

## DNA-Strukturen

DOI: 10.1002/ange.200501589

### Ein hochgradig DNA-Duplex-stabilisierendes Metall-Salen-Basenpaar\*\*

Guido H. Clever, Kurt Polborn und Thomas Carell\*

Der definierte Einbau von einem oder mehreren Metallionen in Oligonucleotide ist von großem Interesse für die Entwicklung alternativer Basenpaare sowie für die Synthese von DNA und RNA mit neuen katalytischen und elektronischen Eigenschaften.<sup>[1]</sup> Gemäß dem der Katalyse zugrunde liegenden Konzept stellt das Metallion die katalytische Eigenschaft bereit, während der umgebende Oligonucleotidstrang einen chiralen Liganden bildet, der über evolutionäre Methoden optimiert werden kann.<sup>[2,3]</sup> Kürzlich haben die Arbeitsgruppen um Leumann,<sup>[4]</sup> Meggers,<sup>[5]</sup> Schultz,<sup>[6]</sup> Shionoya,<sup>[7]</sup> Switzer<sup>[8]</sup> und Tor<sup>[9]</sup> metallkoordinierende Nucleinsäuren („Ligandoside“) vorgestellt, die die Platzierung eines Metalls im Innern der DNA-Doppelhelix ermöglichen.

Mit Blick auf eine elektronische Anwendung bauten Shionoya et al. mehrere aufeinander folgende Ligandosid-Basenpaare in einen Doppelstrang ein und konnten so fünf wahrscheinlich übereinander gestapelte Kupferatome durch diesen Oligonucleotidduplex koordinieren.<sup>[1]</sup> Auf dem Weg zur Synthese metallbasierter katalytischer DNA ist es von

[\*] Dipl.-Chem. G. H. Clever, Dr. K. Polborn, Prof. Dr. T. Carell  
Department für Chemie und Biochemie  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Butenandtstraße 5–13, Haus F, 81377 München (Deutschland)  
Fax: (+49) 89-2180-77756  
E-mail: thomas.carell@cup.uni-muenchen.de

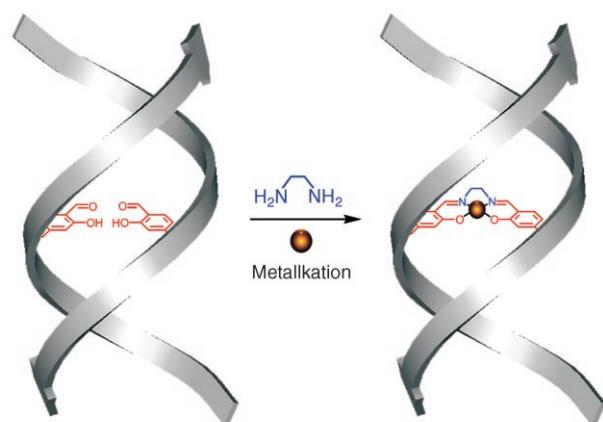
[\*\*] Wir danken der Volkswagenstiftung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Forschergruppe: Hybridmaterialien) für großzügige Unterstützung. G. Clever dankt der Stiftung Stipendien-Fonds des Verbandes der Chemischen Industrie e.V. für ein Kekulé-Stipendium. Wir danken Prof. P. Klüfers für hilfreiche Diskussionen und Heather Burks, Tanja Köpping, Kirsten Schwekendiek und Michaela Vedecnik für Unterstützung bei der Synthese.



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

besonderem Interesse, Metall-Basenpaare zu entwickeln, denen Systeme zugrunde liegen, die für ihre herausragenden katalytischen Eigenschaften bekannt sind (von Jacobsen „privilegierte Liganden“ genannt).<sup>[10]</sup> Wir haben uns darum für die Entwicklung eines Metall-Basenpaars entschieden, das auf dem *N,N*'-Bis(salicylidien)ethylenediamin(Salen)-Liganden beruht.<sup>[11]</sup> Dieser ist einer der heute am meisten genutzten Liganden für die enantioselektive Katalyse: Metall-Salen-Komplexe werden für die Beschleunigung einer Vielzahl von Reaktionen wie Cyclopropanierungen, Epoxidierungen,<sup>[12]</sup> Oxidationen<sup>[13]</sup> und kinetischen Racematspaltungen<sup>[14]</sup> eingesetzt.

