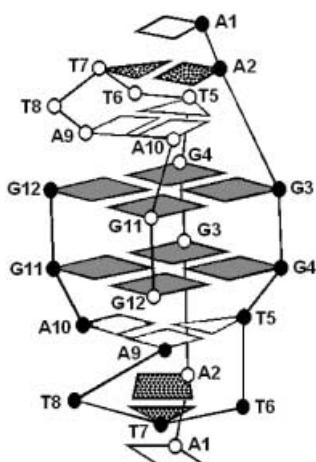


Abbildung 15. NMR-spektroskopisch abgeleitete Diamant-Struktur, die durch bimolekulare Assoziation des Oligonukleotids $d(A_2G_2T_4A_2G_2)$ in Gegenwart von Na^+ entsteht. Das G-Quartettzentrum dient als Plattform zur Stabilisierung benachbarter T-[A-A]-Basentriaden.^[114] Die T-Reste sind als Dreiecke, die G- und A-Reste als Rechtecke dargestellt.

risiert, in dem G:C:G:C-Tetraden über den G-Quartetts gestapelt sind.^[119] Diese gemischten G:C:G:C-Tetraden sind Dimere der Watson-Crick-G:C-Basenpaare, die abhängig von den Ionenbedingungen zwischen unterschiedlichen Anordnungen wechseln (Abbildung 16). NMR-Untersuchungen zufolge bildet $d(\text{GGGCT}_4\text{GGGC})$ in Na^+ -Lösung eine

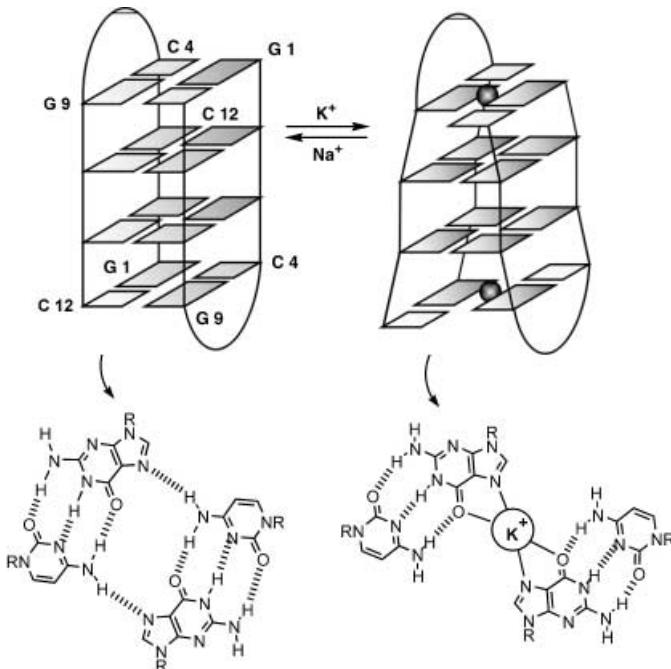


Abbildung 16. Konformationsänderung des aus $d(\text{GGGCT}_4\text{GGGC})$ gebildeten bimolekularen G-Quadruplex am kationischen Templat. In Na^+ -Lösung wird eine G:C:G:C-Tetraden mit genau entgegengesetzten G-C-Basenpaaren über ein G-Quartett gestapelt. Bei der K^+ -Komplexbildung durch N7 und O6 von Guanosin nehmen diese vier Basen eine „verschobene“ Anordnung der G-C-Paare ein.^[120–122] Unter den schematisch dargestellten Faltungen ist die Anordnung der G:C:G:C-Tetraden wiedergegeben.

G:C:G:C-Tetraden mit genau entgegengesetzten G-C-Basenpaaren.^[119] Bei Zugabe von K^+ verschiebt sich die Anordnung der G-C-Basenpaare, vermutlich weil die N7- und O6-Atome von Guanosin das Kation komplexieren.^[120] Diese K^+ -induzierte Umwandlung der „geschlossenen“ in eine „verschobene“ Form der G:C:G:C-Tetraden war durch Ab-initio- und Moleküldynamikrechnungen reproduzierbar.^[121,122] In beiden G:C:G:C-Anordnungen bestehen umfangreiche Überlappungen zwischen den aromatischen Oberflächen und dem angrenzenden G-Quartett. Die ausgedehnte Basenstapelung in Längsrichtung dieses G-Quadruplex stabilisiert zweifellos seine Faltung. Diese Untersuchungen belegen, dass DNA-Quadruplexe nicht ausschließlich aus G-Quartetts bestehen müssen. Zudem erhöht die Neigung G-reicher Sequenzen, als Templat bei der Bildung von Basentetraden und -triaden zu wirken, die strukturelle Vielfalt von DNA beträchtlich.

3.3. Molekulare Erkennung der G-Quartett-Seiten

Wasserstoffbrücken-Donoratome (N2-H und C8-H) und -Acceptoratome (N3) an den Außenseiten des G-Quartetts sind Stellen der molekularen Erkennung (siehe Abbildung 1b). Sie befinden sich am Boden einer in Längsrichtung des G-Quadruplex verlaufenden Furche und können Wasser, Ionen, Aminosäure-Seitenketten und andere Nucleobasen binden. Beispielsweise bilden einige G-Quartetts mit lokalem Adenin „verschobene“ G-A-Wasserstoffbrücken. NMR-spektroskopisch wurden Hexaden und Heptaden als Struktureinheiten nachgewiesen, in denen zwei oder drei Adenin-nucleobasen über Wasserstoffbrücken an ein einzelnes G-Quartett binden.^[123–126]

Bei der NMR-spektroskopischen Untersuchung von r(GGAGGUUUUGGAGG) stellten Uesugi et al. fest, dass sich ein RNA-Molekül zu einem Quadruplex faltet, der eine G:G:G:G-Tetraden und eine G:G:(A):G:G:(A)-Hexade enthält.^[125] Wie aus Abbildung 17 hervorgeht, vergrößert die Erweiterung des unteren G-Quartetts zu einer wasserstoffverbrückten Hexade auch die für Stapelwechselwirkungen verfügbare Oberfläche. In Lösung dimerisieren zwei r(GGAGGUUUUGGAGG)-Moleküle über diese Hexadenflächen. Die umfangreichen Wechselwirkungen durch Basenstapelung und Wasserstoffbrücken tragen zu der hohen thermodynamischen Stabilität dieses speziellen RNA-Quadruplex bei. Die höchste Basenexpansion wurde in der Struktur einer Sr^{2+} -gebundenen RNA im Kristall nachgewiesen: eine Octade, in der jede Base des G-Quartetts ein G:U-Paar bildet.^[126] Diese Arbeiten zeigen, dass die Erkennung über G-Quartett-Seiten bei der Nucleinsäurefaltung eine wichtige Rolle spielen kann.

3.4. Molekulare Erkennung von G-Quadruplexen durch Wasser

Kristallstrukturanalysen liefern eine Fülle von Informationen über die molekulare Erkennung von G-Quadruplexen.^[59,60,84] Aus diesen Strukturen geht insbesondere hervor, dass Wasser zur Aufrechterhaltung der strukturellen Integrität von DNA beiträgt. Ein G-Quadruplex hat an seiner

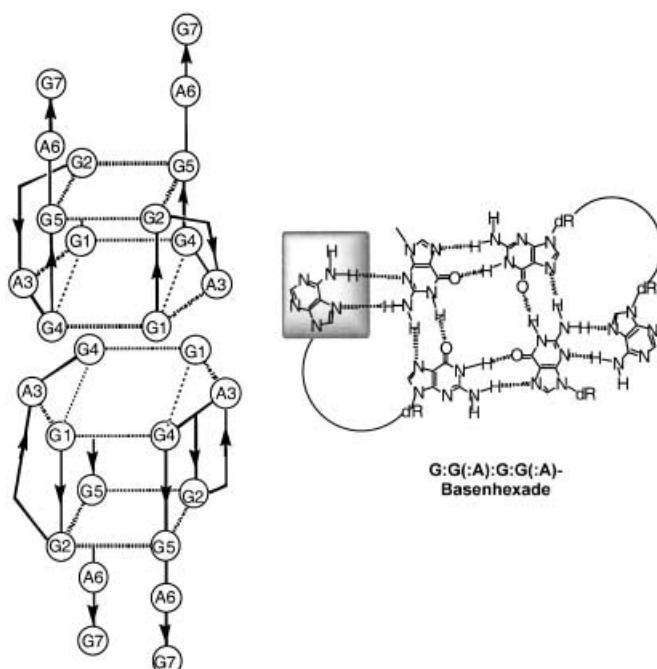


Abbildung 17. Seitenerkennung eines G-Quartetts durch Wasserstoffbrückenbindung benachbarter Adenineinheiten an die exponierte Quartettseite. Ein Molekül $r(\text{GGAGGUUUUGGAGG})$ faltet sich zu einem G-Quadruplex mit einer G:G:G:G-Tetrade und einer G:G(:A):G:G(:A)-Hexade. Zwei dieser RNA-Moleküle dimerisieren in Lösung über diese Hexadenfläche.^[125]

Oberfläche vier Furchen, deren Böden von den C8-H-, N2-H- und N3-Atomen gebildet werden. Über diesen Böden werden die Furchen auf beiden Seiten von Sauerstoffatomen der Phosphat- und Zuckerreste eingefasst. Alle diese Atome auf dem Boden und entlang der Seiten können mit Wassermolekülen bei einer Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten Wasserstoffbrücken bilden.^[59, 60, 84] So wiesen Horvath und Schultz nach, dass Wasserstoffbrücken mit C8-H bei der Hydratation der G-Quartettstruktur von *Oxytricha* eine wichtige Rolle spielen, denn von 25 gebundenen Wassermolekülen bildeten sieben Wasserstoffbrücken zum aromatischen C8-H.^[59] Zwischen den Wassermolekülen und den Guaninseiten sowie dem Zucker-Phosphat-Gerüst bestehen ausgedehnte Wechselwirkungen über Wasserstoffbrücken, die für wohlgeordnete Hydratationsgrade in den Furchen des G-Quadruplex sorgen. Abbildung 18 zeigt als Beispiel den Hydratationsgrat der $d(\text{TG}_4\text{T})_4$ -Struktur.^[84]

Neidle et al. haben in ihrer Arbeit über die DNA von *Oxytricha* das Hydratationsmuster dieses bimolekularen G-Quadruplex ausführlich beschrieben.^[60] Auch hier enthalten alle Furchen Wassercluster, die benachbarte DNA-Stränge verbrücken. Außerdem waren auch die G-Quadruplexschleifen weitgehend hydratisiert, und Wassermoleküle verknüpften die Schleifen mit dem endständigen K^+ -Ion und mit den Hydratationsgraten entlang der Furchen. Durch Wasser vermittelte Brücken zwischen den Domänen tragen sicher entscheidend dazu bei, die Schleifenkonformationen zu stabilisieren.

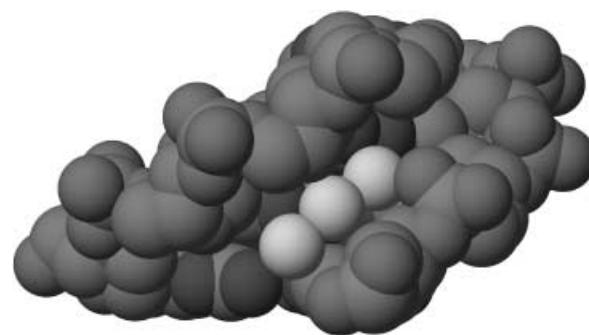


Abbildung 18. Hydratationsgrat, der eine der Furchen in der Na^+ -Form des $d(\text{TGGGT})_4$ ausfüllt.^[84] Die hellen Atome sind die Sauerstoffatome des Wassers. PDB-Code der Struktur: 352D.

3.5. Molekulare Erkennung von G-Quadruplexen durch Proteine

Mithilfe von In-vitro-Selektion wurden DNA- und RNA-Oligonucleotide, so genannte Aptamere, selektiert, die an Targetmoleküle binden.^[127] Diese Targets sind häufig Proteine. Ein gut untersuchtes Aptamer ist das Thrombin bindende Aptamer (TBA), ein gerinnungshemmendes DNA-15-mer.^[128] Kristallographisch^[129, 130] und NMR-spektroskopisch^[131–134] wurde nachgewiesen, dass TBA einen monomolekularen G-Quadruplex mit zwei G-Quartetts und drei Schleifen bildet. Die Struktur und die biologische Wirkung von TBA sind K^+ -abhängig. NMR-spektroskopische, kalorimetrische und ESI-MS-Untersuchungen haben ergeben, dass TBA mit zweiwertigen Pb^{2+} , Sr^{2+} und Ba^{2+} -Ionen noch stabiler ist.^[135–137] Verwandte DNA-Aptamere inhibieren menschliche HIV-Integrase mit IC_{50} -Werten im nm-Bereich,^[138, 139] wobei sie ähnlich wie TBA einen monomolekularen G-Quadruplex bilden.^[140, 141] Ein 17-meres Phosphorthioat-Oligonucleotid bildet ein intermolekulares G-Quadruplexaptamer, das die V3-Schleife der reversen HIV-Transkriptase bindet.^[142] Ähnlich wie viele andere G-Quadruplexe war dieses Phosphorthioat-Aptamer mit einer Dissoziationshalbwertszeit von 60 Tagen äußerst stabil^[143] und behielt seine Aktivität auch noch bei μM -Konzentrationen. Von vielen anderen Protein bindenden Aptameren nimmt man an, dass sie G-Quadruplexe als Teil ihrer bioaktiven Struktur bilden.^[144–148]

Obwohl viele Proteine, darunter Aptamere, onkogene Faktoren,^[149a] Antikörper^[150] und telomere Proteine,^[12–14] G-Quadruplexe binden, sind nur wenige molekulare Details zu Quadruplex-Protein-Wechselwirkungen bekannt.^[12] Die Struktur von Thrombin-gebundenem TBA im Kristall ließ einige Ionenpaare zwischen Phosphatgruppen in den Aptamerschleifen und den Lys- und Arg-Seitenketten erkennen.^[129, 130] Besonders aufschlussreich ist die Kristallstrukturanalyse des telomeren Proteins von *Oxytricha nova* im Komplex mit $d(\text{G}_4\text{T}_4\text{G}_4)_4$.^[59] Der bimolekulare Quadruplex in diesem Komplex enthält ebenso wie in der DNA-Lösung Diagonalschleifen. Die meisten DNA-Protein-Wechselwirkungen bestehen mit diesen Schleifen und nicht mit dem Quadruplexkern.

Zu den wichtigsten DNA-Protein-Wechselwirkungen gehören: 1) elektrostatische Wechselwirkungen, wobei drei

symmetrieverwandte Proteine die Oberfläche einer tiefen, elektropositiven Cavität bilden, um die gefaltete DNA aufzunehmen; 2) Van-der-Waals-Wechselwirkungen, wie sie z. B. auftreten, wenn die aromatischen Ringe von Tyr142 und Phe141 gegen den G-4-Zucker gepackt werden; 3) durch Wasser vermittelte Wasserstoffbrücken, wobei eine der T₄-Schleifen ein ausgedehntes Netzwerk von Wasser-vermittelten Wasserstoffbrücken mit dem Protein bildet; 4) Packungswechselwirkungen zwischen Nucleobase und Peptid, wobei der T6-Rest der anderen Schleife mit dem Protein über Van-der-Waals-Kontakte und Wasserstoffbrücken wechselwirkt. Diese T6-Nucleobase ist zwischen eine Leu-Seitenkette und die polarisierte Asp437-Gly438-Peptidbindung gepackt und bildet gleichzeitig Wasserstoffbrücken mit Atomen der Proteinseitenketten und der Hauptkette.

Die beiden verfügbaren Kristallstrukturanalysen für das *Oxytricha*- und für das Thrombin-System^[59,129,130] ließen nur wenige direkte Wechselwirkungen zwischen dem Protein und dem G-Quadruplexkern erkennen. Der G-Quadruplex scheint eher als Gerüst zu dienen, an dem die Schleifen für die molekulare Erkennung präsentiert werden. Die Struktur des aus der menschlichen Telomersequenz d(TTAGGG) gebildeten monomolekularen G-Quadruplex im Kristall lässt darauf schließen, dass die großen Schleifen ideale Proteinbindungsorte sind.^[95] Wen und Gray schlugen vor, dass g5p – ein Protein, das einsträngige DNA bindet – bevorzugt an definierte Schleifen und nicht an Zufallsknäuel bindet, um damit seinen Entropieaufwand bei der Bindung zu verringern. Dies ließe sich am besten mit einem G-Quadruplexkern erreichen, der die Konformation und Dynamik nahe gelegener Schleifen einschränkt.^[147] Wenn mit der Zeit mehr Strukturinformationen zur Verfügung stehen, werden wir wissen, ob es bei den G-Quadruplex-Protein-Wechselwirkungen eine allgemeine Präferenz zur Bindung von Schleifen gibt.^[149]

3.6. G-Quadruplex-Aptamere: Erkennung durch kleine Moleküle

Auch kleine Moleküle bilden DNA- und RNA-Aptamere, wobei G-Quartetts häufig Teil der Aptamerstruktur sind.^[151,152] Porphyrine und G-Quartetts haben ähnliche Oberflächenbereiche, und Stapelwechselwirkungen zwischen Porphyren und G-Quadruplexen wurden durch viele biophysikalische und biochemische Untersuchungen nachgewiesen.^[79,153-158] Sen et al. und andere Arbeitsgruppen haben einige Oligonucleotidaptamere beschrieben, die zur Bindung von Porphyren ausgewählt wurden.^[159-164] Anhand der optischen Spektren und aufgrund von Hinweisen aus Schutzgruppenexperimenten wurde vorgeschlagen, dass sich diese Aptamere in Gegenwart von Porphyrin zu G-Quadruplexen falten. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass einige Aptamere, die mit dem Übergangszustandsanalogon *N*-Methylmesoporphyrin (NMM) selektiert wurden, die Cu²⁺- und Zn²⁺-Metallierung von Porphyren katalysieren (Abbildung 19).^[161] Diese katalytische DNA, die für ihre Wirkung K⁺ benötigt, kann die Porphyre entweder durch Stapelung an der Oberfläche oder durch Intercalation zwischen die G-Quar-

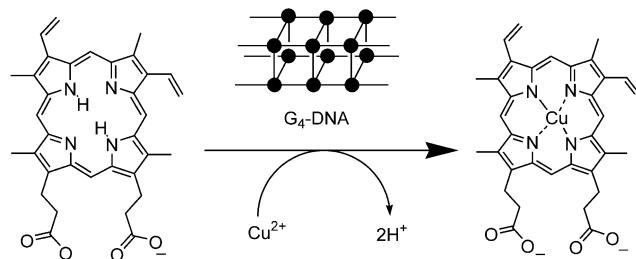


Abbildung 19. Metallierung von Porphyrin, katalysiert durch einen DNA-G-Quadruplex.^[161]

tets binden. Li und Sen nahmen an, dass die DNA-Chelatasen die Substratbindungsenergie nutzen, um die planare Konformation des Porphyrins zu verzerrn, wodurch das Porphyrin basischer wird und leichter zu metallieren ist.^[163] Den Autoren zufolge ist das G-Quartett hinreichend starr, um diese Substratverzerrung zu ermöglichen.^[164]

Eine weitere durch DNA-Aptamere katalysierte Reaktion wurde ebenfalls durch Sen et al. identifiziert.^[165,166] Einige DNA-Hämin-Komplexe haben eine höhere Peroxidase-Aktivität als der Häm-Cofaktor allein. Die Autoren nahmen an, dass die gefaltete DNA das gebundene Häm aktiviert.^[165] Die erhöhte Peroxidase-Aktivität des Aptamers wurde mit einem G-Quadruplex erklärt, der ein zwischen G-Quartetts eingeschobenes Häm-Molekül enthält.^[166] Diese Arbeiten belegen, dass DNA über ihre Funktion als Informationsspeicher hinaus auch als Katalysator wirken kann.

Durch In-vitro-Selektion entdeckten Isalan et al. Zn²⁺-Finger-Peptide, die G-Quadruplexe binden.^[167] In diesen Experimenten banden hochaffine Peptide ($K_a = 25 \text{ nm}$) mit drei Helices die menschliche Telomersequenz d(GGTTAG). Diese Zn²⁺-Finger waren spezifisch für G-Quadruplexe, denn Duplex-DNA mit der gleichen Sequenz wurde nicht gebunden. Da die Zn²⁺-Finger hohe Anteile bestimmter Aminosäuren enthielten, schlossen die Autoren auf Wasserstoffbrücken zwischen Glu/Asp-Seitenketten und den N2-Amino-gruppen von Guanosin, während His-Gruppen auf dem G-Quartett gestapelt werden könnten.