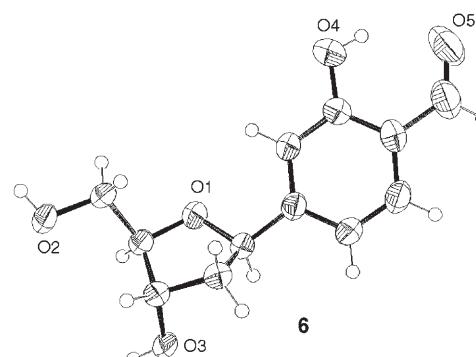
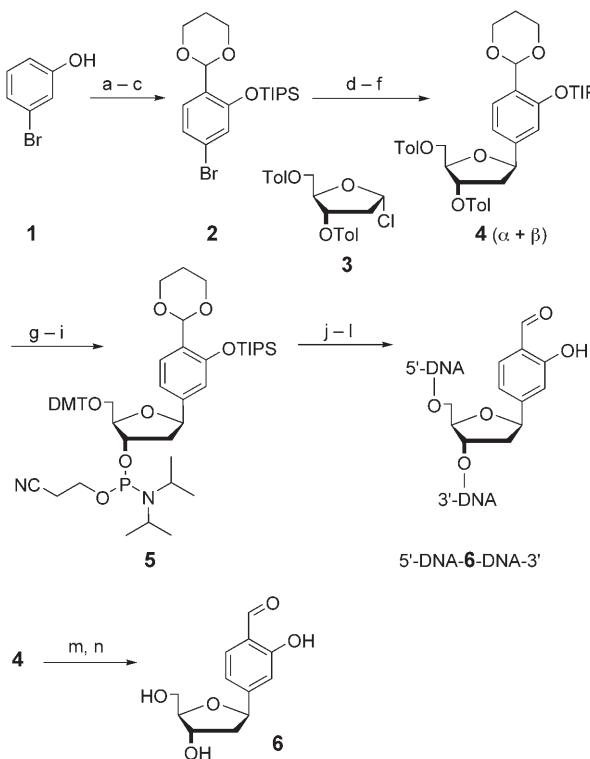
Die Entwicklung unseres Metall-Basenpaars basiert auf Studien von Sheppard, Gotheil et al., die Intrastrand-Salenkomplexe aus Phosphat-gebundenen Salicylaldehyden aufgebaut haben.<sup>[15]</sup> Zur Herstellung eines salenbasierten Metall-Basenpaars, das optimal in die DNA-Doppelhelix passt, entschieden wir uns, die Salicylaldehyde über das C4-Atom an die C1'-Position der 2'-Desoxyribose zu kuppeln. Die computergestützte Modellierung des Systems verspricht bei gegenüberliegender Anordnung der Salicylaldehyde in einem Oligonucleotidduplex die Bildung eines Salen-Komplexes nach Zugabe von Ethylenediamin und einem geeigneten Metallkation (Abbildung 1). Der Komplex sollte perfekt im Basenpaarstapel liegen und das Metall in der kleinen Furche exponieren. Anders als bei den bislang untersuchten Metall-



**Abbildung 1.** Das Salicylaldehyd-Basenpaar (LL) und die Bildung des Metall-Salenkomplexes im Innern des Doppelstrangs.

Basenpaaren beruht die Bildung des Metall-Salen-Komplexes also auf der zwingenden Gegenwart zweier Komponenten: Metall und Ethylenediamin. Der Einbau von Ethylenediamin verleiht dem Metall-Basenpaar den Charakter einer Vernetzungseinheit zwischen Strang und Gegenstrang, wobei die Bildung des Schiff-Base-Liganden in Wasser reversibel ist.<sup>[16]</sup>

Die Schutzgruppen am Liganden wurden wegen ihrer Kompatibilität mit der Ligandosidsynthese und der Chemie



- 8-L-a = 5'-CACATTALTGTTGTA-3'  
8-L-b = 3'-GTGTAATLACAACAT-5'  
7-L = 5'-GTALAGTTTCTLTAC-3'  
L = Ligand 6

**Schema 1.** Synthese des Salen-Ligandosids **6** und des entsprechenden Phosphoramidits zusammen mit der Kristallstruktur von **6** und den Sequenzen der DNA-Stränge, die für diese Arbeit synthetisiert wurden. a)  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ ,  $\text{NEt}_3$ ,  $\text{MgCl}_2$ , Toluol,  $100^\circ\text{C}$ , 10 h, 49%; b) 1,3-Propandiol,  $\text{HC}(\text{OEt})_3$ ,  $\text{N}(n\text{Bu})_4\text{Br}_3$ , RT, 24 h, 86%; c) TIPS-OTf,  $\text{NEt}(\text{iPr})_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT, 12 h, 87%; d) 2 Äquiv.  $t\text{BuLi}$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 2 h; e)  $\text{CuBr}\cdot\text{SMe}_2$ ,  $-78 \rightarrow -30^\circ\text{C}$ , 20 min; f) **3**,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 12 h,  $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 78% ( $\alpha/\beta = 3:2$ ); g)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{MeOH}$ , RT, 2 h, 72%; h) DMT-Cl, Pyridin, 3 h, 67%; i) CED-Cl,  $\text{NEt}(\text{iPr})_2$ , THF, RT, 2 h, 78%; j) automatisierte DNA-Synthese; k) Entschützung der Aldehyde mit wasserhaltiger 2-proz.  $\text{CHCl}_2\text{COOH}$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; l) Abspaltung vom Festphasenträger und Abspaltung der TIPS-Schutzgruppe mit  $\text{NH}_{3(\text{aq})}/\text{EtOH} = 3:1$ ; m)  $\text{N}(n\text{Bu})_4\text{F}$ , THF; n) 2-proz.  $\text{CHCl}_2\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . CED-Cl = (2-Cyanethyl)-*N,N*-diisopropylphosphorimidochloridit, DMT = 4,4'-Dimethoxytrityl, Tf = Trifluormethansulfonyl, TIPS = Tri-isopropylsilyl, Tol = Toluol. Kristallstruktur: Ligandosid **6** aus EtOAc kristallisiert.<sup>[24]</sup>

der DNA-Oligonucleotidsynthese gewählt. Die Triisopropylsilyl(TIPS)-Schutzgruppe des Phenolrestes wird analog den Bedingungen gespalten, die auch zur Abspaltung des Oligonucleotides vom festen Träger angewendet werden. Die Aldehydfunktion wurde als cyclisches Acetal geschützt, das mit 2-proz. Dichloressigsäure in wasserhaltigem Dichlormethan gespalten werden kann. Diese Methode kommt während der DNA-Synthese auch zur Abspaltung der 5'-DMT-Schutzgruppen zum Einsatz.