3.7. Telomerase-Inhibitoren: kleine Moleküle, die DNA-G-Quadruplex stabilisieren

Das Telomer ist ein Nucleoprotein-Schutzkomplex an den Chromosomenenden.^[168-171] Die menschliche Telomer-DNA besteht aus 5000–15000 Basen der repetitiven Sequenz 5'-TTAGGG-3', die durch eine Reihe von Proteinen gebunden werden. Da mit jeder Replikation 50–500 TTAGGG-Einheiten verloren gehen, schrumpft das Telomer langsam, und die Zelle geht zugrunde. Tumorzellen entgehen diesem Prozess, indem sie Telomerase, eine reverse Transkriptase mit einem RNA-Templat für die Telomerverlängerung, exprimieren.^[172-174] Telomere sollen bei Krebskrankungen eine Rolle spielen. Diese Annahme beruht zum Teil darauf, dass gesunde Zellen in vitro durch Induktion mit Telomerase in maligne Zellen umgewandelt werden können.^[175] Außerdem

dem kann die Inhibierung von Telomerase Krebszellen absterben lassen, was belegt, dass menschliche Telomerase ein wichtiges Target für die antineoplastische Therapie ist.^[176]

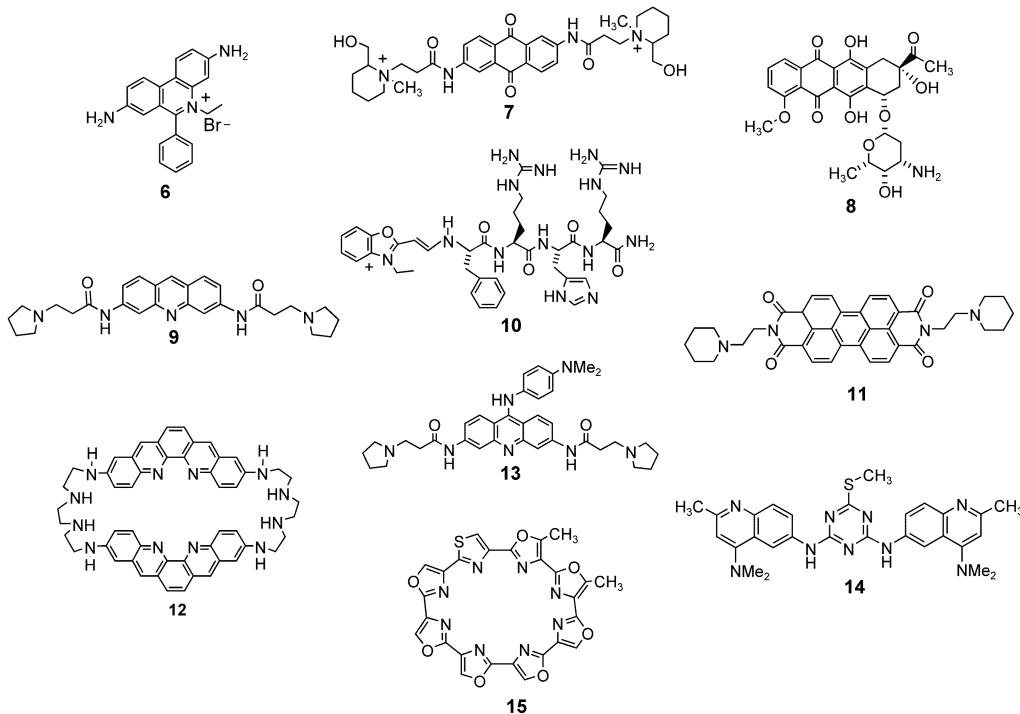
Ein Ansatz zur Inhibition von Telomerase ist die Blockierung der Enzym-Substrat-Wechselwirkung. Einsträngige DNA ist ein Telomerase-Substrat, G-Quadruplex-DNA dagegen nicht. Man nimmt an, dass der einsträngige Überhang aus 5'-TTAGGG-3'-Einheiten im menschlichen Telomer zu einem intramolekularen G-Quadruplex gefaltet ist, und dass ionische Bedingungen, die G-Quadruplexe stabilisieren, Telomerase inhibieren. Cech et al. haben berichtet, dass die Telomerase-Aktivität von *Oxytricha nova* in Gegenwart von K⁺ signifikant abnimmt: „... (f)olding of telomeric DNA into G-quartet structures seems to influence the extent of telomere elongation *in vitro* and might therefore act as a negative regulator of elongation *in vivo*.“^[177]

Die Inhibition von Telomerase hängt von der Verschiebung des Gleichgewichts zwischen Einzelstrang und Quadruplex zur gefalteten Form ab. Eine Strategie besteht darin, die G-Quadruplexform durch Bindung hochaffiner kleiner Moleküle zu stabilisieren. In einer Reihe von Übersichten ist ausführlich beschrieben, wie durch Wirkstoff-Design und Screening Verbindungen identifiziert wurden, die G-Quadruplexe binden und Telomerase inhibieren.^[178–183] Wie aus den Strukturformeln **6–15** hervorgeht, sind die meisten Telomerase-Inhibitoren aromatische Verbindungen mit elektronenarmen Ringen, die sich für Stapelwechselwirkungen mit dem elektronenreichen G-Quartett eignen. Ethidiumbromid (**6**), ein gut untersuchter Duplex-Intercalator, bindet DNA-Quadruplexe,^[184] da aber die Ethidiumoberfläche ein G-Quartett nicht völlig bedeckt, sollten größere aromatische Verbindungen bessere Inhibitoren sein.

1997 wurde mit dem Anthrachinon-Derivat **7** das erste kleine Molekül beschrieben, das G-Quadruplex-DNA bindet

und Telomerase inhibiert.^[185] Seither wurden hunderte von Telomerase-Inhibitoren identifiziert.^[178–183] Wie die aromatischen Inhibitoren mit G-Quadruplex-DNA wechselwirken, ist umstritten. Zum einen wird eine Intercalation zwischen den G-Quartetts angenommen,^[186] zum anderen wird vorgeschlagen, dass die Verbindungen auf terminale G-Quartetts stapeln.^[155] Die wenigen, durch NMR-Spektroskopie,^[187,188] Faserbeugungsstudien^[189] und Kristallstrukturanalyse^[190,191] erhaltenen Strukturen von Quadruplex-Ligand-Komplexen lassen darauf schließen, dass Telomerase-Inhibitoren an den Enden gestapelt werden und nicht intercalieren (Abbildung 20). Aus der kristallographischen Untersuchung von Wechselwirkungen zwischen dem G-Quadruplex und Dau-nomycin (**8**) schlossen Clark et al., dass die Intercalation des Wirkstoffs zwischen G-Quartett-Schichten energetisch aufwändiger sein dürfte als die Stapelung an den Enden, da bei einer Intercalation der Tetradenstapel abgebaut und die Helix entwunden werden müssten.^[191] Zudem würde die terminale Stapelung aromatischer Wirkstoffe anders als die Intercalation eine Stabilisierung der Kationen ermöglichen, sodass sie im G-Quadruplex-Kern koordiniert bleiben. Aus der Struktur eines anderen G-Quadruplex-Wirkstoff-Komplexes im Kristall geht hervor, dass der Wirkstoff **9** nicht nur auf das terminale G-Quartett gestapelt ist, sondern gleichzeitig mit seinen Seitenketten an die benachbarte Schleife bindet und so seine Position festigt.^[190]

Telomerase-Inhibitoren wurden sowohl durch strukturbezogenes Design als auch durch Aktivitäts-Screening identifiziert. So nutzten Shafer et al. rechnergestütztes Modeling zum Screening von virtuellen Bibliotheken nach potenziellen Wechselwirkungspartnern von G-Quadruplexen. Dabei wurde ein Carbocyanin-Farbstoff identifiziert, der bimolekulare G-Quadruplexe bindet.^[192] Vor kurzem wurde nachgewiesen, dass das durch kombinatorische Selektion erhaltene



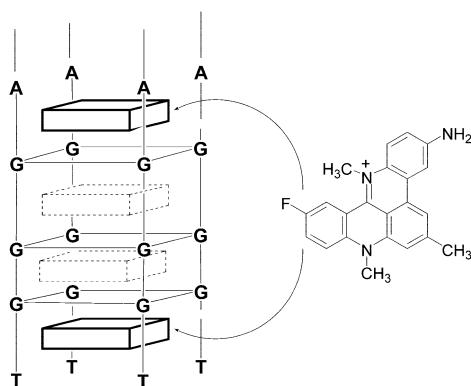


Abbildung 20. Wechselwirkung aromatischer Inhibitoren mit G-Quadruplex-DNA. NMR-Daten zufolge wird der Wirkstoff auf die Enden des G-Quadruplex gestapelt (fett) und nicht zwischen G-Quartett-Schichten eingeschoben (punktiert).^[188]

Carbocyanin-Peptid-Konjugat **10** G-Quadruplex-DNA mit hoher Affinität und Quadruplex/Duplex-Selektivität bindet.^[193]

In einem anderen Modellierungsansatz entwickelten und synthetisierten Fedorov und Hurley die mit dem Quadruplex wechselwirkende Verbindung PIPER (**11**), die sich als wirksamer Telomerase-Inhibitor erwies.^[187] Der auf der NMR-Zeitskala langsame Austausch zwischen DNA-gebundenem und freiem PIPER (**11**) sowie die Ligand-DNA-NOEs ermöglichten es, die Lage des Wirkstoffs im Komplex mit G-Quadruplex-DNA zu bestimmen. Demnach ist PIPER (**11**) endständig über ein terminales G-Quartett gestapelt. Dieses Perylenderivat ist zudem ein molekulares Chaperon, da es die Bildungsgeschwindigkeit eines bimolekularen G-Quadruplex auf das 100fache erhöht.^[194] Salazar et al. nutzten diese Affinität zur Entwicklung des PIPER-Konjugats Perylen-[Fe^{II}(edta)] zur Spaltung von G-Quadruplex-DNA.^[195] Durch NMR-Spektroskopie stellten sie fest, dass Fe-freies Perylen auf das terminale G-Quartett gestapelt war. Weiter wurde nachgewiesen, dass G-Quadruplex-DNA von Perylen-[Fe^{II}(edta)] selektiv ohne Schädigung von Duplex-DNA gespalten wird. Verbindungen, die G-Quadruplex-DNA selektiv zerstören, können als Struktursonden von Nutzen sein.

Neueren Arbeiten zufolge können die selbstorganisierten G-Quadruplexe auch mit aggregierten Liganden wechselwirken. Angesichts der ausgedehnten Oberfläche, die ein planares G-Quartett präsentiert, ist diese Beobachtung plausibel. Die strukturelle Basis ist zwar noch unklar, aber Kerwin et al. konnten nachweisen, dass sich die Bindungsselektivität des Tetraplex stark erhöht, wenn PIPER (**11**) aggregiert ist.^[196,197]

Eine Kristallstrukturanalyse veranschaulicht die bemerkenswerten Selbstorganisationseigenschaften bei G-Quadruplex-Wirkstoff-Wechselwirkungen. Clark et al. wiesen nach, dass Daunomycin (**8**) bei Wechselwirkung mit viersträngigem [d(TG₃T)]₄ unter Selbstorganisation das nichtkovalente Trimer **[8]₃** bildet (Abbildung 21). Die Daunomycin-Trimere werden durch Van-der-Waals-Wechselwirkungen zusammengehalten. Im Kristall sind zwei Daunomycin-Trimere zwis-

schen die 5'-G-Quartette gestapelt, die den G-Quadruplex bilden.^[191] Zwischen dem terminalen G-Quartett und dem Daunomycin-Trimer bestehen ebenfalls ausgedehnte Stapelwechselwirkungen. Außerdem reichen die Zuckerreste der drei Daunomycinmoleküle in die Furchen hinein, wo sie über Wasserstoffbrücken an den G-Quadruplexkern binden.

Konkurrenzdiayseversuche haben kürzlich ergeben, dass der dimere Makrocyclus BOQ (**12**) im Unterschied zum monomeren Derivat G-Quadruplex-DNA selektiv bindet.^[198] BOQ ist zudem ein wirksamer Telomerase-Inhibitor. Die gegenüber der monomeren Form höhere Selektivität des dimeren Makrocyclus wird auf stärkere hydrophobe und Stapelwechselwirkungen mit G-Quadruplex-DNA zurückgeführt.

Read et al. erhielten verbesserte Telomerase-Inhibitoren durch strukturbezogenes Design.^[199] Molecular-Modeling-Studien zufolge sollte die Affinität des G-Quadruplex zunehmen, wenn an den vorhandenen Acridinwirkstoff **9** an geeigneter Stelle eine dritte Seitenkette angefügt wird (Bildung von **13**). Die Autoren begründeten dies mit weiteren Kontakten zwischen Seitenkette und Furche, die für zusätzliche Stabilität der gefalteten DNA sorgen und so zu stärkerer Inhibierung von Telomerase führen. Ein Vergleich der Eigenschaften beider Acridine **9** und **13** ergab, dass durch Anknüpfen der dritten Seitenkette die Bindungsaffinität des Wirkstoffs für den G-Quadruplex, seine Quadruplex-Duplex-Selektivität und seine Inhibitorwirkung für Telomerase verbessert wird.

Auch durch kombinatorisches Screening wurden vielversprechende Telomerase-Inhibitoren entdeckt. Mergny und Hélène et al. identifizierten mit einem FRET-Assay Triazinderivate wie **14**, die die Faltung eines DNA-Oligonucleotids zu einem G-Quadruplex induzieren.^[200,201] Einige dieser Triazine erwiesen sich als nm-Inhibitoren für menschliche Telomerase. Durch kombinatorisches Screening können wirksame Verbindungen identifiziert werden, die man im strukturbezogenen Design vielleicht nicht berücksichtigt hätte.

Der wirksamste und selektivste Telomerase-Inhibitor ist der Naturstoff Telomestatin (**15**), der bei einem Aktivitäts-Screening aus *Streptomyces anulatus* isoliert wurde.^[202] NMR- und Modeling-Studien zufolge ist Telomestatin auf ein G-Quartett gestapelt, was erneut darauf schließen lässt, dass die Inhibierung von Telomerase auf die Fähigkeit zur Stabilisierung der G-Quadruplexform von telomerer DNA zurückzuführen ist.^[203]

3.8. Zusammenfassung der für die G-Quadruplexstruktur und die molekulare Erkennung wichtigen Wechselwirkungen

Wie bei den meisten supramolekularen Systemen wirken bei der Bildung eines G-Quadruplex mehrere nichtkovalente Wechselwirkungen zusammen. Experimentell und rechnerisch wurde nachgewiesen, dass Kation-Dipol-Wechselwirkungen für die Wasserstoffbrücken und die charakteristische Basenstapelung von G-Quadruplexstrukturen essenziell sind. Die Kationbindung verringert vermutlich die Abstoßung der vier zentralen Sauerstoffatome im wasserstoffverbrückten

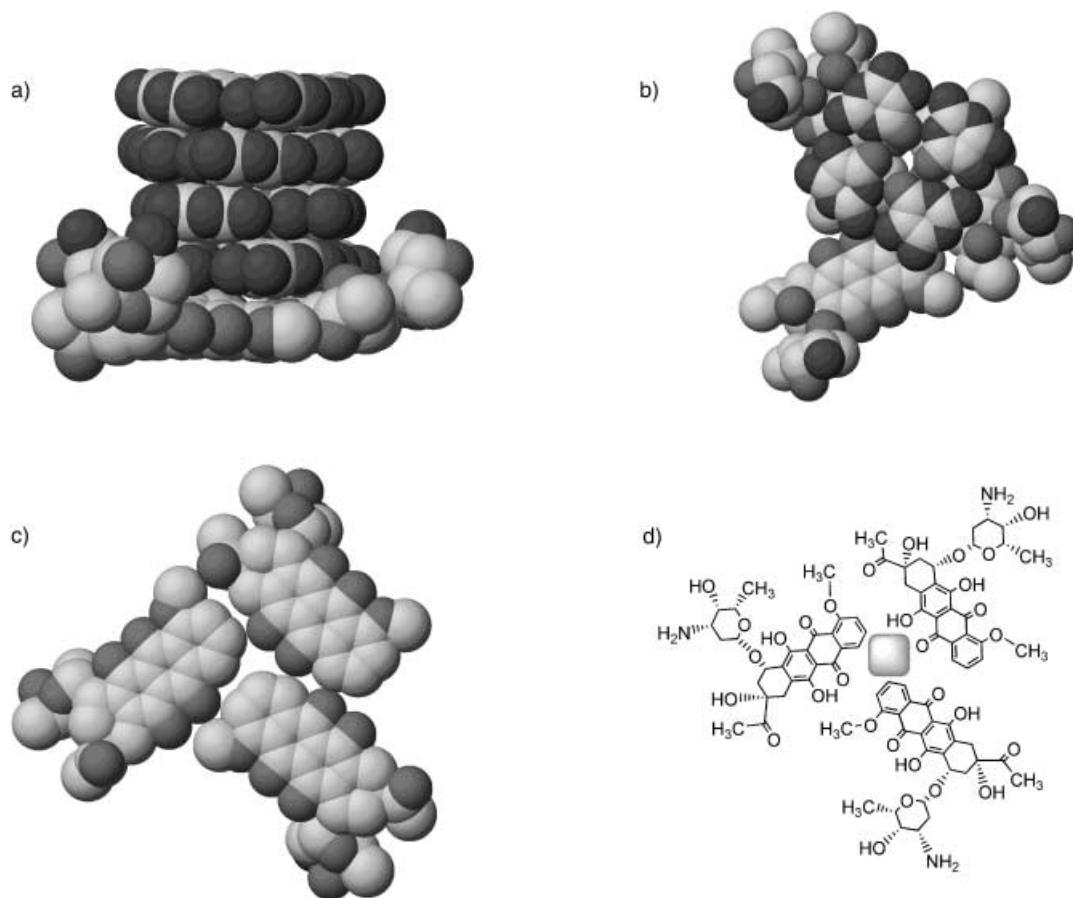


Abbildung 21. Strukturdarstellungen des selbstorganisierten, an den viersträngigen G-Quadruplex $[d(TG_4T)]_4$ gebundenen Daunomycin-Trimers $[8]_3$ im Kristall.^[191] a) Seitenansicht der Stapelung des G-Quartett-Kerns auf der Oberseite von $[8]_3$; b) Ansicht von oben auf das terminale G-Quartett auf $[8]_3$; c) Ansicht von unten auf das von Van-der-Waals-Wechselwirkungen zusammengehaltene Daunomycin-Trimer $[8]_3$; d) Strukturformel des Daunomycin-Trimers $[8]_3$. PDB-Code der Struktur: 1O0K.

Quartett, verstärkt die Wasserstoffbrücke und stabilisiert die G-Quartettstapelung.

Stapelwechselwirkungen sind ebenfalls von Bedeutung für die Steuerung der Struktur und molekularen Erkennung von G-Quadruplex-DNA. Die Basenstapelung wird durch elektrostatische und disersive (Van-der-Waals-)Wechselwirkungen hervorgerufen.^[204,205] Das G-Quartett präsentiert eine ausgedehnte Oberfläche für Wechselwirkungen mit Arenen, seien es andere Nucleobasenaggregate oder niedermolekulare Liganden. Auch wenn der relative Einfluss der die aromatischen Stapelwechselwirkungen verursachenden Kräfte noch diskutiert wird,^[204] lassen sowohl rechnerische als auch experimentelle Ergebnisse darauf schließen, dass diese Stapelwechselwirkungen mit dem nichtklassischen hydrophoben Effekt erklärt werden können.^[205] So haben Spöner et al. stark anziehende Van-der-Waals-Wechselwirkungen zwischen zwei G-Quartetts berechnet ($\Delta H = -49 \text{ kcal mol}^{-1}$), während die elektrostatische Komponente mit $\Delta H = +28 \text{ kcal mol}^{-1}$ repulsiv war. Damit resultierte sogar ohne ein kationisches Templat eine Gesamtstapelungsenergie von $\Delta H = -21 \text{ kcal mol}^{-1}$.^[87] Diese Enthalpie für die Quartettstapelung ($\Delta H = -21 \text{ kcal mol}^{-1}$) ist größer als die für Stapelwechselwirkungen innerhalb der Duplex-DNA

berechnete Enthalpie von -10 bis $-15 \text{ kcal mol}^{-1}$. Auch kalorimetrische Messungen von G-Quadruplex-Ligand-Wechselwirkungen ergeben mit $\Delta H \leq 0$ und $T\Delta S \leq 0$ die charakteristischen Werte für den „nichtklassischen“ hydrophoben Effekt.^[186] Dieser Effekt ist auf den Enthalpiegewinn bei der Stapelung großer aromatischer Oberflächen, die polarisierbare Atome enthalten, zurückzuführen.^[205] Ein Enthalpiegewinn tritt auch auf, wenn das an diese aromatischen Oberflächen schwach gebundene Wasser an die Umgebung abgegeben wird.

Schließlich können auch Hydratationsrate in den Furchen und Wassermoleküle zwischen den Schleifen und dem G-Quartettkern dazu beitragen, Struktur, Dynamik und Wirkung des G-Quadruplex zu steuern.