Die Synthese des geschützten Salicylaldehydes beginnt gemäß Schema 1 mit der Orthoformylierung von 3-Bromphenol (**1**) mit Paraformaldehyd in Gegenwart von  $MgCl_2$  und Triethylamin.<sup>[17]</sup> Der Formylierung folgt zunächst eine speziell für Salicylaldehyde entwickelte Acetalbildung.<sup>[18]</sup> Eine anschließende TIPS-Schützung führt zum Ligandbaustein **2**. Die C-Glycosidierung<sup>[19]</sup> beginnt mit einem Brom-Lithium-Austausch durch *tert*-Butyllithium, gefolgt von Transmetallierung und Reaktion des erhaltenen Arylcuprates mit  $\alpha$ -2'-Desoxyribosylchlorid **3**, das in zwei Stufen aus 2'-Desoxyribose hergestellt wurde.<sup>[20]</sup> Nach säulenchromatographischer Trennung der Anomere des Nucleosids **4** wurden die Hydroxygruppen des Pentoserestes unter Zemplén-Bedingungen entschützt<sup>[21]</sup> und an 5'-OH DMT-geschützt, wonach schließlich das Phosphoramidit **5** erhalten wurde. Die Konfiguration an C1' wurde für beide Anomere von **4** durch Auswertung der NOESY-Kontakte zwischen den Atomen C1'-H, C2'-H und C3'-H bestimmt. Zur Verifizierung der zugeordneten Konfiguration an C1' wurde **4** mit Tetrabutylammoniumfluorid und Dichloressigsäure umgesetzt, was das vollständig entschützte Nucleosid **6** lieferte. Die Kristallstruktur des aus Ethylacetat kristallisierten Salicylaldehydes **6** bestätigt das Vorliegen der gewünschten  $\beta$ -Konfiguration (siehe Schema 1).

Die DNA-Synthese erfolgte nach einem üblichen Phosphoramidit-Verfahren auf einem Expedite DNA Synthesizer mit verlängerten Kupplungszeiten für das Salicylaldehydphosphoramidit. Nach zusätzlicher Behandlung der trägerfixierten Oligonucleotide mit Dichloressigsäure in  $CH_2Cl_2$  und Abspaltung vom Träger mit  $NH_4OH_{(aq)}/EtOH$  wurden die Stränge **7**, **8-a** und **8-b** über Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigchromatographie (RP-HPLC) gereinigt und mittels MALDI-ToF-Massenspektrometrie charakterisiert. Das Vorliegen des freien Salicylaldehydes wurde zusätzlich durch Reaktion der Oligonucleotide mit einem Amin angezeigt, die zum Auftreten einer für Salicylaldimine charakteristischen gelben Färbung führte. Des Weiteren lieferten die Reaktion der DNA-Stränge mit *O*-Benzylhydroxylamin sowie die reduktive Aminierung mit verschiedenen primären Aminen und Natriumcyanoborhydrid quantitativ das entsprechende *O*-Benzylloxim bzw. die sekundären Amine, was massenspektrometrisch belegt wurde. Tabelle 1 zeigt die synthetisierten DNA-Doppelstränge und -Haarnadeln sowie ihre Schmelzpunkte. Das Salicylaldehyd-Basenpaar LL (Tabelle 1, Nr. 7) führt zu einer Herabsetzung des Schmelzpunktes um 9.0 K gegenüber demjenigen eines AT-Basenpaares in einer analogen Sequenz (Tabelle 1, Nr. 1). Zugabe eines Überschusses an Ethylenediamin (en) zu einer Lösung des DNA-Duplex führte zu einer Erhöhung des Schmelzpunktes um 4.8 K (Tabelle 1, Nr. 4 und 5), begleitet von Änderungen

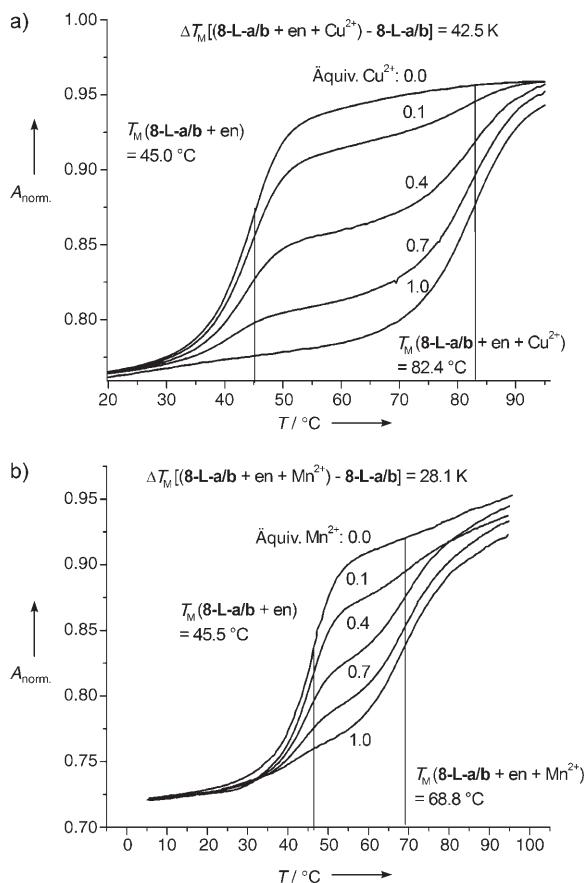
**Tabelle 1:** Schmelzpunktexperimente mit den Oligonucleotiden **7** und **8**.

Nr.	Stränge <sup>[a]</sup>	Additive	$T_M$ [°C]
1	<b>8-A-a/T-b</b>	[d]	50.1
2	<b>8-L-a/b</b>	[b]	39.9
3	<b>8-L-a/b</b>	100 $\mu M$ en	3 $\mu M$ $Cu^{2+}$ <sup>[b]</sup>
4	<b>8-L-a/b</b>		82.4
5	<b>8-L-a/b</b>	[c]	40.7
6	<b>8-L-a/b</b>	100 $\mu M$ en	3 $\mu M$ $Mn^{2+}$ <sup>[c]</sup>
7	<b>8-L-a/b</b>		45.5
8	<b>8-L-a/b</b>	[d]	68.8 <sup>[e]</sup>
9	<b>8-L-a/b</b>	100 $\mu M$ en	400 $\mu M$ $Zn^{2+}$ <sup>[d]</sup>
10	<b>8-L-a/b</b>	200 $\mu M$ $MeNH_2$	400 $\mu M$ $Ni^{2+}$ <sup>[d]</sup>
11	<b>8-L-a/b</b>		52.3
12	<b>8-L-a/b</b>	4 $\mu M$ $Cu^{2+}$ <sup>[b]</sup>	4 $\mu M$ $Cu^{2+}$ <sup>[b]</sup>
13	<b>7-L</b>		54.9
14	<b>7-L</b>	100 $\mu M$ en	6 $\mu M$ $Mn^{2+}$ <sup>[c]</sup>
15	<b>7-L</b>		40.7
16	<b>7-L</b>	[c]	19.9
17	<b>7-T/A</b>	100 $\mu M$ en	6 $\mu M$ $Cu^{2+}$ <sup>[b]</sup>
			22.1
			4 $\mu M$ $Mn^{2+}$ <sup>[c]</sup>
			[f]
			46.5

[a] Sequenzen siehe Schema 1. In **8-A-a** und **8-T-b** ist der Salicylaldehyde durch ein A bzw. T ersetzt. Alle Proben enthielten 3  $\mu M$  DNA (Duplex oder Haarnadel) und 150 mM NaCl. Die Schmelzkurven wurden zwischen 0 und 85 °C (für  $Cu^{2+}$ : 95 °C) mit einer Temperaturänderung von 0.5 K min<sup>-1</sup> gemessen. Weitere Details in den Hintergrundinformationen. [b] Alle Experimente mit  $Cu^{2+}$  und die entsprechenden Kontrollen wurden in 10 mM *N*-Cyclohexyl-2-aminoethansulfonsäure (Ches)-Puffer bei pH 9.0 durchgeführt. [c] Alle Experimente mit  $Mn^{2+}$  und die entsprechenden Kontrollen wurden in 10 mM *N*-(2-Hydroxyethyl)piperazin-N'-(2-ethansulfonsäure) (Hepes)-Puffer bei pH 9.0 durchgeführt. [d] Gegeben in 10 mM 2-Amino-2-(hydroxymethyl)propan-1,3-diol (Tris)-Puffer bei pH 7.4. [e] Reproduzierbare Unterschiede zwischen der De- und Renaturierungskurve wegen des thermischen Zerfalls des Komplexes (siehe Hintergrundinformationen). [f] Kein  $T_M$  bestimmt (siehe Hintergrundinformationen).

der Fluoreszenz- und Emissionsspektren, die für die Bildung von Salicylaldiminen typisch sind.