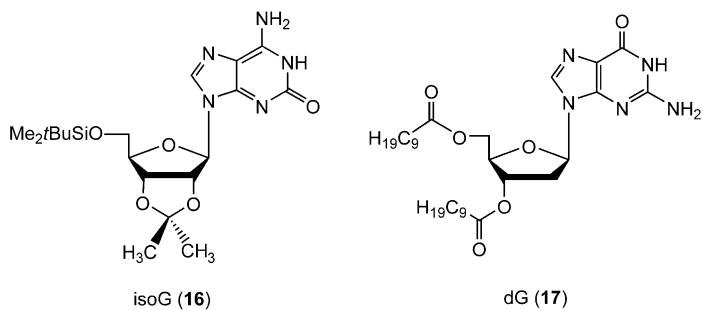
4. Lipophile G-Quadruplex: Strukturmodelle für DNA, selbstorganisierte Ionophore und andere Strukturmotive

Der Übersichtsartikel von Guselbauer et al. enthält die folgende Feststellung: „(w)ater appears to be an indispensable solvent for the auto-association of guanosine ... organic

solvents give rise to poorly organized aggregates.^[1] Damals war noch nicht bekannt, welche Derivate und Bedingungen erforderlich sind, damit G-Quadruplexe in organischen Lösungsmitteln entstehen. Inzwischen hat man herausgefunden, dass lipophile Nucleoside in organischen Solventien tatsächlich stabile, wohlgeordnete Spezies bilden. Diese lipophilen G-Nucleoside finden Verwendung als Modelle für DNA-G-Quadruplexe, als Grundlage zur Untersuchung nichtkovalenter Wechselwirkungen und als Anregung für synthetische Molekülaggregate.

4.1. Frühe Zwischenstufen der Selbstorganisation von Guanosin: diskrete G_8K^+ -Octamere in organischen Solventien

Bei der Untersuchung der Basenpaarung in organischen Lösungsmitteln beobachteten wir die Selbstassoziation von lipophilem G (**1**) und dem isomeren Isoguanosin (isoG, **16**) in



Gegenwart von Kationen.^[206,207] Gleichzeitig beschrieben Gottarelli et al. die Selbstorganisation von 3',5'-Didecanoyl-2'-dG (**17**) am K⁺-Templat in CDCl₃.^[208] Abhängig von den Reaktionsbedingungen kann dG (**17**) K⁺-Pikrat aus Wasser in CDCl₃ extrahieren, wobei entweder ein diskretes Octamer, $[\mathbf{17}]_8 \cdot \text{K}^+$, oder ein Polymer, $([\mathbf{17}]_4)_n \cdot (\text{K}^+)_m$, entsteht. In Kohlenwasserstoffen führt die seitliche Selbstorganisation von gestapelten $([\mathbf{17}]_4)_n \cdot (\text{K}^+)_m$ -Säulen zu hexagonal gepackten Flüssigkristallen.^[209]

In Zusammenarbeit mit Gottarelli et al. bestimmten wir NMR-spektroskopisch die Struktur des Octamers $[17]_8\text{K}^+\text{I}^-$, der ersten nachweisbaren Zwischenstufe bei der Selbstaggregation und Selbstorganisation von dG (**17**), in CDCl_3 .^[210] Aus den NMR-Daten wurde gefolgert, dass dieses Octamer bemerkenswerterweise als einzelnes Diastereomer vorliegt. In einem G-Quartett hatten alle dG-Bausteine *syn*-glycosidische Anordnung, in dem anderen Tetramer dagegen *all-anti*-Konformation. Den NOEs zufolge liegt eine Kopf-Schwanz-Orientierung vor, bei der das *all-anti*-G-Quartett mit einer 30°-Drehung um die Mittelachse auf das *all-syn*-G-Quartett gestapelt ist. Später wurde durch Kleinwinkelneutronenstreuung und NMR-Spektroskopie nachgewiesen, dass das Polymer $([17]_4)_n(\text{K}^+)_m$ die gleiche Konformation und Anordnung der G-Quartette aufweist wie das diskrete Octamer $[17]_8\text{:K}^+$.^[211] Diese NMR-Untersuchung bestätigte die Existenz diskreter G-Quartettstrukturen in organischen Lösungsmitteln und ließ zudem erkennen, dass sich die

Selbstaggregation von dG (17) und die anschließende Selbstorganisation von Domänen zum Aufbau von Nanostrukturen eignen (siehe Abschnitt 5). Die Strukturaufklärung diskreter Spezies wie $[17]_8\text{K}^+\text{I}^-$ sorgte für ein besseres Verständnis der Selbstaggregation und lieferte darüber hinaus Ideen für das supramolekulare Design.

4.2. Kristallstrukturen lipophiler G-Quadruplexe: Modelle zur Lokalisierung von Ionen in DNA

Außer der Kristallstrukturanalyse gibt es nur wenige Methoden, mit denen Kationen in DNA-G-Quadruplexen direkt lokalisiert werden können. Die ^{15}N -NMR-Spektroskopie lieferte Informationen über die Bindung von NH_4^+ , und durch ^{205}Tl -NMR-Spektroskopie wurde nachgewiesen, wie ein K^+ -Ersatz den $[\text{d}(\text{T}_2\text{G}_4\text{T}_2)]_4$ -Quadruplex stabilisiert.^[212,213] Ein ^{23}Na -NMR-Spektrum in Lösung liefert zwar Informationen zur Dynamik, aber nicht zur Struktur.^[214] Demnach besteht ein Bedarf an Methoden, mit denen sich DNA-gebundene Metalle nachweisen lassen. Hochaufgelöste Kristallstrukturen^[29–33] der lipophilen G-Quadruplexe aus G (**1**) trugen dazu bei, die Gültigkeit neuer Methoden wie der ^{23}Na - und ^{39}K -Festkörper-NMR-Spektroskopie und der EXAFS-Röntgenspektroskopie (EXAFS = extended X-ray absorption fine structure) zu bestätigen.

²³Na-Festkörper-NMR-Spektren des DNA-Quadruplex [d(TG₄T)]₄ lagen zwar bereits vor,^[215] allerdings wurde die Zuordnung von G-Quartett-gebundenem Na⁺ durch DNA-Phosphat-gebundenes Na⁺ erschwert. Der lipophile G-Quadruplex [1]₁₆·3 Na⁺/Cs⁺·4 pic⁻ bot sich als ideales Modell an, um dieses Problems zu umgehen; er enthält drei kristallographisch getrennte Na⁺-Kanalionen und kein Phosphat-gebundenes Na⁺, das die NMR-Analyse verkomplizieren würde. Durch 2D-²³Na-MQMAS-NMR-Spektroskopie (MQMAS = multiple quantum magic angle spinning) bestimmten Wu et al. die isotropen chemischen Verschiebungen und andere Parameter der drei Na⁺-Stellen in [1]₁₆·3 Na⁺/Cs⁺·4 pic⁻.^[33] Der zweifelsfreie Nachweis von Na⁺ im Kanalinneren bestätigte, dass diese lipophilen G-Quadruplexe ausgezeichnete Modelle für DNA-G-Quadruplexe sind.

Wu et al. nutzten auch die ^{39}K -Festkörper-NMR-Spektroskopie zum Nachweis von K^+ in dem lipophilen G-Quadruplex [1]₁₆ $^3\text{K}^+/\text{Cs}^+ \cdot 4\text{pic}^-$.^[216] Das Quartett-gebundene K^+ lieferte ein charakteristisches ^{39}K -NMR-Signal bei $\delta = -45$ ppm. Diese chemische Verschiebung für ^{39}K im Modell ist insofern von Bedeutung, als sie den Autoren ermöglichte, unterschiedliche K^+ -Ionen im 5'-GMP-Quadruplex zu unterscheiden; auf diese Weise wurden G-Quartett-gebundene und Phosphat-gebundene K^+ -Ionen identifiziert. Diese ^{39}K -Festkörper-NMR-Studie lieferte den ersten spektroskopischen Nachweis von biologisch relevantem K^+ und lässt entsprechende Studien an DNA-(G₄)_n $\cdot \text{K}^+$ -Quadruplexen aussichtsreich erscheinen.

Shafer et al. verwendeten erstmals EXAFS, um DNA-Metallionen-Bindung in Lösung zu charakterisieren.^[217] Diese Methode liefert Koordinationszahlen und Kern-Kern-Abstände für das gebundene Metall. Die Autoren bestimmten die Position von Pb^{2+} und die Pb-O-Abstände im

Thrombin bindenden Aptamer d(G₂T₂G₂TGTG₂T₂G₂) (TBA). Bereits zuvor war nachgewiesen worden, dass dieser monomolekulare G-Quadruplex Pb²⁺ fest bindet,^[218] unklar war aber, ob Pb²⁺ zwischen die beiden G-Quartetts von TBA intercaliert oder an das terminale G-Quartett und die benachbarte Schleife koordiniert (Abbildung 22). Zur

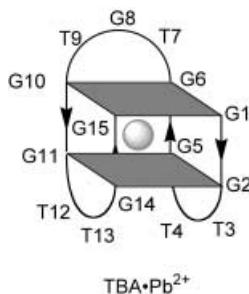


Abbildung 22. Das Thrombin-bindende Aptamer (TBA) mit gebundem Pb²⁺. Die Kationbindungsstelle konnte durch einen Vergleich der EXAFS-Daten des lipophilen G-Quadruplex [1]₁₆·2 Pb²⁺ und von Pb²⁺·TBA identifiziert werden.^[217]

Klärung dieser Frage wurde der lipophile G-Quadruplex [1]₁₆·2 Pb²⁺·4 pic⁻ herangezogen. Dessen Kristallstrukturanalyse hatte ergeben, dass achtfach koordiniertes Pb²⁺ sandwichartig von zwei G-Quartetts eingeschlossen wird.^[30] Die durch EXAFS bestimmten Pb-O-Abstände im Modell-G-Quadruplex [1]₁₆·2 Pb²⁺·4 pic⁻ stimmten gut mit den Pb-O-Abständen im Kristall überein. Die Koordinationszahlen und die durch EXAFS ermittelten Pb-O-Abstände waren für [1]₁₆·2 Pb²⁺·4 pic⁻ und für Pb²⁺·TBA identisch, was dafür spricht, dass Pb²⁺ in Pb²⁺·TBA zwischen den beiden G-Quartetts angeordnet ist. Diese Arbeit zeigt nicht nur, dass mit EXAFS quantitative Informationen über die Bindung zwischen DNA und Metallion erhältlich sind, sondern bestätigt erneut, dass lipophile G-Quadruplexe mit G (**1**) als nützliche Modelle zur Lokalisierung von Metallionen in den analogen DNA-Strukturen dienen.

4.3. G-Quartetts und IsoG-Pentamere: Steuerung der Aggregation durch Nucleobasenstruktur und kationisches Templat

Das Ergebnis einer Selbstaggregation wird durch die „programmierte“ Information der Komponenten bestimmt. Auch kleine Störungen in diesen Bausteinen können die supramolekulare Struktur drastisch verändern. Betrachten wir G (**1**) und isoG (**16**): Diese Isomere unterscheiden sich nur durch die Stellung eines Sauerstoff- und eines Stickstoffatoms, aber ihre Selbstaggregation verläuft völlig anders. Den Kristallstrukturanalysen zufolge bildet G (**1**) einen hexadecameren G-Quadruplex [1]₁₆·4 M⁺,^[29–33] während isoG das Decamer [16]₁₀·Cs⁺ liefert, in dem zwei wasserstoffverbrückte Pentamere das Cs⁺-Ion sandwichartig einschließen.^[221, 222] Vergleichende Untersuchungen an G (**1**) und isoG (**16**) führten uns zu dem Schluss, dass 1) die Größe des durch

Selbstaggregation gebildeten Makrocyclus vom Wasserstoffbrückenmuster des Nucleosids abhängt und 2) ein Kation erforderlich ist, um diese Makrocyclen zu stabilisieren.

In Übereinstimmung mit unseren Arbeiten über Nucleoside in organischen Solventien stellten Switzer und Seela et al. fest, dass Nucleobase und Kation bei der Selbstaggregation von DNA ähnliche Rollen spielen. Demnach bilden DNA-Oligonucleotide mit d-isoG-Sequenzen in Gegenwart von Cs⁺ fünfsträngige Strukturen.^[223–225] Für die unterschiedliche Selbstorganisation von G und isoG lieferten Chaput und Switzer eine schlüssige Erklärung,^[223] wonach die Größe des wasserstoffverbrückten Makrocyclus von der relativen Stellung der Wasserstoffbrückendonoren und -acceptoren in der Nucleobase beeinflusst wird (Abbildung 23). G-Quartetts entstehen, weil die Donor- und Acceptoreinheiten von Guanosin einen 90°-Winkel miteinander bilden, woraus ein planares Tetramer mit linearen Wasserstoffbrücken resultiert. Dass isoG ein wasserstoffverbrücktes Pentamer bildet – speziell in Gegenwart eines großen Kations als Templat –, wurde auf den 67°-Winkel zwischen den Van-der-Waals-Flächen der Wasserstoffbrückenseiten von isoG zurückgeführt. Dieser Winkel kommt dem für ein cyclisches Pentamer optimalen Winkel von 72° (360°/5) sehr nahe.^[223]

Für diese Schlussfolgerungen spricht auch, dass die Art des Kations eine entscheidende Rolle bei der Selbstaggregation von isoG-DNA spielt. Die gleichen Sequenzen, die mit Cs⁺ Pentaplexe bilden, aggregieren mit den kleineren (und ladungsdichten) K⁺- und Na⁺-Ionen zu Vierstrang-Strukturen.^[223–228] Seela und Kröschel konnten zeigen, dass bei Zugabe von Cs⁺ zu d(T₂isoG₄T₂) ausschließlich der Pentaplex entsteht, während in Gegenwart von Na⁺ ausschließlich der Tetraplex nachgewiesen wurde. In Gegenwart von Rb⁺, das hinsichtlich der Größe zwischen Na⁺ und Cs⁺ liegt, liegen interessanterweise viersträngige und fünfsträngige DNA nebeneinander in Lösung vor.^[225] Rechnungen haben kürzlich bestätigt, dass die Bildung von isoG-Quartetts und isoG-Pentameren von der Größe des kationischen Templat abhängt.^[229] Da isoG und G selbstkomplementär sind,^[230, 231] könnten sie auch gemischte Aggregate bilden.^[232]

Außer dem Liganden und dem Kation kann auch das Anion die Selbstaggregation lipphiler Nucleoside beeinflussen. Bei ersten Untersuchungen waren wir zu dem Schluss gekommen, dass isoG (**16**) in Gegenwart von Kaliumpikrat unter Selbstaggregation Tetramere bildet.^[233] Rückschauend betrachtet könnte sich allerdings das koordinierende Pikrat-Ion störend auf die Bestimmung der stöchiometrischen Zusammensetzung ausgewirkt haben. Spätere Kristallstruktur- und NMR-Analysen mit dem nichtkoordinierenden Ph₄B⁻-Ion sprechen dafür, dass isoG (**16**) mit Alkalimetall-Ionen in organischen Lösungsmitteln wasserstoffverbrückte Pentamere bildet.^[221, 222, 234, 235]

Sowohl G (**1**) als auch isoG (**16**) benötigen zur Aggregatbildung ein Kation. Dies konnten wir durch ¹H-NMR- und ESI-MS-Experimente im Zuge von Untersuchungen zur „Selbstsortierung“ von **1** und **16** nachweisen.^[236] Eine äquimolare Lösung von G (**1**) und isoG (**16**) in CD₂Cl₂ lieferte ohne Kationen ein Gemisch aus undefinierten wasserstoffverbrückten Komplexen. Durch Zugabe von Ba(pic)₂ zu diesem Nucleosidgemisch bildeten sich die Einzelkomplexe

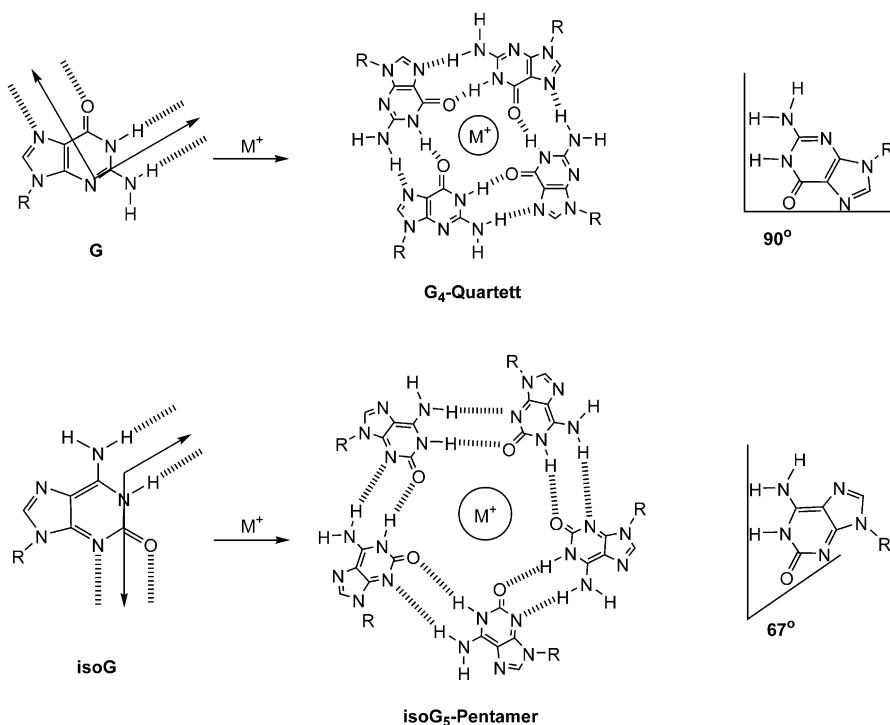


Abbildung 23. Selbstassoziation von G (1) und isoG (16) in Gegenwart von Kationen zu wasserstoffverbrückten G₄-Quartetts bzw. isoG₅-Pentameren. Die Größe des Aggregats wird von der relativen Orientierung der Wasserstoffbrückendonoren und -acceptoren im Nucleosid bestimmt. Der Van-der-Waals-Winkel von 67° in isoG begünstigt Pentamere, der 90°-Winkel in G dagegen ein Quartett.^[223]

[1]₁₆·2 Ba²⁺ und [16]₁₀·Ba²⁺ (Abbildung 24). Die separate Aggregation der Isomere belegt die zentrale Rolle des Kations bei der Expression der in den Nucleosiden verankerten Information zur Wasserstoffbrückenbindung und Basenstapelung. Dieses Selbstsortierungsexperiment mit G (1) und isoG (16) ist ein Beispiel für eine Gleichgewichtsverschiebung, wie sie für die dynamische kombinatorische Chemie essenziell ist.^[237] Wu und Isaacs haben kürzlich nachgewiesen, dass die Selbstsortierung von G (1) und isoG

(16) an einem kationischen Templat auch in Gemischen stattfindet, die sechs weitere potenziell konkurrierende wasserstoffverbrückte Aggregate enthalten.^[238]

4.4. Leere Quartette: Selbstaggregation von Guanosin ohne Kation

Entgegen der vorherigen Annahme, dass zur Stabilisierung des G-Quartetts ein Kation erforderlich sei, berichteten Sessler et al.^[45] über eine Kristallstrukturanalyse des durch einen großen C8-Substituenten modifizierten G-Derivats 18, die ein wasserstoffverbrücktes G-Quartett mit leerem Hohlraum erkennen ließ. Auch das NMR-Spektrum in CD₂Cl₂ zeigte die für ein stabiles G-Quartett charakteristischen Signale. Die entscheidende Voraussetzung zur Bildung eines „leeren“ G-Quartetts ist ein konformativ eingeschränktes Monomer. In Abwesenheit eines Kations führt die Selbstassoziation freier Guanosinderivate zu bandförmigen Strukturen, wobei die N3-Position als Wasserstoffbrückenacceptor fungiert. Im Guanosin 18 zwingt der Dimethylanilinsubstituent an C8 die Nucleosid in eine syn-Konformation, in der der Zuckerrest die N3-Position blockiert und die Bildung von Bandstrukturen verhindert (Abbildung 25). Das Guanosin 18 kann somit nur durch Hoogsteen-Basenpaarung aggregieren, wodurch ein G-Quartett entsteht. Diese Arbeit illustriert, wie die Selbstaggregation von Guanosinen durch Steuerung der Monomerkonformation beeinflusst werden kann.

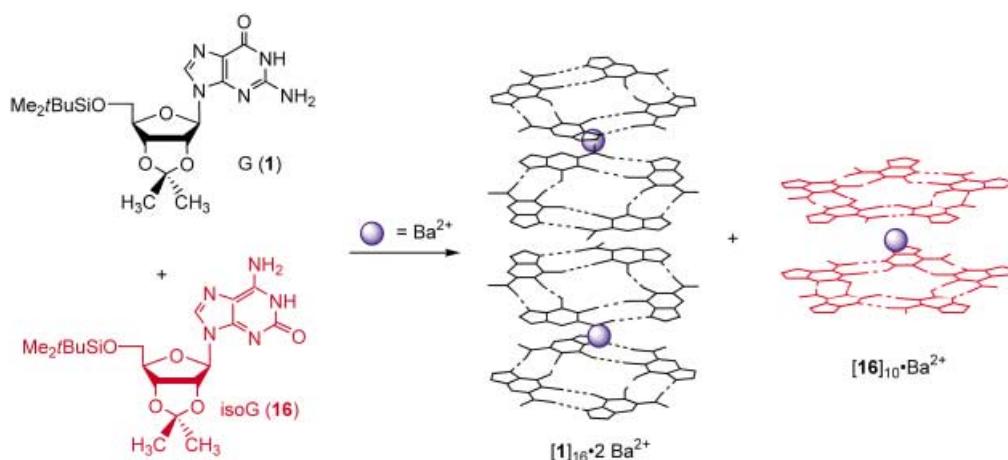


Abbildung 24. Die Isomere G (1) und isoG (16) „sortieren“ sich in Gegenwart von Bariumpikrat und bilden die Komplexe [1]₁₆·2 Ba²⁺·4 pic⁻ und [16]₁₀·Ba²⁺·2 pic⁻.^[236]

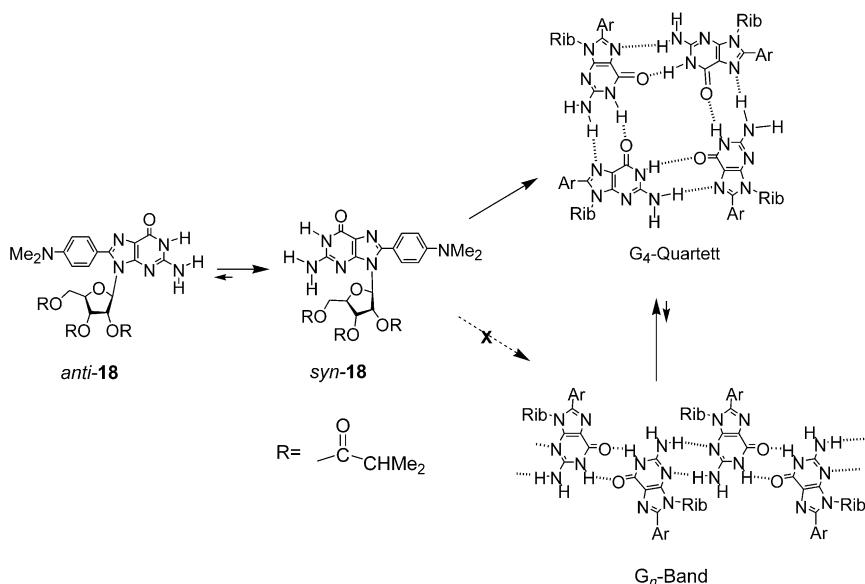


Abbildung 25. Das konformativ eingeschränkte Guanosin **18** benötigt zur Bildung eines G-Quartetts kein kationisches Templat.^[45]

Ebenfalls Sessler et al. synthetisierten aus dem lipophilen Dinucleosid **19** ein weiteres wasserstoffverbrücktes cyclisches Aggregat (Abbildung 26).^[239a] Dieses Guanosin-Cytosin-Konjugat assoziiert über selbstkomplementäre Watson-Crick-Wasserstoffbrücken und bildet das Cyclotrimer (**19**)₃. Darüber hinaus umfasst die Verwendung modifizierter Nucleobasen zur Steuerung der Selbstaggregation auch Arbeiten, in denen synthetische CG-Analoga eingesetzt wurden, um so interessante Strukturen wie Janus-Moleküle, selbstorganisierte Dendrimere und helicale Rosetten aufzubauen.^[239b]

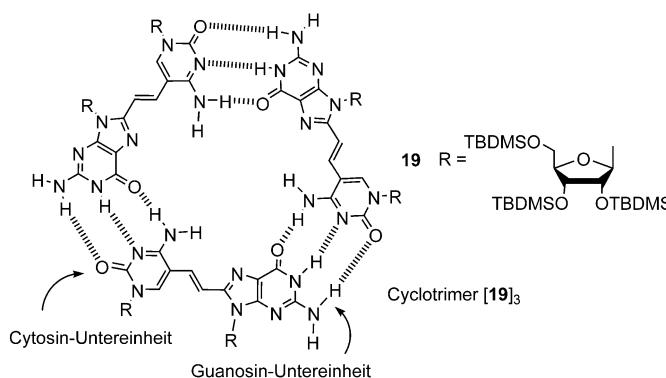


Abbildung 26. Selbstorganisation des lipophilen Dinucleosids **19** zum Cyclotrimer (**19**)₃.^[239a] TBDMs = *tert*-Butyldimethylsilyl.

4.5. Enantioselektive Selbsterkennung von lipophilen Nucleosiden: Bildung homochiraler wasserstoffverbrückter Aggregate

Obwohl die Zuckereinheit nicht direkt an den Wasserstoffbrücken im G-Quartett beteiligt ist, kann sie die Selbstaggregation des Nucleosids regulieren. Wir konnten nach-

weisen, dass sich die Chiralität des Zuckers auf die Selbstaggregation von Guanosinen auswirkt. Die racemischen Nucleoside D,L-G (**1**) und D,L-isoG (**16**) unterliegen einer hoch enantioselektiven Selbsterkennung.^[31,222] In beiden Fällen löst ein achirales Metallion die stereoselektive Aggregation aus.

Die Struktur von [D-**16**]₁₀·Cs⁺·Ph₄B⁻ im Kristall ließ Nucleobase-Zucker-Wasserstoffbrücken zwischen den benachbarten isoG-Einheiten eines Pentamers erkennen.^[222] Wir postulierten, dass diese Wasserstoffbrücken zwischen Zucker und Base nicht nur zu der hervorragenden Cs⁺-Selektivität des Ionophors beitragen,^[240] sondern auch Informationen von einem Zucker auf seinen basengepaarten Nachbarn übertragen. Tatsächlich bestätigte eine nachfolgende Kristallstrukturanalyse eine enantioselektive Selbsterkennung von D,L-isoG (**16**) in Gegenwart von

CsPh₄B. Im gebildeten „meso-Decamer“ [D-**16**]₅·Cs⁺·[L-**16**]₅·Ph₄B⁻ ist das eine Pentamer ausschließlich aus D-**16**, das andere ausschließlich aus L-**16** aufgebaut (Abbildung 27).^[222] Das Cs⁺-Kation wird sandwichartig von den beiden homochiralen Pentameren eingeschlossen. Dieses „meso-Diastereomer“ war auch in Lösung die Hauptspezies. Wir zogen den Schluss, dass die von den fünf zusätzlichen Wasserstoffbrücken zwischen Zucker und Nucleobase gelieferte Enthalpie dazu beiträgt, den mit der enantioselektiven Selbstassoziation einhergehenden entropischen Aufwand zu kompensieren.

In nachfolgenden Untersuchungen gelang uns der Nachweis einer enantioselektiven Selbsterkennung bei der Bildung eines homochiralen Aggregats aus 16 Nucleosiden. In Gegenwart von Bariumpikrat bildete D,L-**1** die homochiralen G-Quadruplexe [D-**1**]₁₆·2Ba²⁺·4pic⁻ und [L-**1**]₁₆·2Ba²⁺·4pic⁻.^[31] Da Ba²⁺ und K⁺ ähnliche Ionenradien haben, ist die Ladung des Kations zweifellos entscheidend für die hohe enantioselektive Selbsterkennung, zumal D,L-**1** mit Kaliumpikrat ein Diastereomerengemisch lieferte (Abbildung 28). Auch dieses Ergebnis spricht dafür, dass der Enthalpiebeitrag aus der Selbstaggregation von G (**1**) um das zweiwertige Ba²⁺ (mit entsprechender Zunahme der Kation-Dipol-, Wasserstoffbrücken- und Stapelungsenergien relativ zum K⁺-Einbau) den Entropieaufwand der Enantiomerentrennung kompensiert. Wir halten die Verwendung derartiger homochiraler Aggregate bei enantioselektiven Trennungen und Katalysen für möglich.

4.6. Bindung von Anionen an lipophile G-Quadruplexe unter Bildung von Ionenpaar-Rezeptoren

Während allgemein bekannt ist, dass G-Quartetts Kationen koordinieren, wurde die Rolle von Anionen bei der Selbstaggregation bislang weitgehend übersehen. Bei Nucleo-

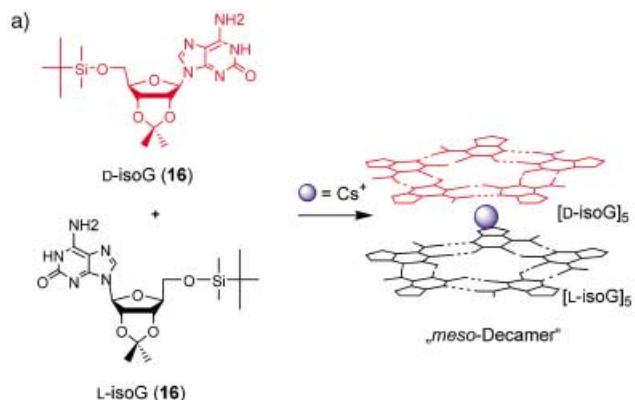


Abbildung 27. a) Enantioselektive Selbstassoziation: Durch Zugabe von Cs^+ zu racemischem D,L-isoG (16) bilden sich homochirale wasserstoffverbrückte Pentamere. In Lösung und im festen Zustand existiert hauptsächlich das „meso-Decamer“ $[\text{D-16}]_5 \cdot \text{Cs}^+ \cdot [\text{L-16}]_5$. b) Blick von oben auf die Struktur von $[\text{D-16}]_5 \cdot \text{Cs}^+ \cdot [\text{L-16}]_5$ im Kristall.^[222]

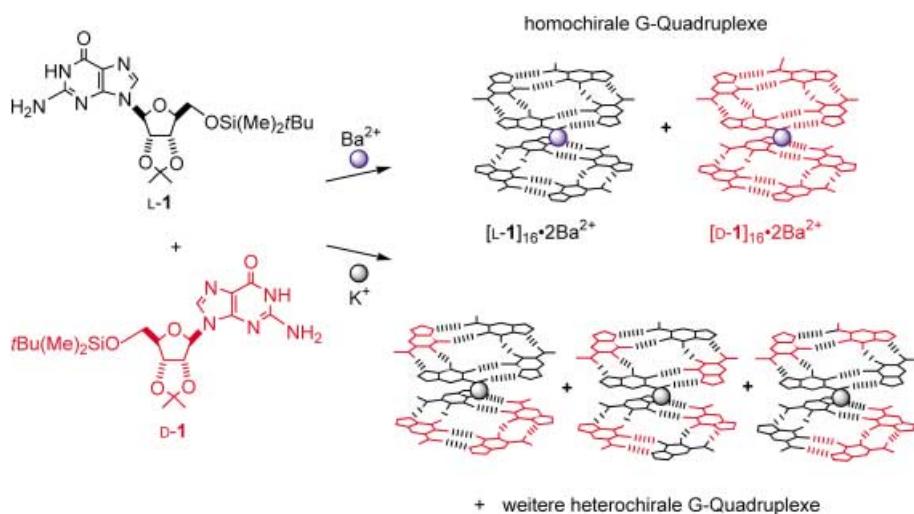


Abbildung 28. Kation-abhängige enantioselektive Selbstassoziation von G (1). Die Selbstorganisation von racemischem D,L-G (1) in Gegenwart von Ba^{2+} liefert die homochiralen G-Quadruplexe $[\text{D-1}]_{16} \cdot 2\text{Ba}^{2+} \cdot 4\text{pic}^-$ und $[\text{L-1}]_{16} \cdot 2\text{Ba}^{2+} \cdot 4\text{pic}^-$. Durch Zugabe von K^+ zu G (1) entsteht ein Diastereomerengemisch heterochiraler Aggregate.^[31]

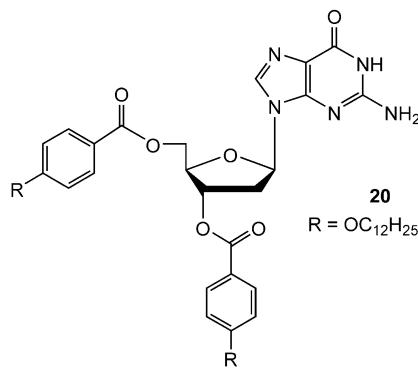
tiden und Oligonukleotiden trägt der Wasserstoffbrücken-Ligand eine anionische Phosphatgruppe. Bei Nukleosiden ist die Situation anders: Hier wird ein Gegenanion für das im G-Quartett gebundene Kation benötigt. Unsere Untersuchungen an lipophilen G-Quadruplexen in organischen Solventien lassen darauf schließen, dass Anionen die Eigenschaften des G-Quartetts tatsächlich signifikant beeinflussen können.

Gottarelli et al. entdeckten, dass das lipophile Desoxyguanosinderivat **20** ein K^+ -Salz von N-Dinitrophenyl-L-trypophan mit einer Enantioselektivität von 3:1 gegenüber dem D-Trp-Enantiomer aus Wasser in CDCl_3 extrahiert.^[241] Dieses Ergebnis war ein Hinweis auf anziehende Wechselwirkungen zwischen Anionen und dem chiralen G-Quadruplex aus **20** und K^+ .

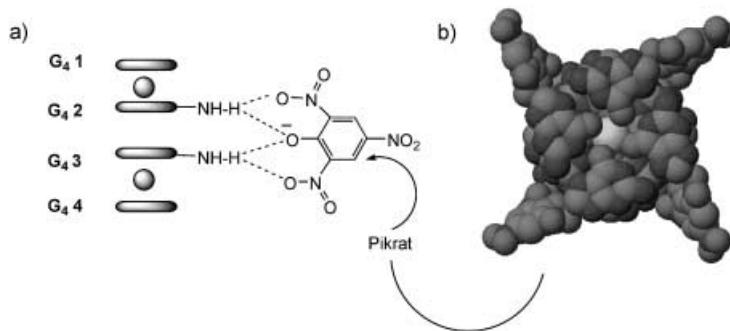
Wir stellten ebenfalls fest, dass lipophile G-Quadruplex-Anionen binden. Durch Selbstaggregation von G (1) entsteht eine Struktur, die wir als einen Ionenpaar-Rezeptor betrach-

ten.^[32,242] Die meisten Ionenpaar-Rezeptoren sind ditopisch, d.h. Einzelmoleküle mit vorgefertigten Kation- und Anionbindungsstellen.^[243] Dagegen werden die allosterischen Ionenbindungsstellen im G-Quadruplex von einem Netzwerk aus nichtkovalenten Wechselwirkungen gebildet.^[244] An kationischen Templaten werden die G-Quartette so gestapelt, dass ihre N2-Aminogruppen Wasserstoffbrückenbindungsstellen für Anionen präsentieren. Die Stabilität des G-Quadruplex ist größtenteils auf die vier Pikrat-Ionen zurückzuführen, die diese inneren G-Quartette wie eine Klammer zusammenhalten (Abbildung 29). Darüber hinaus bleiben die Pikrat-Ionen auch in Lösung an den G-Quadruplex gebunden, und das Anion kann die kinetische Stabilität des Aggregats weitgehend regulieren. So haben NMR-Experimente gezeigt, dass das Anion die Geschwindigkeit der Umlagerung von $[\mathbf{1}]_8 \cdot \text{M}^{2+}$ -Octameren in zwei unterschiedliche Hexadecamere steuert. Beispielsweise bildete sich aus einem 1:1-Gemisch der Ba^{2+} - und Sr^{2+} -G-Quadruplex das „gemischte“ Hexadecamer $[\mathbf{1}]_8 \cdot \text{Ba}^{2+} \cdot [\mathbf{1}]_8 \cdot \text{Sr}^{2+} \cdot 4\text{pic}^-$ mit Pikrat als Anion 100-mal langsamer als mit dem SCN^- -Ion.^[32] Das dreizähnige Pikrat-Ion kann mit den exocyclischen N2-Aminogruppen des G-Quadruplex ein stärkeres Wasserstoffbrückennetz eingehen als das einzähnige Thiocyanat-Ion.

Die Umlagerung der Octamere $[\mathbf{1}]_8 \cdot \text{M}^{2+}$ lässt sich durch Erhöhen der Anionbasizität völlig zum Stillstand bringen. So war mit dem 2,6-Dinitrophenolat-Ion (2,6-DNP), das basischer als Pikrat ist, auch zwei Monate nach Mischen der Ba^{2+} -



und Sr^{2+} -G-Quadruplexe in CD_2Cl_2 kein Isomerisierungsprodukt $[\mathbf{1}]_8 \cdot \text{Ba}^{2+} \cdot [\mathbf{1}]_8 \cdot \text{Sr}^{2+} \cdot 4(2,6\text{-DNP})^-$ nachweisbar.^[242] Diese Studien zeigen, dass nichtkovalente Aggregate durch periphere nichtkovalente Wechselwirkungen fixiert werden



können, woraus sich Perspektiven für eine regioselektive Modifizierung von G-Quadruplexen ergeben.

4.7. Dynamischer Austausch in selbstorganisierten Ionophoren

Zwischen den Bausteinen und gebundenen Gästen nicht-kovalenter Aggregate und den freien Komponenten in Lösung findet ein Austausch statt (Abbildung 30).^[245] Die Quantifizierung solcher dynamischer Prozesse ist wichtig, um die Mechanismen der Selbstorganisation zu klären.^[68] Diese mechanistischen Einblicke werden in Verbindung mit strukturellen Kenntnissen sicherlich als Richtschnur beim Design von verbesserten selbstorganisierenden Systemen dienen.

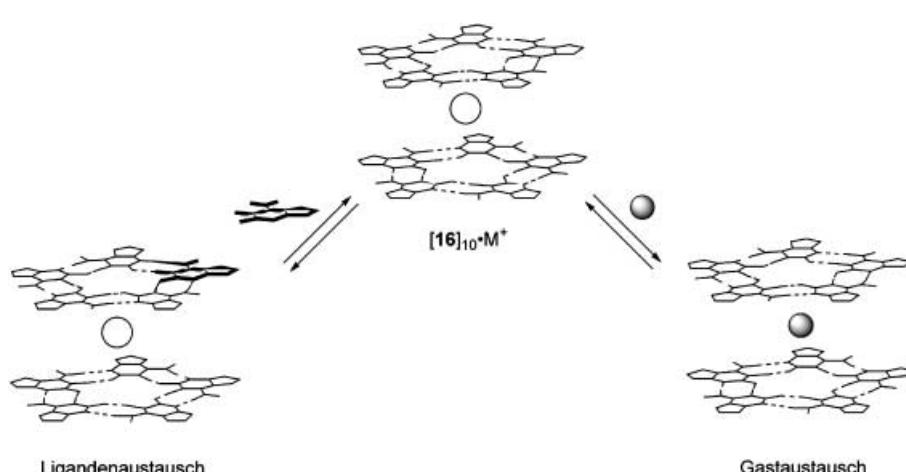
Wir untersuchten die dynamischen Eigenschaften der Decamere $[16]_{10}\text{M}^+$ in organischen Solventien durch ^1H - ^1H - und ^7Li - ^7Li -EXSY-NMR- und ^{133}Cs -NMR-Spektroskopie (EXSY = exchange spectroscopy).^[235, 236] Das Decamer $[16]_{10}\text{Cs}^+$ ist zwar thermodynamisch stabil, gegen Cs^+ -Austausch aber kinetisch labil. Dieser dynamische Ionenaus-

tausch ist erwünscht, wenn man die Komplexe für die Trennung und den Transport von Ionen einsetzen möchte. Wir untersuchten die Austauschprozesse an $[16]_{10}\text{Cs}^+$ in CDCl_3 durch ^{133}Cs - und ^1H -NMR-Spektroskopie und stellten fest, dass der Austausch zwischen dem Cs^+ -Gast und freiem Cs^+ 40 000-mal schneller abläuft als der Austausch zwischen gebundenem und „freiem“ isoG (**16**). Diese deutlich unterschiedlichen Austauschgeschwindigkeiten lassen darauf schließen, dass der Kationenaustausch ohne vollständige Dissoziation des wasserstoffverbrückten Komplexes erfolgt. Die Stärke der Wasserstoffbrücke im isoG-Decamer hängt in der Reihe $[16]_{10}\text{M}^+$ ($\text{M} = \text{Li}, \text{Na}, \text{K}, \text{Rb}, \text{Cs}$) auch von der Art des kationischen Gastes ab. So war der Austausch von isoG (**16**) zwischen gebundenen und freien Positionen im Cs^+ -Decamer $[16]_{10}\text{Cs}^+$ zehn- bis hundertmal langsamer als bei den Decameren mit anderen Alkalimetall-Ionen. Dieses Ergebnis verdeutlicht auch das ausgeprägte Zusammenwirken der Kräfte in selbstorganisierten Ionophoren; demnach erhöht das gebundene Cs^+ -Ion die kinetische Stabilität des Aggregats, indem es das Wasserstoffbrückennetz verstärkt.^[235]

4.8. Wozu dienen selbstorganisierte Ionophore?

Bei kovalent bindenden Ionophoren wie Kronenethern und Calixarenen sind die Bindungsstellen bereits in den Gerüsten eingebaut.^[246, 247] Diese Präorganisation ermöglicht zwar eine starke Ionenbindung, oft ist aber ein beträchtlicher Syntheseaufwand nötig, um die Konformation zu fixieren. Alternativ können nichtkovalente Wechselwirkungen genutzt werden, um selbstorganisierte Ionophore effizienter herzustellen.^[206, 208, 240] Abgesehen davon, dass sie synthetisch besser zugänglich sind, haben selbstorganisierte Ionophore noch weitere Vorteile gegenüber ihren kovalenten Gegenstücken. Insbesondere sollten sich diese dynamischen Aggregate einfach durch Änderung von Lösungsmittel, Temperatur oder pH reversibel auf- und abbauen lassen.

Das Radionuklid $^{137}\text{Cs}^+$ ist eine Hauptverunreinigung in radioaktivem Abfall.^[248] Als eine zentrale Aufgabe bei der Abtrennung von $^{137}\text{Cs}^+$ muss eine hinreichende Selektivität erreicht werden, denn der Abfall enthält mehr Na^+ und K^+ als Cs^+ , und die selektive Extraktion von Cs^+ ist wegen dessen Größe ($r = 1.67 \text{ \AA}$) in Gegenwart von Na^+ ($r = 0.97 \text{ \AA}$) und K^+ ($r = 1.33 \text{ \AA}$) schwierig. Die Cs^+ -Selektivität großer Kronenether ([21]Krone-7- und [24]Krone-8-Derivate) ist wegen deren Flexibilität im Allgemeinen nur mäßig.^[249–252] Bessere Ergebnisse wurden mit eher starren Makrocyclen wie den



Calix[4]aren-Kronenethern erzielt.^[253,254] Die Cs^+ -Bindungskonstanten und die Cs^+/M^+ -Selektivität dieser Makrocyclen sind zwar oft beeindruckend, ihre Synthese kann aber sehr kostspielig sein. Wie bereits erwähnt, kann isoG (**16**) Cs^+ mit hoher Affinität und Selektivität binden, wobei im festen und im gelösten Zustand das wasserstoffverbrückte Decamer $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{Cs}^+$ gebildet wird (Abbildung 31).^[221,222] In Konkurrenzversuchen konnte das selbstorganisierende isoG (**16**) gebundenes Cs^+ quantitativ aus einem Calix[4]aren-Kronenether entfernen.^[240] Der aus isoG (**16**) durch Selbstaggregation gebildete Ionophor gehört zu den stärksten und selektivsten bisher bekannten Cs^+ -Ionophoren.

Das lipophile Decamer $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{Cs}^+$ ermöglicht auch den selektiven Cs^+ -Transport durch organische Membranen. Lamb et al. haben gezeigt, dass dieses Aggregat CsNO_3 mit hervorragender Cs^+ -Selektivität und Cs^+ -Transportgeschwindigkeit durch Flüssigphasenmembranen (BLMs, „bulk liquid membranes“) und Polymereinschlussmembranen (PIMs, „polymer inclusion membranes“) transportiert (Tabelle 3).^[255] Die Cs^+/Na^+ -Transportselektivität von isoG (**16**) lag bei den PIM-Versuchen durchweg über 5000:1 und erreichte bei 6 mM $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{Cs}^+$ ein Verhältnis von 10000:1. Bezuglich Cs^+ -Transportgeschwindigkeit und Cs^+ -Selektivität konkurriert das selbstorganisierte Decamer $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{Cs}^+$ mit den Calix[4]aren-Kronenethern, die derzeit als Extraktionsmittel für die Wiederaufarbeitung radioaktiver Abfälle untersucht werden.^[255,256] Die Ergebnisse zum Membrantransport mit $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{Cs}^+$ sind im Hinblick auf die Verwendung von selbstorganisierten Ionophoren bei Trennungen und bei der Wiederaufarbeitung von Abfällen vielversprechend.

4.9. Synthetische Ionenkanäle: erste Ansätze

Lipophile G-Quartette kommen als Gerüste zur Anbringung funktionaler Aggregate infrage. Im Hinblick auf die künstliche Photosynthese beschrieben Masiero et al. ein

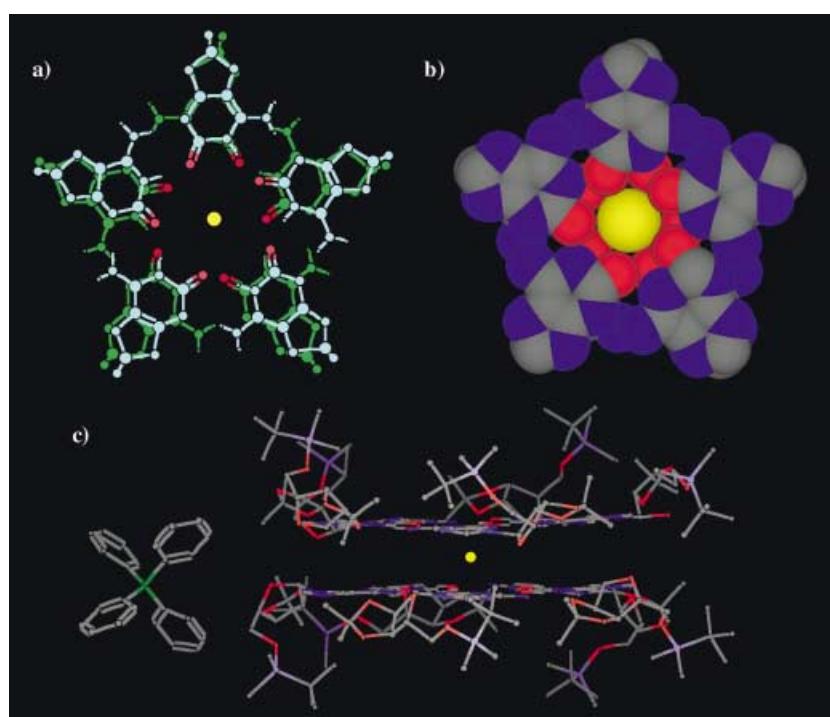


Abbildung 31. Struktur von $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{Cs}^+\text{Ph}_4\text{B}^-$ im Kristall: a) Ansicht von oben (die Zuckereinheiten wurden der Übersicht wegen weggelassen); ein isoG-Pentamer ist blau, das andere grün dargestellt. b) Kalottenmodell; das Cs^+ -Ion ist an zehn Carbonylsauerstoffatome gebunden, der mittlere Abstand beträgt $d_{\text{Cs},\text{O}} = 3.40 \text{ \AA}$. c) Seitenansicht (einige Riboseatome wurden der Übersicht wegen weggelassen), die die beiden planaren isoG-Pentamere erkennen lässt, die das Cs^+ sandwichartig einschließen.^[221]

lipophiles Guanosin mit einem Porphyrinchromophor.^[257] Die erhaltenen CD- und NMR-Spektren ließen auf die Bildung eines supramolekularen Komplexes mit einem G_8K^+ -Octamer und acht Porphyrinen schließen.

Unsere Arbeitsgruppe untersucht gegenwärtig die Möglichkeit, den G-Quadruplex zum Aufbau von Transmembran-Ionenkanälen zu nutzen. NMR-Untersuchungen zufolge öffnen sich die Basenpaare in DNA-G-Quadruplexen nur langsam, und die Dissoziation des G-Quadruplex dauert häufig Tage oder Wochen. Dennoch bleiben K^+ -Ionen nur Millisekunden gebunden,^[258] woraus zu schließen ist, dass sich die Ionen ohne Aufbrechen des G-Quartetts bewegen, sodass der G-Quadruplex einem Ionenkanal gleicht. Feigon et al. konnten nachweisen, dass NH_4^+ -Ionen durch die Enden des G-Quadruplex ein- und austreten und nahmen daher ebenfalls an, dass derartige Strukturen Ionenkanälen ähnlich sind.^[212]

Tabelle 3: Cs^+ -selektives Ionophor. Anteil und Permeabilität von Kationen und Selektivität (Cs^+/Na^+) beim Transport durch Polymereinschlussmembranen mit präkomplexiertem $[\mathbf{16}]_{10}\cdot\text{CsBPh}_4$.^[a,b]

$c([\mathbf{16}]_{10}) [\text{mM}]$	Transport [%]		Cs^+	Permeabilität [m s^{-1}]	Selektivität (Cs^+/Na^+)
	Cs^+	Na^+			
1.1	16.5	0.002		2.1×10^{-7}	2.8×10^{-11}
2.1	31	0.004		4.4×10^{-7}	8.3×10^{-11}
4.1	44.5	0.004		6.4×10^{-7}	8.3×10^{-11}
6.2	53	0.004		8.0×10^{-7}	8.3×10^{-11}

[a] Transportbedingungen: Ausgangsphase: 1.0 mM $\text{CsNO}_3 + 50 \text{ mM NaNO}_3$ in Wasser, Carrier: $[\mathbf{16}]_{10}$. Auffangphase: 0.5 M HNO_3 . Gesamttransportzeit 24 h. [b] Die Werte stammen aus Lit. [255].

Neben mehreren anderen Entwürfen^[259–261] wurde auch das G-Quartett als Gerüst für den Aufbau synthetischer Ionenkanäle in Betracht gezogen.^[29, 262, 263] In diesem Zusammenhang untersuchten wir die Selbstorganisation von **21**, einem mit vier Guanosineinheiten verknüpften Calix[4]aren (Abbildung 32).^[263] Bei Zugabe des Kations orientiert die 1,3-alternierende Konformation des Calixarens orthogonale G-

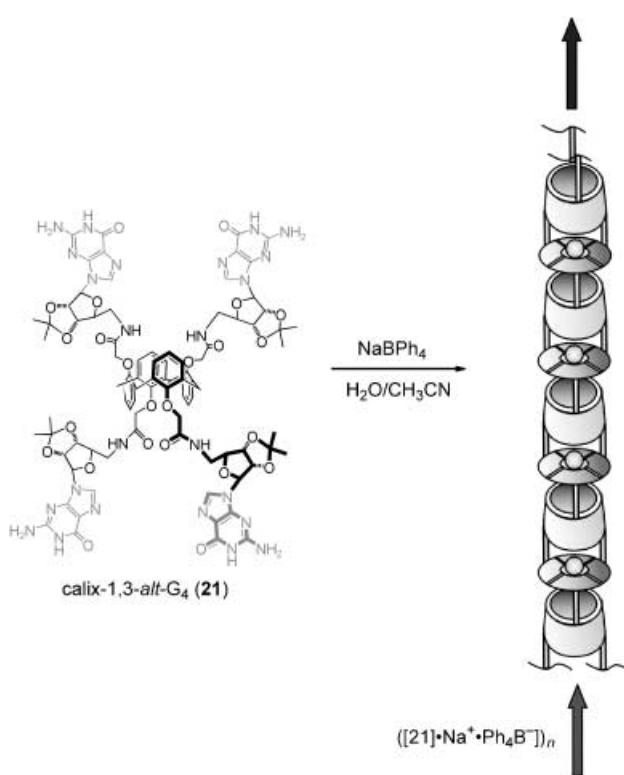


Abbildung 32. Das Guanosin-Calix[4]aren-1,3-*alt* **21** bildet in Gegenwart von Alkalimetallionen unter Selbstorganisation eine eindimensionale „Nanoröhre“, der vermutlich ein G-Quartettpolymer zugrunde liegt.^[263]

Nucleosidpaare zu intermolekularen G-Quartetts. Wir kamen zu dem Schluss, dass eine röhrenförmige Struktur mit einem Kanal aus alternierenden G-Quartetts und Calixarenmakrocyclen entsteht, wenn die G-Einheiten an beiden Seiten von **21** an einem kationischen Templat selbstassoziiieren. Die Zugabe von NaBPh_4 zu einer Lösung von **21** lieferte ein nichtkovalentes Polymer, das aus der Lösung ausfiel. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung des Feststoffs ließ mikrometerlange Stränge und Bündel (mit 3 bzw. 50 nm Durchmesser) erkennen. Die Größe der Einzelstränge entspricht etwa der eines G-Quartetts, das einen Durchmesser von 2.5 nm hat.^[29] Das nichtkovalente Polymer löste sich beim Erhitzen oder Ansäuern, was darauf schließen lässt, dass 1) das wasserstoffverbrückte Aggregat eine weit reichende Organisation steuern kann und 2) die Selbstassoziation von **21** reversibel ist. Derzeit prüfen wir, ob sich **21** und seine Derivate als synthetische Ionenkanäle eignen.

5. Selbstorganisation von Guanosin in Materialwissenschaft, Biosensor-Design und Nanotechnologie

„Quadruplexes show promise as components for nanowires, ion channels, and building blocks for directing the assembly of nanoscale components into sophisticated structures.“

M. Keniry^[10]

Das noch junge Gebiet der Nanotechnologie beruht auf der kontrollierten Anordnung von Molekülen im Nanometer- bis Mikrometermaßstab. Der viersträngige G-Quadruplex scheint ideal zu sein, um ein Material in solchen Abständen zu ordnen. Die Selbstorganisation ist eine wirkungsvolle Methode zur Ausrichtung von Molekülen zu bestimmten Mustern. Bereits beschrieben wurde die Verwendung von DNA zur Konstruktion von Nanofunktionseinheiten.^[264, 265] Im Folgenden fassen wir die Studien zum Aufbau supramolekularer Strukturen mit neuen Eigenschaften aus Guanosinderivaten zusammen.

5.1. DNA-Nanostrukturen: G-Drähte, „aufgefaserete“ Drähte und Synapsen

Durch Faserbeugungsstudien an kristallinem GMP und Polyguanylsäure wurde nachgewiesen, dass diese Verbindungen durch Selbstorganisation Stäbchen aus gestapelten G-Quartetts bilden.^[2, 39–41] Später entdeckte man, dass Sequenzen mit 3'-terminalen dG-Reihen zu DNA-Überstrukturen führen. Sen und Gilbert berichteten, dass sich $d(\text{A}_4\text{G}_4)$ zu stabilen Aggregaten ordnet, die wesentlich größer sind als für einen viersträngigen G-Quadruplex $[d(\text{A}_4\text{G}_4)]_4$ zu erwarten wäre.^[266] Die Autoren merkten zwar an, dass die Sequenzen auf unterschiedliche Art aggregieren können, favorisierten aber eine Kopf-Schwanz-Anordnung der G-Quartettzentren zu einem fortlaufenden Polymer, wobei die Poly-A-Enden das Zentrum strahlenförmig umgeben. Auch Guo et al. beobachteten die Aggregation von $d(\text{A}_4\text{G}_4)$ an einem kationischen Templat zu Überstrukturen.^[267]

Mitte der neunziger Jahre bestätigten Henderson und Sheardy et al. die Bildung von nanometergroßen Aggregaten aus G-reicher DNA.^[268–271] Durch Gelelektrophorese wiesen sie nach, dass $d(\text{G}_4\text{T}_2\text{G}_4)$ in Gegenwart von K^+ und Mg^{2+} hochmolekulare Aggregate bildet, die von dem kleineren G-Quadruplex $[d(\text{G}_4\text{T}_2\text{G}_4)]_4$ gut getrennt waren. Diese Polymere waren ungewöhnlich stabil und wurden durch Erhitzen auf 80 °C oder Lösen in 8 M Harnstoff nicht denaturiert. Henderson prägte den Ausdruck „G-Drähte“ für die kontinuierlichen parallelsträngigen DNA-Überstrukturen, die sich bilden, wenn das 5'-Ende eines DNA-Duplex mit G-G-Paaren und das 3'-Ende eines ähnlichen Duplex assoziieren (Abbildung 33).^[268] Laut Kraftmikroskopie (AFM) haben die aus $d(\text{G}_4\text{T}_2\text{G}_4)$ gebildeten G-Drähte eine Länge von 10–1000 nm und eine Dicke von 18–25 Å, die dem Durchmesser des G-Quartetts von 25 Å entspricht.^[269] Auch der Einfluss des Kations auf Struktur und Stabilität des Polymers spricht für die G-Quartettbildung, denn bei Zugabe von Na^+ entstanden längere G-Drähte, die weit weniger komprimier-

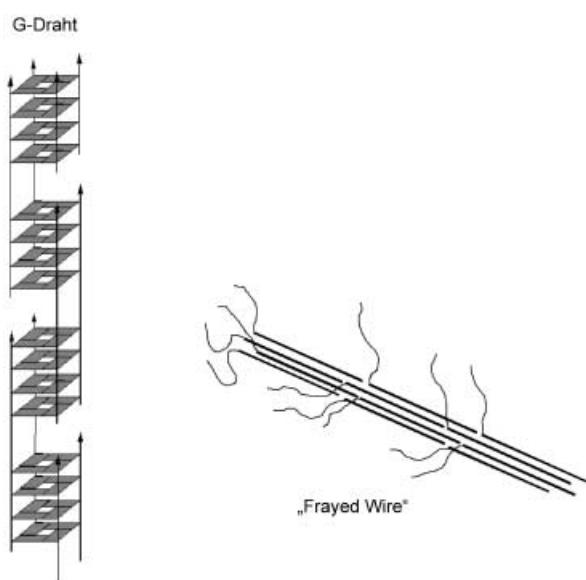


Abbildung 33. Aus G-reichen Oligonukleotiden gebildete Überstrukturen. G-Drähte entstehen durch Assoziation von $d(G_4T_2G_4)$,^[263] „aufgefaserter“ Drähte durch Assoziation von $d(G_{15}A_{15})$. Die G-Reste bilden den Kern, die A₁₅-Fasern ragen strahlenförmig nach außen.^[273]

bar waren als Duplex-DNA auf Glimmer. Es wurde vorgeschlagen, dass G-Drähte in der Nanotechnologie, der Nanoelektronik und der Entwicklung von Biosensoren eingesetzt werden könnten. Chen konnte nachweisen, dass bestimmte G/C-Sequenzen unter sauren Bedingungen vernetzte G-Drähte bilden.^[272] Er postulierte, dass die Sequenz CGG C-CH⁺-Basenpaare nutzt, um G-Drähte zu einer Dendrimerstruktur zu verbrücken.

Macgregor et al. identifizierten DNA-Sequenzen, $d(A_{15}G_{15})$ und $d(T_{15}G_{15})$, die in Gegenwart von K⁺ kontinuierliche Strukturen bilden,^[273–277] und bezeichneten diese zur Unterscheidung von den G-Drähten als „aufgefaserter Drähte“ („frayed wires“) (Abbildung 33). Als charakteristisches Merkmal haben aufgefaserter Drähte bewegliche A₁₅/T₁₅-Stränge, die strahlenförmig vom inneren Guanointeil ausgehen. Da die N7-Position des Guanosins ohne Strukturänderung alkaliert werden kann, wird der innere Teil vermutlich nicht von typischen G-Quartetts gebildet. Versetzen einer Lösung aus aufgefaserteren $d(A_{15}G_{15})$ -Drähten mit dem einsträngigen T₁₅-Komplement führt zu einer zweidimensionalen Aggregation, die mit AFM beobachtet wurde.^[278] Eine andere Studie, in der die A₁₅-Arme mit Enzymen verknüpft wurden, zeigte potenzielle Anwendungen für aufgefaserter Drähte auf. Durch nichtkovalente Verknüpfung von Avidin-konjugierter Peroxidase mit biotinylierten Armen aufgefaserter Drähte entstand ein Netzwerk, in dem die Struktur und die Enzymaktivität erhalten blieben.^[278]

Sen et al. beschrieben eine Methode zum Aufbau von Nanostrukturen, die auf einer Synapse zwischen zwei DNA-Duplexen basiert.^[279–281] Jeder Duplex enthielt „synaptische Domänen“, d.h. repetitive G-G-Basenpaare, die eingebaut wurden, um die G-Quartettbildung bei der Duplexdimerisierung zu erleichtern (Abbildung 34). Eine interessante Eigen-

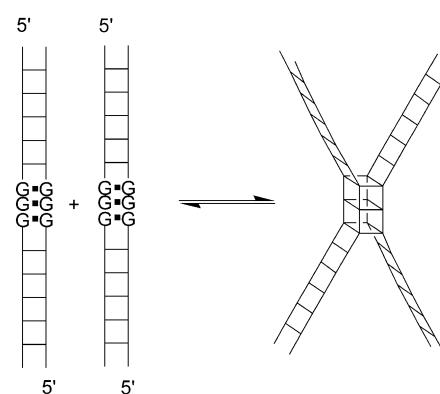


Abbildung 34. Synaptische DNA, aufgebaut durch G-Quartettstrukturen zwischen Duplex-DNA-Strängen mit Mismatch-G-G-Paaren.^[280]

schaft der Synapse ist, dass sie kein Tempern erfordert. Durch Zugabe des Kations zum DNA-Duplex wird die G-Quartettgestützte Dimerisierung unter Bildung von Nanostrukturen ausgelöst. Die Ausbeuten an synaptisch verknüpfter DNA entsprachen der Reihenfolge, die üblicherweise bei der kationischen Stabilisierung von G-Quartetts auftritt ($K^+ > Rb^+ > Na^+ > Li^+, Cs^+ \text{ und } Sr^{2+} > Ba^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$), sodass festgestellt wurde: „Guanine-mediated synapsis ... provides a means for the self-recognition and supramolecular assembly by intact, unmelted DNA double helices under conditions of low temperature and physiological salt.“^[280]

5.2. Biosensoren und „Nanomaschinen“ aus G-Quadruplex-DNA

DNA-Aptamere sind nicht nur potenzielle Therapeutika und Diagnostika (siehe Abschnitte 3.6 und 3.7), sondern finden auch in der bioanalytischen Chemie Anwendung. An G-Quadruplex-DNA als stationärer Phase in der Chromatographie oder Elektrophorese können niedermolekulare Verbindungen und Proteine getrennt werden. McGown et al. berichteten, dass die auf der TBA-Sequenz basierende G-Quadruplex-DNA Nichtzielverbindungen hinreichend selektiv bindet.^[282–284] Demnach sind diese DNA-Aptamere interessante Materialien für stationäre Phasen, denn sie lassen sich leicht synthetisieren und mit Oberflächen verknüpfen, und die Bindungsaffinitäten können durch Sequenzänderungen variiert werden. An diesen G-Quadruplex-Aptameren gelang die Grundlinientrennung der Enantiomere von D,L-Trp und D,L-Tyr und von einem Gemisch aromatischer Kohlenwasserstoffe.^[282] In einer anderen Studie dienten DNA-Aptamere mit intramolekularem G-Quadruplex als stationäre Phase zur Trennung der isomeren Dipeptide Trp-Arg und Arg-Trp.^[283] Außer für Trennungen kleiner Moleküle wurde ein G-Quadruplex-Aptamer auch zur elektrochromatographischen Trennung der Rinder-β-Lactoglobuline A und B eingesetzt, die sich durch nur zwei ihrer 162 Aminosäuren unterscheiden.^[284]

Mit Fluoreszenzfarbstoffen markierte DNA-G-Quadruplex-Aptamere dienten als Prototyp für Biosensoren.^[285–289] So wurde die Sekundärstruktur G-reicher Oligonukleotide durch FRET untersucht.^[290,291] FRET ist ein abstandsabhäng-

giges Verfahren, mit dem sich Konformationsänderungen über Abstände von 10 bis 100 Å nachweisen lassen. Bei geringem Abstand zwischen dem Donorfluorophor und dem Acceptorchromophor ist die Fluoreszenz gelöscht, nimmt der Donor-Acceptor-Abstand aufgrund einer Konformationsänderung zu, erfolgt eine Fluoreszenzverstärkung. Das intramolekulare Falten eines Oligonukleotids zu seiner G-Quadruplexform führt zum FRET zwischen den Donor- und Acceptorfarbstoffen an den 5'- und 3'-Enden. Mit dieser empfindlichen Methode kann man den Einfluss von Kationen, Liganden, Nucleinsäuren und Proteinen auf das Gleichgewicht zwischen ungefalteter und G-Quadruplex-DNA überprüfen. Beispielsweise gelang Takenaka et al. der Nachweis, dass eine zum intramolekularen G-Quadruplex gefaltete Einzelstrang-DNA submikromolare K⁺-Konzentrationen in Wasser erkennt.^[292]

Auch die Bildung von molekularen „Nanomotoren“ aus Einzelstrang-DNA wurde durch FRET untersucht.^[293,294] Li und Tan konnten mithilfe von FRET in Echtzeit beobachten, dass der konformative Wechsel zwischen dem doppelsträngigen Duplex und dem gefalteten G-Quadruplex eine Ausdehnungs- und Schrumpfungsbewegung hervorruft.^[293] In einer ähnlichen Studie fanden Alberti und Mergny heraus, dass das konformative Gleichgewicht zwischen DNA-Duplex und DNA-Quadruplex eine nanomolekulare „Maschine“ definiert.^[294] Die Konformationen einer 21-meren DNA mit 5'-Fluoresceindonor und 3'-Rhodaminacceptor wurden durch FRET nachgewiesen (Abbildung 35). Der Wechsel zwischen dem gefalteten monomolekularen G-Quadruplex und der Duplexkonformation führte zu einer Auslenkung um 5–6 nm und konnte als „maschineller“ Kreisprozess geführt werden, indem nacheinander andere DNA-Stränge als „C-Brennstoff“ und „G-Brennstoff“ zugegeben wurden. Der C-Brennstoff entfaltet den monomolekularen G-Quadruplex und bildet den Duplex, während der G-Brennstoff zur Freisetzung des markierten 21-mer verwendet wird, damit es sich wieder zu einem G-Quadruplex faltet.

5.3. Dynamische Materialien durch Guanosin- und Folat-Selbstorganisation

Neben den G-reichen Oligonukleotiden haben auch kleinere Guanosinderivate ein vielversprechendes Potenzial für Anwendungen in der Nanotechnologie und der Materialwissenschaft. So bilden lipophile Guanosin- und Folat-Derivate dynamische Flüssigkristalle und Gele, deren morphologische Eigenschaften durch Ändern von Ionenbedingungen, Lösungsmittel oder Temperatur gesteuert werden können.

Durch Rasterkraftmikroskopie konnten Gottarelli und Rabe et al. nachweisen, dass Oberflächenänderungen die Struktur des wasserstoffverbrückten Aggregats regulieren.^[295,296] Das lipophile dG (**17**) bildete an K⁺-belegtem Glimmer Filme aus cyclischen G-Quartetts. Wurde das K⁺ von der Oberfläche abgewaschen, bildete dG (**17**) ausgedehnte Bänder, in Einklang mit den vorher beobachteten Wasserstoffbrückenmustern in Lösung und im festen Zustand.^[297,298] Weiter wurde beobachtet, dass lipophile Guanosine wie dG (**17**) ohne Kationen in organischen

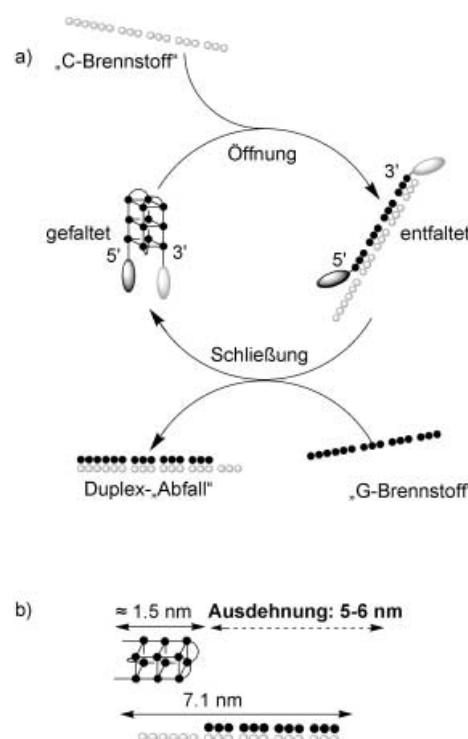


Abbildung 35. G-Quadruplex-„Nanomaschine“.^[294] Der experimentelle Entwurf ähnelt einem von Li und Tan beschriebenen System.^[293] a) Umschalten zwischen einem intramolekularen Quadruplex (links) und einem Duplex (rechts): Durch Faltung eines G-reichen Oligonukleotids entsteht ein intramolekularer Quadruplex, in dem gebundenen Fluorescein- und Rhodamingruppen (Ovale) ein effizienter FRET erfolgt. Der „C-Brennstoff“-Strang ist komplementär zur G-reichen Sequenz. b) Durch Faltung und Entfaltung des G-Quadruplex induzierte Bewegung.

Solvantien Flüssigkristalle und Gele bilden. Durch ESI-MS, NMR-Spektroskopie in Lösung und Kristallstrukturanalyse konnten die Autoren nachweisen, dass diese Guanosinderivate zwei unterschiedliche wasserstoffverbrückte Bänder aufbauen (Abbildung 36).^[295,296] Eines dieser Bänder hatte ein Gesamtdipolmoment (Band A), das andere nicht (Band B). Das Bandmuster kann über den Nucleosidzucker und das Solvens gesteuert werden. Einige dieser lipophilen Guanosinderivate sind vielversprechende Gelbildner, die bei Grenzkonzentrationen von nur 2–4 Gew.-% organische Lösungsmittel immobilisieren können.^[299]

Da Folsäure (**22**) und Guanosin ähnliche Wasserstoffbrückenmuster aufweisen, sollten auch Folate cyclische Tetramere bilden. Anfang der 90er Jahre beschrieben Gottarelli et al. die kationenabhängige Selbstorganisation von Folsäure in Wasser.^[300] Selbst bei Konzentrationen von nur 1 Gew.-% bildete Kaliumfolat Flüssigkristalle aus hexagonal gepackten Säulen aus gestapelten Folattetrameren.^[301,302] Kato et al. haben den kationengesteuerten Aufbau lipphiler Folate in organischen Solventien weiter untersucht, wobei sich ihr Interesse auf die Steuerung der dynamischen Aggregation und die Materialeigenschaften richtete.^[303,304]

Ein Flüssigkristall nimmt eine Mittelstellung zwischen einem geordneten Kristall und einer ungeordneten Flüssig-

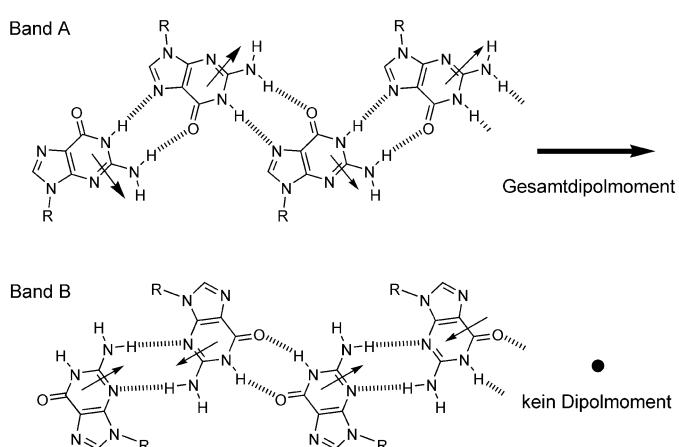
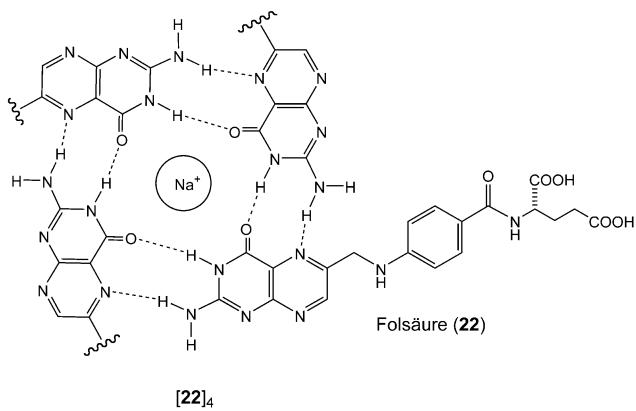


Abbildung 36. Zwei unterschiedliche wasserstoffverbrückte Bänder, die durch Selbstorganisation von lipophilem dG (17) entstehen. Band A hat ein Dipolmoment, Band B nicht.^[295,296] R = modifizierte Desoxyribose.



[22]⁴

keit ein.^[305] Materialien, die ohne Lösungsmittel Flüssigkristalle bilden, sind thermotrope Flüssigkristalle, und die Phasenübergänge gehen mit Temperaturänderungen einher. Die meisten thermotropen Flüssigkristalle entstehen aus stäbchenförmigen Verbindungen mit aromatischem Zentrum und flexiblen Seitenketten. Diese Substanzen bilden unterschiedliche Arten von Flüssigkristallen, z.B. nematische, smektische und diskotische Phasen. Die nematische Phase ist ein Fluid, in dem die Moleküle eindimensional parallel zu einer Molekülachse ausgerichtet, aber sonst ungeordnet sind. In smektischen Phasen sind gerichtete Moleküle in Schichten angeordnet, die eine Positionsnahordnung aufweisen. In diskotischen Flüssigkristallen reicht die Positionsordnung der cyclischen Zentren sogar noch weiter. Zur Bildung diskotischer Flüssigkristalle wurden insbesondere wasserstoffverbrückte Aggregate eingesetzt.^[306,307]

Kato et al. berichteten, dass bei Folat-Flüssigkristallen durch Temperatur und Kationen eine Phasenänderung induziert wird. Wie Röntgenbeugung und IR-Spektroskopie belegen,

bilden lipophile Folate mit 2-(3,4-Dialkoxyphenyl)ethyl-Substituenten thermotrope Flüssigkristalle (Abbildung 37).^[308] Abhängig von den Bedingungen können zwei flüssigkristalline Phasen entstehen, eine smektische und eine kolumnardiskotische Phase. Ähnlich wie bei dG (17) entsteht durch Wasserstoffbrücken zwischen den Pterinringen des Folats eine selbstassoziierte Bandstruktur – die Basis der smektischen Phase. Dagegen bildet der Folatring in Gegenwart eines Kations ein cyclisches Tetramer, das zu einem kolumnardiskotischen Flüssigkristall führt. Durch Zugabe von Alkalimetallsalzen ließ sich die smektische Phase in die hexagonale diskotische Phase überführen.^[309] Auch die Polarität des Lösungsmittels induziert den Wechsel der flüssigkristallinen Organisation von Bändern zu Scheiben, da weniger polare Solventien die cyclische wasserstoffverbrückte Form begünstigen.^[310] Dass Kationen und Lösungsmittel die Umlagerung vom wasserstoffverbrückten Band zum cyclischen Tetramer auslösen können, lässt den Schluss zu, dass Folat-Flüssigkristalle dynamische Stoffe sind, die ihre Struktur und ihre Eigenschaften als Reaktion auf einen externen Reiz ändern können.

5.4. Organische Halbleiter aus wasserstoffverbrückten Guanosinen

1975 postulierten Aviram und Ratner, dass organische Verbindungen Ladung transportieren könnten.^[311] Heute tritt das Potenzial der molekularen Elektronik angesichts der Miniaturisierung von Halbleiterbauelementen sehr deutlich hervor.^[312] Versuche mit DNA lassen darauf schließen, dass die Selbstorganisation von Biomolekülen ein praktikabler Ansatz für eine Elektronenleitung ist.^[313,314]

In dieser Hinsicht sind Guanin-Derivate vielversprechende Kandidaten für einen Elektronentransport. Guanin hat unter den Nucleobasen das niedrigste Oxidationspotential und bildet zahlreiche geordnete Strukturen. Rinaldi et al. konstruierten ein Halbleiterelement mit dG (17) als Brückenelektroden.^[315] In Übereinstimmung mit früheren AFM- und Beugungsdaten wurde durch Kraftmikroskopie nachge-

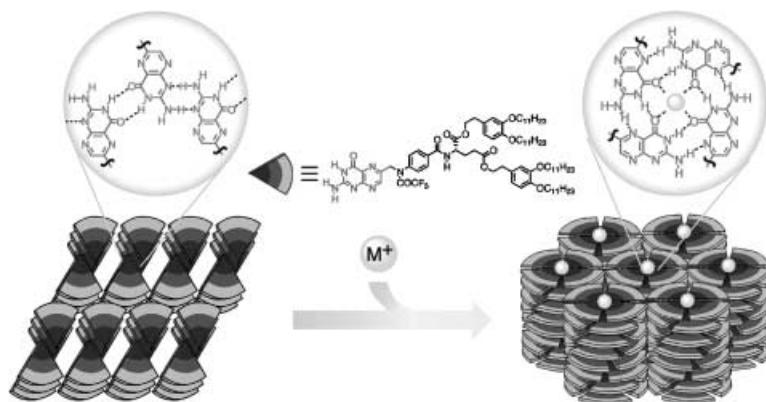


Abbildung 37. Selbstaggregation lipophiler Folsäure-Derivate.^[303] Als Reaktion auf Ionen werden selbstorganisierte Flüssigkristalle gebildet. Die Bandstrukturen eines Folsäure-Derivats werden an einem ionischen Templat in diskotische Tetramere überführt.

wiesen, dass beim Verdampfen einer CHCl_3 -Lösung von dG (**17**) an der Oberfläche des Bauelements wasserstoffverbrückte Bänder entstehen. Strom-Spannungs(*I-V*)-Messungen an diesem Bauelement ergaben hohe Leitfähigkeit, wenn der Elektrodenabstand weniger als 100 nm betrug.^[315,316] Die für eine molekulare Gleichrichtung charakteristischen asymmetrischen *I-V*-Kurven wurden dem Dipolmoment zugeschrieben, das bei der Selbstassoziation von dG (**17**) zum wasserstoffverbrückten Band entsteht (Band A in Abbildung 36). Ab-initio-Rechnungen lassen darauf schließen, dass dG (**17**) durch die Orbitalüberlappung gestapelter Bänder und nicht über intermolekulare Wasserstoffbrücken leitet.^[317,318] Eine Herausforderung besteht darin, diese kristallinen Substanzen so auszurichten, dass sie über größere Distanzen Strom leiten können. Dann könnten die molekulare Selbstorganisation lipophiler dG-Derivate und die Lithographie zu nützlichen Bauelementen gekoppelt werden.

6. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Aufsatz wurden unterschiedliche Gebiete der Chemie angesprochen, in denen das G-Quartett als Strukturmotiv von Bedeutung ist. Drei Jahrzehnte nach seiner Entdeckung in 5'-GMP-Gelen erkannte man aufgrund der biologischen Zusammenhänge mit der G-Quadruplex-DNA die wirkliche Bedeutung des G-Quartetts. Dementsprechend beschleunigte sich die Strukturaufklärung von Nucleinsäure-G-Quadruplexen in den letzten zehn Jahren. 1992 gab es in der Protein Data Bank nur zwei Einträge über G-Quadruplexe, zehn Jahre später sind mehr als 35 G-Quadruplexstrukturen hinterlegt, darunter neun Strukturen im Kristall. Diese Daten liefern eine Fülle von Informationen über die nichtkovalenten Wechselwirkungen, die für die Selbstorganisation G-reicher Nucleinsäuren sorgen. In Zukunft werden weitere Strukturen von G-Quadruplexkomplexen mit Proteinen und Liganden benötigt werden, die ersten drei Beispiele wurden erst kürzlich veröffentlicht.^[59,190,191] Detaillierte Informationen über Protein- und Ligandkomplexe mit G-Quadruplexen werden dazu beitragen, die molekulare Erkennung von G-Quadruplexen besser zu verstehen und das Wirkstoff-Design zu verbessern.

Die herausragendste Aufgabe des G-Quartetts steht im Zusammenhang mit seinem Potenzial zur Vermittlung von *In-vivo*-Prozessen, und dabei in erster Linie solchen, die mit der Struktur und Funktion des Telomers verbunden sind. Telomerase ist ein wichtiges Target von Tumortherapeutika, und auf diesem Gebiet wird intensiv geforscht. Eine Suche im Web of Science ergab 1990 für Telomerase nur sieben Zitate, 2002 wurden bereits über 750 Treffer gezählt. Die Entwicklung von Wirkstoffen, die mit dem G-Quadruplex unter Telomerase-Inhibition wechselwirken, wird sich fortsetzen. Die größte Herausforderung bei der Suche nach geeigneten Verbindungen für klinische Tests wird darin bestehen, nicht-toxische Wirkstoffe zu identifizieren, die wirklich selektiv für den G-Quadruplex sind.^[178]

Nicht zu vergessen sind die vielen nichtmedizinischen Aspekte der G-Quartetts. Aus der Supramolekularen Chemie haben wir viel über die Nutzung nichtkovaler Wechsel-

wirkungen zum Aufbau großer und funktionaler Aggregate erfahren. Mit der Entwicklung der Nanotechnologie wird das Interesse an der Anwendung von nichtkovalenten Strukturen für spezifische Aufgaben zunehmen. Nützliche Vorlagen stammen oft aus der Natur. Das G-Quartett ist ein ausgezeichnetes Beispiel für ein natürliches System, das sich für synthetische Veränderungen eignet, mit denen Struktur und Dynamik der molekularen Selbstorganisation untersucht werden können. Es kann zudem das Design neuartiger und nützlicher synthetischer Aggregate inspirieren. Die Verwendung des G-Quartetts und ähnlicher Strukturmotive zur Bildung von selbstorganisierten Ionophoren, synthetischen Kanälen, dynamischen Flüssigkristallen, nichtkovalenten Polymeren, „Nanomaschinen“, Biosensoren, therapeutischen Aptameren, chromatographischen Trägern, neuartigen PNA-Aggregaten und molekularelektronischen Bauelementen sind ein Beweis dafür, wie Konzepte aus der Biologie und der Supramolekularen Chemie sehr gut miteinander verschmelzen können.

Meinen Mitarbeitern Sampath Tirumala, Allison Marlow, Mangmang Cai, Scott Forman, Mike Shi, Frank Kotch und Vladimir Sidorov danke ich für ihren begeisterten Einsatz bei der Untersuchung der Selbstorganisation von Guanosin. Dr. Jim Fettinger danke ich für die Bestimmung der Kristallstrukturen dieser nichtkovalenten Aggregate. Prof. Giovanni Gottarelli und seinen Mitarbeitern an der Universität Bologna gilt mein Dank für die langjährige fruchtbare Zusammenarbeit. Ich danke Prof. David Reinhoudt und seiner Arbeitsgruppe an der Universität Twente für ihre Gastfreundschaft während eines Sabbaticals; in dieser Zeit entstand auch dieser Aufsatz. Prof. Frank Seela (Osnabrück) und den Gutachtern danke ich für hilfreiche Anmerkungen zum Manuskript. Ferner danke ich Fijis van Leeuwen (Twente) und Frank Kotch (Maryland) für die Abbildungen und Prof. Geoff Oxford (York) für die Aufnahmen der Guaninkristalle in Abbildung 6. Dem US Department of Energy (BES, Separations and Analysis), der Dreyfus Foundation und dem TEDCO Program von Maryland danke ich für finanzielle Unterstützung.

Eingegangen am 19. Februar 2003 [A589]
Übersetzt von Dr. Kathrin-M. Roy, Langenfeld

-
- [1] W. Guschlbauer, J. F. Chantot, D. Thiele, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1990**, 8, 491–511.
 - [2] M. Gellert, M. N. Lipsett, D. R. Davies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1962**, 48, 2013–2018.
 - [3] E. Henderson, C. C. Hardin, S. K. Walk, I. Tinoco, E. H. Blackburn, *Cell* **1987**, 51, 899–908.
 - [4] J. R. Williamson, M. K. Raghuraman, T. R. Cech, *Cell* **1989**, 59, 871–880.
 - [5] J. R. Williamson, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, 3, 357–362.
 - [6] J. R. Williamson, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1994**, 23, 703–730.
 - [7] G. Gottarelli, G. P. Spada, A. Garbesi in *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Vol. 9 (Hrsg.: J.-P. Sauvage, M. W. Hossieni), Elsevier, Rugby, **1996**, S. 483.
 - [8] D. E. Gilbert, J. Feigon, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, 9, 305–314.
 - [9] J. Sühnel, *Biopolymers* **2001**, 56, 32–51.

- [10] M. Keniry, *Biopolymers* **2001**, *56*, 123–146.
- [11] C. G. Hardin, A. G. Perry, K. White, *Biopolymers* **2001**, *56*, 147–194.
- [12] I. Smirnov, R. H. Shafer, *Biopolymers* **2001**, *56*, 209–227.
- [13] T. Simonsson, *Biol. Chem.* **2001**, *382*, 621–628.
- [14] H. Arthanari, P. H. Bolton, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 221–230.
- [15] J. S. Lindsey, *New J. Chem.* **1991**, *15*, 153–180.
- [16] D. S. Lawrence, T. Jiang, M. Levett, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2229–2260.
- [17] D. Philp, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1242–1286; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1154–1196.
- [18] S. C. Zimmerman, P. S. Corbin, *Struct. Bonding (Berlin)* **2000**, *96*, 63–94.
- [19] T. Kato, *Struct. Bonding (Berlin)* **2000**, *96*, 95–146.
- [20] S. Leininger, B. Olenyuk, P. J. Stang, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 853–907.
- [21] M. Fujita, *Struct. Bonding (Berlin)* **2000**, *96*, 177–201.
- [22] L. Brunsved, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 4071–4097.
- [23] G. M. Whitesides, E. E. Simanek, J. P. Mathias, C. T. Seto, D. N. Chin, M. Mammen, D. M. Gordon, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 37–44.
- [24] L. J. Prins, D. N. Reinhoudt, P. Timmerman, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2446–2492; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2383–2426.
- [25] D. N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Science* **2002**, *295*, 2403–2407.
- [26] J. F. Stoddart, H. R. Tseng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4797–4800.
- [27] a) L. M. Greig, D. Philp, *Chem. Soc. Rev.* **2001**, *30*, 287–302; b) R. Fiammengo, M. Crego-Calama, D. N. Reinhoudt, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 660–673.
- [28] V. Balzani, A. Credi, F. M. Raymo, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3484–3530; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3348–3391.
- [29] K⁺: S. L. Forman, J. C. Fettinger, S. Pieraccini, G. Gottarelli, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4060–4067.
- [30] Pb²⁺: F. W. Kotch, J. C. Fettinger, J. T. Davis, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3277–3280.
- [31] Ba²⁺: X. D. Shi, J. C. Fettinger, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6738–6739.
- [32] Si²⁺: X. Shi, J. C. Fettinger, J. T. Davis, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2909–2913; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2827–2831.
- [33] Na⁺: A. Wong, J. C. Fettinger, S. L. Forman, J. T. Davis, G. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 742–743.
- [34] Der „Kopf“ des G-Quartetts ist die Seite, bei der die Bewegung vom H-Brücken-Donor NH zum Carbonylacceptor C=O im Uhrzeigersinn erfolgt: F. W. Smith, F. W. Lau, J. Feigon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 10546–10550.
- [35] a) G. S. Oxford, R. G. Gillespie, *Annu. Rev. Entomol.* **1998**, *43*, 619–643; b) G. S. Oxford, *Proc. 17th Europ. Colloq. Arachnology* (Hrsg.: P. A. Seldon), **1998**, S. 121–131.
- [36] R. H. Douglas, J. C. Partridge, N. J. Marshall, *Prog. Retinal Eye Res.* **1998**, *17*, 597–636.
- [37] I. Bang, *Biochem. Z.* **1910**, *26*, 293–296.
- [38] A. Calzolari, R. Di Felice, E. Molinari, A. Garbesi, *Phys. E* **2002**, *13*, 1236–1239.
- [39] P. Tougard, J.-F. Chantot, W. Guschlbauer, *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *308*, 9–16.
- [40] S. B. Zimmerman, G. H. Cohen, D. R. Davies, *J. Mol. Biol.* **1975**, *92*, 181–192.
- [41] S. B. Zimmerman, *J. Mol. Biol.* **1976**, *106*, 663–672.
- [42] J. Fresco, J. Massoulie, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 1352–1353.
- [43] T. J. Pinnavaia, H. T. Miles, E. D. Becker, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 7198–7200.
- [44] T. J. Pinnavaia, C. L. Marshall, C. M. Mettler, C. L. Fisk, H. T. Miles, E. D. Becker, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3625–3627.
- [45] G-Quartett ohne Kation: J. L. Sessler, M. Sathiosatham, K. Doerr, V. Lynch, K. A. Abboud, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1356–1359; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1300–1303.
- [46] E. Bouhoutsos-Brown, C. L. Marshall, T. J. Pinnavaia, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6576–6584.
- [47] M. Borzo, C. Detellier, P. Laszlo, A. Paris, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1124–1134.
- [48] W. Eimer, T. Dorfmüller, *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6790–6800.
- [49] A. A. Lipanov, J. Quintana, R. E. Dickerson, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1990**, *8*, 483–489.
- [50] K. J. Koch, T. Aggerholm, S. C. Nanita, R. G. Cooks, *J. Mass Spectrom.* **2002**, *37*, 676–686.
- [51] T. Aggerholm, S. C. Nanita, K. J. Koch, R. G. Cooks, *J. Mass Spectrom.* **2003**, *38*, 87–97.
- [52] G. Wu, A. Wong, *Chem. Commun.* **2001**, 2658–2659.
- [53] A. Wong, G. Wu, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 579–586.
- [54] J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2455–2463.
- [55] G. R. L. Cousins, S. A. Poulsen, J. K. M. Sanders, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 270–279.
- [56] O. Ramstrom, J.-M. Lehn, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 26–36.
- [57] S. J. Rowan, S. J. Cantrill, G. R. L. Cousins, J. K. M. Sanders, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 938–993; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 898–952.
- [58] J. A. Walmsley, B. L. Sagan, *Biopolymers* **1986**, *25*, 2149–2172.
- [59] M. P. Horvath, S. C. Schultz, *J. Mol. Biol.* **2001**, *310*, 367–377.
- [60] S. Haider, G. N. Parkinson, S. Neidle, *J. Mol. Biol.* **2002**, *320*, 189–200.
- [61] B. L. Feringa, R. A. van Delden, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3624–3645; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3419–3438.
- [62] L. J. Prins, J. Huskens, F. de Jong, P. Timmerman, D. N. Reinhoudt, *Nature* **1999**, *398*, 498–502.
- [63] L. J. Prins, F. de Jong, P. Timmerman, D. N. Reinhoudt, *Nature* **2000**, *408*, 181–184.
- [64] J. H. K. K. Hirschberg, L. Brunsved, A. Ramzi, J. A. J. M. Vekemans, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Nature* **2000**, *407*, 167–170.
- [65] T. Kawasaki, M. Tokuhiro, N. Kimizuka, T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6792–6800.
- [66] H. Fenniri, B.-L. Deng, A. E. Ribbe, K. Hallenga, J. Jacob, P. Thiagarajan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 6487–6492.
- [67] L. Brunsved, J. A. J. M. Vekemans, J. H. K. K. Hirschberg, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4977–4982.
- [68] A. V. Davis, R. M. Yeh, K. N. Raymond, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4793–4796.
- [69] A. Delville, C. Detellier, P. Laszlo, *J. Magn. Reson.* **1979**, *34*, 301–315.
- [70] C. Detellier, P. J. Laszlo, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1135–1141.
- [71] J.-M. Lehn, *Science* **2002**, *295*, 2400–2403.
- [72] P. Mariani, C. Mazabard, A. Garbesi, G. P. Spada, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6369–6373.
- [73] S. Bonazzi, M. Capobianco, M. M. De Morais, A. Garbesi, G. Gottarelli, P. Mariani, M. G. P. Bossi, G. P. Spada, L. Tondelli, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5809–5816.
- [74] a) G. Gottarelli, G. Proni, G. P. Spada, S. Bonazzi, A. Garbesi, F. Ciuchi, P. Mariani, *Biopolymers* **1997**, *42*, 561–574; b) G. Gottarelli, G. Proni, G. P. Spada, *Liq. Cryst.* **1997**, *22*, 563–566; c) G. P. Spada, S. Bonazzi, A. Garbesi, S. Zanella, F. Ciuchi, P. Mariani, *Liq. Cryst.* **1997**, *22*, 341–348.
- [75] D. Sen, W. Gilbert, *Nature* **1988**, *334*, 364–366.
- [76] W. I. Sundquist, A. Klug, *Nature* **1989**, *342*, 825–829.
- [77] a) H. Moine, J. L. Mandel, *Science* **2001**, *294*, 2487–2488; b) C. Schaffer, B. Bardoni, J. L. Mandel, B. Ehresmann, C. Ehresmann, H. Moine, *EMBO J.* **2001**, *20*, 4803–4813.

- [78] a) J. C. Darnell, K. B. Jensen, P. Jin, V. Brown, S. T. Warren, R. B. Darnell, *Cell* **2001**, *107*, 489–499; b) V. Brown, P. Jin, S. Ceman, J. C. Darnell, W. T. O’Donnell, S. A. Tenenbaum, X. K. Jin, Y. Feng, K. D. Wilkinson, J. D. Keene, R. B. Darnell, S. T. Warren, *Cell* **2001**, *107*, 477–487.
- [79] a) A. Siddiqui-Jain, C. L. Grand, D. J. Bearss, L. H. Hurley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 11593–11598; b) zu einem früheren Vorschlag, dass G-Quadruplexe in vivo die c-myc-Genexpression steuern: T. Simonsson, P. Pecinka, M. Kubista, *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 1167–1172.
- [80] J.-F. Rioui, L. Guittat, P. Mailliet, A. Laoui, E. Renou, O. Petitgenet, F. Megnin-Chanet, C. Helene, J.-L. Mergny *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 2672–2677.
- [81] Y. Wang, D. J. Patel, *Biochemistry* **1992**, *31*, 8112–8119.
- [82] a) F. Aboul-ela, A. I. H. Murchie, D. M. J. Lilley, *Nature* **1992**, *360*, 280–282; b) F. Aboul-ela, A. I. H. Murchie, D. G. Norman, D. M. J. Lilley, *J. Mol. Biol.* **1994**, *243*, 458–471.
- [83] G. Laughlan, A. I. H. Murchie, D. G. Norman, M. H. Moore, P. C. E. Moody, D. M. J. Lilley, B. Luisi, *Science* **1994**, *265*, 520–524.
- [84] K. Phillips, Z. Dauter, A. I. H. Murchie, D. M. J. Lilley, B. Luisi, *J. Mol. Biol.* **1997**, *273*, 171–182.
- [85] M. Meyer, T. Steinke, M. Brandl, J. Sühnel, *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 109–124.
- [86] J. Gu, J. Luszczynski, M. Bansal, *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *311*, 209–214.
- [87] N. Spackova, I. Berger, J. Spöner, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5519–5534.
- [88] M. Frank-Kamenetskii, *Nature* **1992**, *356*, 105.
- [89] F. W. Smith, J. Feigon, *Nature* **1992**, *356*, 164–168.
- [90] F. W. Smith, J. Feigon, *Biochemistry* **1993**, *32*, 8682–8692.
- [91] C. Kang, X. H. Zhang, R. Ratliff, R. Moyzis, A. Rich, *Nature* **1992**, *356*, 126–131.
- [92] P. Schultze, N. V. Hud, F. W. Smith, J. Feigon, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 3018–3028.
- [93] J. Chen, D. S. Liu, A. H. F. Lee, J. Y. Qi, A. S. C. Chan, T. H. Li, *Chem. Commun.* **2002**, 2686–2687.
- [94] Y. Wang, D. J. Patel, *Structure* **1993**, *1*, 263–282.
- [95] G. N. Parkinson, M. P. H. Lee, S. Neidle, *Nature* **2002**, *417*, 876–880.
- [96] D. J. Patel, *Nature* **2002**, *417*, 807–808.
- [97] D. Sen, W. Gilbert, *Nature* **1990**, *344*, 410–414.
- [98] W. S. Ross, C. C. Hardin, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6070–6080.
- [99] N. V. Hud, F. W. Smith, F. A. L. Anet, J. Feigon, *Biochemistry* **1996**, *35*, 15383–15390.
- [100] J. D. Gu, J. Luszczynski, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 529–532.
- [101] P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Science* **1991**, *254*, 1497–1500.
- [102] B. Datta, B. A. Armitage, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9612–9619.
- [103] J. J. Green, L. M. Ying, D. Klenerman, S. Balasubramanian, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3763–3767.
- [104] B. A. Armitage, *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 222–228.
- [105] B. Datta, C. Schmitt, B. A. Armitage, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4111–4118.
- [106] S. Mizusawa, S. Nishimura, F. Seela, *Nucleic Acids Res.* **1986**, *14*, 1319–1324.
- [107] F. Seela, K. Mersmann, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 1435–1449.
- [108] F. Seela, Y. M. Chen, C. Mittelbach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 570–583.
- [109] a) T. S. Rao, R. H. Durland, D. M. Seth, M. A. Myrick, V. Bodepudi, G. P. Revankar, *Biochemistry* **1995**, *34*, 765–772; b) V. M. Marathias, M. J. Sawicki, P. H. Bolton, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 2860–2867.
- [110] R. Stefl, N. Spackova, I. Berger, J. Koca, J. Spöner, *Biophys. J.* **2001**, *80*, 455–468.
- [111] C. J. Cheong, P. B. Moore, *Biochemistry* **1992**, *31*, 8406–8414.
- [112] A. Kettani, S. Bouaziz, W. Wang, R. A. Jones, D. J. Patel, *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 382–389.
- [113] V. Kuryavyi, A. Majumdar, A. Shallop, N. Chernichenko, E. Skripkin, R. Jones, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **2001**, *310*, 181–194.
- [114] V. Kuryavyi, A. Kettani, W. M. Wang, R. Jones, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **2000**, *295*, 455–469.
- [115] A. Kettani, G. Basu, A. Gorin, A. Majumdar, E. Skripkin, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **2000**, *301*, 129–146.
- [116] H. M. Al-Hashimi, A. Majumdar, A. Gorin, A. Kettani, E. Skripkin, D. J. Patel, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 633–640.
- [117] P. K. Patel, R. V. Hosur, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 2457–2464.
- [118] a) P. K. Patel, A. S. R. Koti, R. V. Hosur, *Nucleic Acids Res.* **1999**, *27*, 3836–3843; b) E. Gavathiotis, M. S. Searle, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1650–1656.
- [119] A. Kettani, S. Bouaziz, A. Gorin, H. Zhao, R. Jones, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **1998**, *282*, 619–636.
- [120] S. Bouaziz, A. Kettani, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **1998**, *282*, 637–652.
- [121] J. D. Gu, J. Luszczynski, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 7353–7358.
- [122] N. Spakova, I. Berger, J. Spöner, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3295–3307.
- [123] A. Kettani, A. Gorin, A. Majumdar, T. Hermann, E. Skripkin, H. Zhao, R. Jones, D. J. Patel, *J. Mol. Biol.* **2000**, *297*, 627–644.
- [124] A. Matsugami, K. Ouhashi, M. Kanagawa, H. Liu, S. Kanagawa, S. Uesugi, M. Katahira, *J. Mol. Biol.* **2001**, *313*, 255–269.
- [125] H. Liu, A. Matsugami, M. Katahira, S. Uesugi, *J. Mol. Biol.* **2002**, *322*, 955–970.
- [126] J. P. Deng, Y. Xiong, M. Sundaralingam, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 13665–13670.
- [127] M. Famulok, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *9*, 324–329.
- [128] L. C. Bock, L. C. Griffin, J. A. Latham, E. H. Vermaas, J. J. Toole, *Nature* **1992**, *355*, 564–566.
- [129] K. Padmanabhan, K. P. Padmanabhan, J. D. Ferrara, J. E. Sadler, A. Tulinsky, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 17651–17654.
- [130] K. Padmanabhan, A. Tulinsky, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1996**, *52*, 272–282.
- [131] K. Y. Wang, S. McCurdy, R. G. Shea, S. Swaminathan, P. H. Bolton, *Biochemistry* **1993**, *32*, 1899–1904.
- [132] R. F. Macaya, P. Schultze, F. W. Smith, J. A. Roe, J. Feigon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 3745–3749.
- [133] P. Schultze, R. F. Macaya, J. Feigon, *J. Mol. Biol.* **1994**, *235*, 1532–1547.
- [134] J. A. Kelly, J. Feigon, T. O. Yeates, *J. Mol. Biol.* **1996**, *256*, 417–422.
- [135] I. Smirnov, R. H. Shafer, *Biochemistry* **2000**, *39*, 1462–1468.
- [136] B. I. Kankia, L. A. Marky, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10799–10804.
- [137] M. Vairamani, M. L. Gross, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 42–43.
- [138] A. Mazumder, N. Neamati, J. O. Ojwang, S. Sunder, R. F. Rando, Y. Pommier, *Biochemistry* **1996**, *35*, 13762–13771.
- [139] N. J. Jing, R. F. Rando, Y. Pommier, M. E. Hogan, *Biochemistry* **1997**, *36*, 12498–12505.
- [140] N. J. Jing, M. E. Hogan, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 34992–34999.
- [141] N. J. Jing, C. Marchand, J. Liu, R. Mitra, M. E. Hogan, Y. Pommier, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21460–21467.
- [142] J. R. Wyatt, T. A. Vickers, J. L. Roberson, R. W. Buckheit, Jr., T. Klimkait, E. DeBaets, P. W. Davis, B. Rayner, J. L. Imbach, D. J. Ecker, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 1356–1360.
- [143] J. R. Wyatt, P. W. Davis, S. W. Freier, *Biochemistry* **1996**, *35*, 8002–8008.
- [144] Y. Lin, A. Padmapriya, K. M. Morden, S. D. Jayasena, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 11044–11048.
- [145] Y. Lin, S. D. Jayasena, *J. Mol. Biol.* **1997**, *271*, 100–111.

- [146] J.-D. Wen, C. W. Gray, D. M. Gray, *Biochemistry* **2001**, *40*, 9300–9310.
- [147] J.-D. Wen, D. M. Gray, *Biochemistry* **2002**, *41*, 11438–11448.
- [148] a) M. L. Andreola, F. Pileur, C. Calmels, M. Ventura, L. Tarrago-Litvak, J. J. Toulme, S. Litvak, *Biochemistry* **2001**, *40*, 10087–10094; b) V. R. de Soultrait, P. Y. Lozach, R. Altmeyer, L. Tarrago-Litvak, S. Litvak, M. L. Andreola, *J. Mol. Biol.* **2002**, *324*, 195–203.
- [149] a) Miller et al. haben die proliferationshemmende Wirkung einiger G-Quadruplex-Oligonucleotide in menschlichen Krebszellen beschrieben. Sie nahmen an, dass das Quartettinnere und nicht die Schleifen mit den Zielproteinen wechselwirken: V. Dapic, P. J. Bates, J. O. Trent, A. Rodger, S. D. Thomas, D. M. Miller, *Biochemistry* **2002**, *41*, 3676–3685; b) auch für die Wechselwirkung von Polyinosin-Tetraplex-DNA mit tripelhelicalen Peptiden wurden Modelle vorgeschlagen. Danach binden Lysin-reiche helicale Peptide in die Furchen der viersträngigen DNA und erzeugen elektrostatische Ammonium-Phosphat-Wechselwirkungen: S. E. Meilewczik, K. J. Breslauer, R. B. Anachi, B. Brodsky, *Biochemistry* **1996**, *35*, 11396–11402.
- [150] C. Shaffitzel, I. Berger, J. Postberg, J. Hanes, H. J. Lipps, A. Plückthun, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 8572–8577.
- [151] D. E. Huizinga, J. W. Szostak, *Biochemistry* **1995**, *34*, 656–665.
- [152] C. T. Lauhon, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1246–1257.
- [153] N. V. Anantha, M. Azam, R. D. Sheardy, *Biochemistry* **1998**, *37*, 2709–2714.
- [154] H. Arthanari, S. Basu, T. L. Kawano, P. H. Bolton, *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 3724–3728.
- [155] H. Y. Han, D. R. Langley, A. Rangan, L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6485–6495.
- [156] R. T. Wheelhouse, D. K. Sun, H. Y. Haiyong, F. X. G. Han, L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3261–3262.
- [157] J. S. Ren, J. B. Chaires, *Biochemistry* **1999**, *38*, 16067–16075.
- [158] D. F. Shi, R. T. Wheelhouse, D. Y. Sun, L. H. Hurley, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4509–4523.
- [159] Y. F. Li, C. R. Geyer, D. Sen, *Biochemistry* **1996**, *35*, 6911–6922.
- [160] Y. F. Li, D. Sen, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 743–747.
- [161] Y. F. Li, D. Sen, *Biochemistry* **1997**, *36*, 5589–5599.
- [162] N. Sugimoto, T. Toda, T. Ohmichi, *Chem. Commun.* **1998**, 1533–1534.
- [163] Y. F. Li, D. Sen, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 1–12.
- [164] C. R. Geyer, D. Sen, *J. Mol. Biol.* **2000**, *299*, 1387–1398.
- [165] P. Travascio, Y. F. Li, D. Sen, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 505–517.
- [166] P. Travascio, P. K. Witting, A. G. Mauk, D. Sen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1337–1348.
- [167] M. Isalan, S. D. Patel, S. Balasubramanian, Y. Choo, *Biochemistry* **2001**, *40*, 830–836.
- [168] D. Rhodes, R. Giraldo, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, *5*, 311–322.
- [169] E. H. Blackburn, *Cell* **2001**, *106*, 661–673.
- [170] T. M. Bryan, T. R. Cech, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *11*, 318–324.
- [171] T. R. Cech, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 34–44; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 34–43.
- [172] M. J. McEachern, A. Krauskopf, E. H. Blackburn, *Annu. Rev. Genet.* **2000**, *31*, 331–358.
- [173] C. W. Greider, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 337–357.
- [174] K. Collins, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2000**, *12*, 378–383.
- [175] W. C. Hahn, C. M. Counter, A. S. Lundberg, R. L. Beijersbergen, M. W. Brooks, R. A. Weinberg, *Nature* **1999**, *400*, 464–468.
- [176] W. C. Hahn, S. A. Stewart, M. W. Brooks, S. G. York, E. Eaton, A. Kurachi, R. L. Beijersbergen, J. H. M. Knoll, M. Meyerson, R. A. Weinberg, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 1164–1170.
- [177] A. M. Zahler, J. R. Williamson, T. R. Cech, D. M. Prescott, *Nature* **1991**, *350*, 718–720.
- [178] S. Neidle, G. Parkinson, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 383–393.
- [179] H. Y. Han, L. H. Hurley, *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 136–142.
- [180] P. J. Perry, J. R. P. Arnold, T. C. Jenkins, *Expert Opin. Invest. Drugs* **2001**, *10*, 2141–2156.
- [181] S. M. Kerwin, *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6*, 441–471.
- [182] L. H. Hurley, R. T. Wheelhouse, D. Sun, S. M. Kerwin, M. Salazar, O. Y. Federoff, F. X. Han, H. Y. Han, E. Izbicka, D. D. Von Hoff, *Pharmacol. Ther.* **2000**, *85*, 141–158.
- [183] Z. Chen, D. R. Corey, *Adv. Cancer Res.* **2003**, *87*, 31–58.
- [184] Q. Guo, M. Lu, L. A. Marky, N. R. Kallenbach, *Biochemistry* **1992**, *31*, 2451–2455.
- [185] D. Y. Sun, B. Thompson, B. E. Cathers, M. Salazar, S. M. Kerwin, J. O. Trent, T. C. Jenkins, S. Neidle, L. H. Hurley, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2113–2116.
- [186] I. Haq, J. O. Trent, B. Z. Chowdhry, T. C. Jenkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1768–1779.
- [187] O. Yu. Fedoroff, M. Salazar, H. Han, V. V. Chemeris, S. M. Kerwin, L. H. Hurley, *Biochemistry* **1998**, *37*, 12367–12374.
- [188] E. Gavathiotis, R. A. Heald, M. F. G. Stevens, M. S. Searle, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4885–4887; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4749–4751.
- [189] M. A. Read, S. Neidle, *Biochemistry* **2000**, *39*, 13422–13432.
- [190] S. M. Haider, G. N. Parkinson, S. Neidle, *J. Mol. Biol.* **2003**, *326*, 117–125.
- [191] G. R. Clark, P. D. Pytel, C. J. Squire, S. Neidle, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4066–4067.
- [192] Q. Chen, I. D. Kuntz, R. H. Shafer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 2635–2639.
- [193] J. A. Schouten, S. Ladame, S. J. Mason, M. A. Cooper, S. Balasubramanian, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, ASAP April 17.
- [194] H. Han, C. L. Cliff, L. H. Hurley, *Biochemistry* **1999**, *38*, 6981–6986.
- [195] W. Tuntiwechapikul, T. L. Jeong, M. Salazar, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5606–5607.
- [196] S. M. Kerwin, G. Chen, J. T. Kern, P. W. Thomas, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 447–450.
- [197] J. T. Kern, P. W. Thomas, S. M. Kerwin, *Biochemistry* **2002**, *41*, 11379–11389.
- [198] M.-P. Teulade-Fichou, C. Carrasco, L. Guittat, C. Bailly, P. Alberti, J.-L. Mergny, A. David, J.-M. Lehn, W. D. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4732–4740.
- [199] M. Read, R. J. Harrison, B. Romagnoli, F. A. Tanious, S. H. Gowan, A. P. Reszka, W. D. Wilson, L. R. Kelland, S. Neidle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 4844–4849.
- [200] J.-L. Mergny, L. Lacroix, M.-P. Teulade-Fichou, C. Hounsou, L. Guittat, M. Hoarau, P. B. Arimondo, J.-P. Vigneron, J.-M. Lehn, J.-F. Riou, T. Garestier, C. Helene, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 3062–3067.
- [201] F. Koeppl, J. F. Riou, A. Laoui, P. Mailliet, P. B. Arimondo, D. Labit, O. Petitgenet, C. Helene, J.-L. Mergny, *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 1087–1096.
- [202] K. Shin-ya, K. Wierzba, K. Matsuo, T. Ohtani, Y. Yamada, K. Furuhata, Y. Hayakawa, H. Seto, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1262–1263.
- [203] M. Y. Kim, H. Vankayalapati, S. Kazuo, K. Wierzba, L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2098–2099.
- [204] Die Stabilisierung durch Arenstapelung wurde Dispersionskräften, elektrostatischen Wechselwirkungen und dem hydrophoben Effekt zugeschrieben. Übersicht über aromatische π-π-Wechselwirkungen in organischen Modellsystemen: M. L. Waters, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 736–741; b) Übersicht zur DNA-Basenstapelung: E. T. Kool, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2001**, *30*, 1–22.

- [205] Übersicht zu aromatischen Wechselwirkungen in Chemie und Biologie, die den nichtklassischen hydrophoben Effekt diskutiert: E. A. Meyer, R. K. Castellano, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1244–1287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1210–1250.
- [206] J. T. Davis, S. Tirumala, J. Jenssen, E. Radler, D. Fabris, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4167–4176.
- [207] Poly(isoG) aggregiert stärker als poly(G): T. Golas, M. Fikus, Z. Kazimierczuk, D. Shugar, *Eur. J. Biochem.* **1976**, *65*, 183–192.
- [208] G. Gottarelli, S. Masiero, G. P. Spada, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 2555–2557.
- [209] S. Pieraccini, G. Gottarelli, P. Mariani, S. Masiero, L. Saturni, G. P. Spada, *Chirality* **2001**, *13*, 7–12.
- [210] A. L. Marlow, E. Mezzina, G. P. Spada, S. Masiero, J. T. Davis, G. Gottarelli, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5116–5123.
- [211] E. Mezzina, P. Mariani, R. Itri, S. Masiero, S. Pieraccini, G. P. Spada, F. Spinazzi, J. T. Davis, G. Gottarelli, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 388–395.
- [212] N. V. Hud, P. Schultze, V. Sklenar, J. Feigon, *J. Mol. Biol.* **1999**, *285*, 233–243.
- [213] S. Basu, A. A. Szewczak, M. Cocco, S. A. Strobel, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3240–3241.
- [214] H. Deng, W. H. Braunlin, *J. Mol. Biol.* **1996**, *255*, 476–483.
- [215] D. Rovnyak, M. Baldus, G. Wu, N. V. Hud, J. Feigon, R. G. Griffin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11423–11429.
- [216] G. Wu, A. Wong, Z. Gan, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7182–7183.
- [217] I. V. Smirnov, F. W. Kotch, I. J. Pickering, J. T. Davis, R. H. Shafer, *Biochemistry* **2002**, *41*, 12133–12139.
- [218] I. Smirnov, R. H. Shafer, *J. Mol. Biol.* **2000**, *296*, 1–5.
- [219] V. M. Marathias, P. H. Bolton, *Biochemistry* **1999**, *38*, 4355–4364.
- [220] V. M. Marathias, P. H. Bolton, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 1969–1977.
- [221] M. Cai, A. L. Marlow, J. C. Fettinger, D. Fabris, T. J. Haverlock, B. A. Moyer, J. T. Davis, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1339–1341; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1283–1285.
- [222] X. D. Shi, J. C. Fettinger, M. M. Cai, J. T. Davis, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3254–3257; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3124–3127.
- [223] a) J. C. Chaput, C. Switzer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 10614–10619; b) J. C. Chaput, C. Switzer, *Methods* **2001**, *23*, 141–148.
- [224] F. Seela, C. F. Wei, A. Melenewski, E. Feiling, *Nucleosides Nucleotides* **1998**, *17*, 2045–2052.
- [225] F. Seela, R. Kröschel, *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 1043–1050.
- [226] F. Seela, C. F. Wei, A. Melenewski, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 4940–4945.
- [227] F. Seela, C. F. Wei, A. Melenewski, *Origins Life Evol. Biosphere* **1997**, *27*, 601–608.
- [228] F. Seela, C. F. Wei, *Chem. Commun.* **1997**, 1869–1870.
- [229] M. Meyer, J. Sühnel, *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 1025–1031.
- [230] K. Groebke, J. Hunziker, W. Fraser, L. Peng, U. Diederichsen, K. Zimmermann, A. Holzner, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 375–474.
- [231] M. F. H. Hoffmann, A. M. Bruckner, T. Hupp, B. Engels, U. Diederichsen, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2580–2593.
- [232] C. Roberts, J. C. Chaput, C. Switzer, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 899–908.
- [233] S. Tirumala, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2769–2776.
- [234] A. L. Marlow, J. T. Davis, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3539–3542.
- [235] M. M. Cai, V. Sidorov, Y.-F. Lam, R. A. Flowers III, J. T. Davis, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1665–1668.
- [236] M. M. Cai, X. D. Shi, V. Sidorov, D. Fabris, Y.-F. Lam, J. T. Davis, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 661–671.
- [237] Eine derartige Gleichgewichtsverschiebung wurde auch massenspektrometrisch nachgewiesen. Ein synthetisches Naphthyridin, das für die Basenpaarung mit G entwickelt wurde, zerstörte ein dG₄-K⁺-Quartett: S. Sakamoto, K. Nakatani, I. Saito, K. Yamaguchi, *Chem. Commun.* **2003**, 788–789.
- [238] A. X. Wu, L. Isaacs, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4831–4835.
- [239] a) J. L. Sessler, J. Jayawickramarajah, M. Sathiosatham, C. L. Sherman, J. S. Brodbelt, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2627–2630; b) Beispiele für synthetische Aggregate aus GC-Hybridverbindungen: A. Marsh, M. Silvestri, J.-M. Lehn, *Chem. Commun.* **1996**, 1527–1528; M. Mascal, N. M. Hext, R. Warmuth, M. H. Moore, J. P. Turkenburg, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2204–2206; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2348–2350; Y. G. Ma, S. V. Kolotuchin, S. C. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13757–13769; H. Fenniri, B.-L. Deng, A. E. Ribbe, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11064–11074.
- [240] J. T. Davis, S. Tirumala, A. L. Marlow, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5271–5272.
- [241] V. Andrisano, G. Gottarelli, S. Masiero, E. H. Heijne, S. Pieraccini, G. P. Spada, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2543–2544; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2386–2388.
- [242] X. Shi, K. M. Mullaugh, J. C. Fettinger, Y. Jiang, S. A. Hofstadler, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10830–10831.
- [243] Übersicht über ditopische Rezeptoren: G. J. Kirkovits, J. A. Shriver, P. A. Gale, J. L. Sessler, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2001**, *41*, 69–75.
- [244] Zu einer anderen Gruppe von selbstorganisierten Ionophoren: H. Piotrowski, K. Polborn, G. Hilt, K. Severin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2699–2700.
- [245] Beispiele: a) S. H. M. Söntjens, R. P. Sijbesma, M. H. P. van Genderen, E. W. Meijer, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7487–7493; b) S. Y. Chang, J. S. Choi, K. S. Jeong, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 2687–2697; c) F. Hof, C. Nuckolls, S. L. Craig, T. Martin, J. Rebek, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10991–10996.
- [246] X. X. Zhang, R. M. Izatt, J. S. Bradshaw, K. E. Krakowiak, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *174*, 179–189.
- [247] R. M. Izatt, K. Pawlak, J. S. Bradshaw, R. L. Bruening, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2529–2586.
- [248] J.-F. Dozol in *New Separation Chemistry Techniques for Radioactive Waste and Other Applications* (Hrsg.: L. Cecille, M. Casati, L. Pietrelli), Elsevier, Amsterdam, **1991**, S. 163–172.
- [249] J. W. McDowell, G. N. Case, J. A. McDonough, R. A. Bartsch, *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 3013–3017.
- [250] Y. P. Deng, R. A. Sachleben, B. A. Moyer, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1995**, *91*, 4215–4222.
- [251] R. A. Sachleben, Y. Deng, D. R. Bailey, B. A. Moyer, *Solvent Extr. Ion Exch.* **1996**, *14*, 995–1015.
- [252] a) J. C. Bryan, R. A. Sachleben, B. P. Hay, *Inorg. Chim. Acta* **1999**, *290*, 86–94; b) J. C. Bryan, K. Kavallieratos, R. A. Sachleben, *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 1568–1572.
- [253] A. Casnati, A. Pochini, R. Ungaro, F. Uguzzoli, F. Arnaud, S. Fanni, M. J. Schwing, R. J. M. Egberink, F. De Jong, D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2767–2777.
- [254] F. Arnaud-Neu, Z. Asfari, B. Souley, J. Vicens, *New J. Chem.* **1996**, *20*, 453–463.
- [255] S. C. Lee, J. D. Lamb, M. M. Cai, J. T. Davis, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2001**, *40*, 51–57.
- [256] a) T. G. Levitskaia, J. D. Lamb, K. L. Fox, B. A. Moyer, *Radiochim. Acta* **2002**, *90*, 43–52; b) T. J. Haverlock, P. V. Bonnesen, R. A. Sachleben, B. A. Moyer, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2000**, *36*, 21–37.
- [257] S. Masiero, G. Gottarelli, S. Pieraccini, *Chem. Commun.* **2000**, 1995–1996.
- [258] Q. W. Xu, H. Deng, W. H. Braunlin, *Biochemistry* **1993**, *32*, 13130–13137.
- [259] J. M. Boon, B. D. Smith, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 749–756.

- [260] G. W. Gokel, A. Mukhopadhyay, *Chem. Soc. Rev.* **2001**, *30*, 274–286.
- [261] T. M. Fyles, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 497–505.
- [262] Zu einem frühen Vorschlag, synthetische Ionenkanäle aus G-Quartetts aufzubauen: L. Chen, N. Sakai, S. T. Moshiri, S. Matile, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3627–3630.
- [263] V. Sidorov, F. W. Kotch, M. El-Kouedi, J. T. Davis, *Chem. Commun.* **2000**, 2369–2370; siehe auch: F. W. Kotch, V. Sidorov, K. J. Kayser, Y. F. Lam, M. S. Kaucher, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15140–15150.
- [264] C. M. Niemeyer, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4254–4287; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4128–4158.
- [265] C. M. Niemeyer, M. Adler, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3933–3937; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3779–3783.
- [266] D. Sen, W. Gilbert, *Biochemistry* **1992**, *31*, 65–70.
- [267] M. Lu, Q. Guo, N. R. Kallenbach, *Biochemistry* **1992**, *31*, 2455–2459.
- [268] T. C. Marsh, E. Henderson, *Biochemistry* **1994**, *33*, 10718–10724.
- [269] T. C. Marsh, J. Vesenka, E. Henderson, *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 696–700.
- [270] T.-Y. Dai, S. P. Marotta, R. D. Sheardy, *Biochemistry* **1995**, *34*, 3655–3662.
- [271] S. P. Marotta, P. A. Tamburri, R. D. Sheardy, *Biochemistry* **1996**, *35*, 10484–10492.
- [272] F.-M. Chen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 23090–23096.
- [273] E. Protozanova, R. B. Macgregor, Jr., *Biochemistry* **1996**, *35*, 16638–16645.
- [274] E. Protozanova, R. B. Macgregor, Jr., *Biophys. Chem.* **1998**, *75*, 249–257.
- [275] E. Protozanova, R. B. Macgregor, Jr., *Biophys. J.* **1998**, *75*, 982–989.
- [276] K. Poon, R. B. Macgregor, Jr., *Biophys. Chem.* **2000**, *84*, 205–216.
- [277] K. Poon, R. B. Macgregor, Jr., *Biopolymers* **1998**, *45*, 427–434.
- [278] M. A. Batalia, E. Protozanova, R. B. Macgregor, Jr., D. A. Erie, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 269–274.
- [279] E. A. Venczel, D. Sen, *J. Mol. Biol.* **1996**, *257*, 219–224.
- [280] R. P. Fahlman, D. Sen, *J. Mol. Biol.* **1998**, *280*, 237–244.
- [281] R. P. Fahlman, D. Sen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11079–11085.
- [282] R. B. Kotia, L. J. Li, L. B. McGown, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 827–831.
- [283] J. A. M. Charles, L. B. McGown, *Electrophoresis* **2002**, *23*, 1599–1604.
- [284] M. A. Rehder, L. B. McGown, *Electrophoresis* **2001**, *22*, 3759–3764.
- [285] I. German, D. D. Buchanan, R. T. Kennedy, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4540–4545.
- [286] R. A. Potyrailo, R. C. Conrad, A. Ellington, G. M. Heiftje, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 3419–3425.
- [287] N. Hamaguchi, A. Ellington, M. Stanton, *Anal. Biochem.* **2001**, *294*, 126–131.
- [288] J. W. J. Li, X. H. Fang, W. H. Tan, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, *292*, 31–40.
- [289] R. Nutiu, Y. F. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4771–4778.
- [290] T. Simonsson, R. Sjoback, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 17379–17383.
- [291] J.-L. Mergny, J.-C. Maurizot, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 124–132.
- [292] H. Ueyama, M. Takagi, S. Takenaka, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14286–14287.
- [293] J. W. J. Li, W. H. Tan, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 315–318.
- [294] P. Alberti, J.-L. Mergny, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 1569–1573.
- [295] G. Gottarelli, S. Masiero, E. Mezzina, S. Pieraccini, J. P. Rabe, P. Samori, G. P. Spada, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 3242–3248.
- [296] P. Samori, S. Pieraccini, S. Masiero, G. P. Spada, G. Gottarelli, J. P. Rabe, *Colloids Surf. B* **2002**, *23*, 283–288.
- [297] T. Giorgi, F. Grepioni, I. Manet, P. Mariani, S. Masiero, E. Mezzina, S. Pieraccini, L. Saturni, G. P. Spada, G. Gottarelli, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 2143–2152.
- [298] G. Gottarelli, S. Masiero, E. Mezzina, G. P. Spada, P. Mariani, M. Recanatini, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2078–2092.
- [299] G. Gottarelli, S. Masiero, E. Mezzina, S. Pieraccini, G. P. Spada, P. Mariani, *Liq. Cryst.* **1999**, *26*, 965–971.
- [300] F. Ciuchi, G. Dinicola, H. Franz, G. Gottarelli, P. Mariani, M. G. P. Bossi, G. P. Spada, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7064–7071.
- [301] S. Bonazzi, M. M. Demora, G. Gottarelli, P. Mariani, G. P. Spada, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 251–254; *Angew. Chem. Int. Engl.* **1993**, *32*, 248–250.
- [302] G. Gottarelli, E. Mezzina, G. P. Spada, F. Carsughi, G. DiNicola, P. Mariani, A. Sabatucci, S. Bonazzi, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 220–234.
- [303] T. Kato, *Science* **2002**, *295*, 2414–2418.
- [304] T. Kato, N. Mizshita, K. Kanie, *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 797–814.
- [305] R. P. Lemieux, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 845–853.
- [306] M. Suarez, J.-M. Lehn, S. C. Zimmerman, A. Skoulios, B. Heinrich, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9526–9532.
- [307] M. Gallant, M. T. P. Viet, J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 721–723.
- [308] K. Kanie, T. Yasuda, S. Ujiie, T. Kato, *Chem. Commun.* **2000**, *19*, 1899–1900.
- [309] K. Kanie, T. Yasuda, M. Nishii, S. Ujiie, T. Kato, *Chem. Lett.* **2001**, *6*, 480–481.
- [310] K. Kanie, M. Nishii, T. Yasuda, T. Taki, S. Ujiie, T. Kato, *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 2875–2886.
- [311] A. Aviram, M. Ratner, *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *29*, 277–283.
- [312] C. Joachim, J. K. Gimzewski, A. Aviram, *Nature* **2000**, *408*, 541–548.
- [313] H. W. Fink, C. Schönenberger, *Nature* **1999**, *398*, 407–410.
- [314] D. Porath, A. Bezryadin, S. de Vries, C. Dekker, *Nature* **2000**, *403*, 635–638.
- [315] R. Rinaldi, E. Branca, R. Cingolani, S. Masiero, G. P. Spada, G. Gottarelli, *Appl. Phys. Lett.* **2001**, *7*, 3541–3546.
- [316] R. Rinaldi, G. Maruccio, A. Biasco, V. Arima, R. Cingolani, T. Giorgi, S. Masiero, G. P. Spada, G. Gottarelli, *Nanotechnology* **2002**, *13*, 398–403.
- [317] R. Di Felice, A. Calzolari, E. Molinari, A. Garbesi, *Phys. Rev. B* **2001**, *65*, 045104.
- [318] A. Calzolari, R. Di Felice, E. Molinari, A. Garbesi, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80*, 3331–3333.