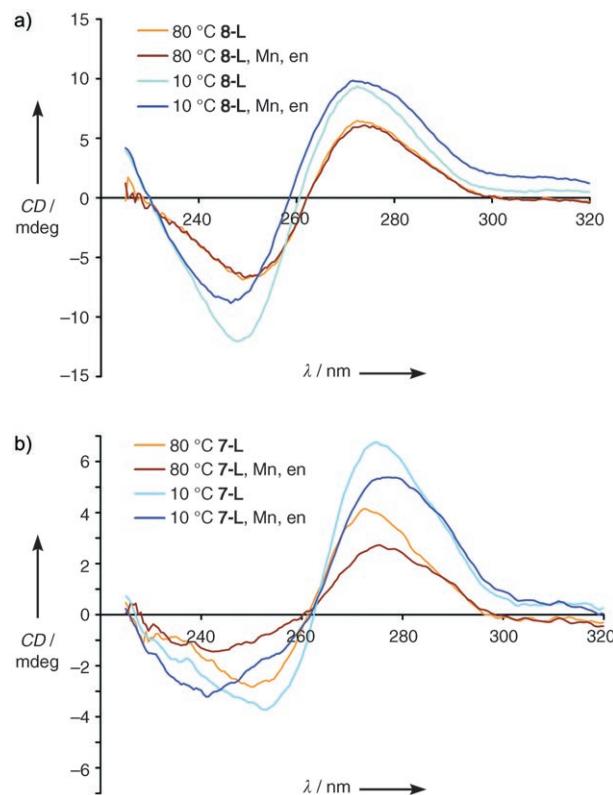
Die anschließende Titration der Ethylenediamin enthaltenden Oligonucleotidlösung mit zweiwertigen Metallionen führte zu einer stark ausgeprägten Duplexstabilisierung (Abbildung 2a und b), begleitet von Änderungen der CD-Spektren (Abbildung 3a und b). Ein Äquivalent  $Cu^{2+}$  bewirkte einen Anstieg des Schmelzpunktes um mehr als 30 K (verglichen mit dem normalen AT-Basenpaar) auf 82.4 °C (Tabelle 1, Nr. 3; +42.5 K verglichen mit dem Duplex, der das LL-„Basenpaar“ enthält; Tabelle 1, Nr. 2 und Abbildung 2a). Zugabe von mehr  $Cu^{2+}$  hatte keine weitere Wirkung. Unseres Wissens ist dies die größte Duplexstabilisierung, die jemals für ein Metall-Basenpaar gemessen wurde. Zugabe eines Äquivalents  $Mn^{2+}$  (das nach der Komplexbildung durch Salen-Liganden zu  $Mn^{3+}$  oxidiert wird)<sup>[22]</sup> erhöhte  $T_M$  um 28.1 K auf 68.8 °C (Tabelle 1, Nr. 4 und 6 und Abbildung 2b). Auch hier bewirkte die Zugabe von mehr  $Mn^{2+}$  keinen weiteren Effekt. Zugabe von  $Zn^{2+}$  erhöhte  $T_M$  um 7.7 K (Tabelle 1, Nr. 7 und 8). Interessanterweise verursachte die Zugabe von  $Ni^{2+}$  reproduzierbar eine Herabsetzung des Schmelzpunktes um 4.6 K (Tabelle 1, Nr. 7 und 9, Hintergrundinformationen). Die Experimente mit Zn und Ni erforderten allerdings hohe Metallkonzentrationen. Wurde Ethylenediamin durch Propylenediamin ersetzt, führte nur die Zugabe von  $Cu^{2+}$  zu einer Schmelzpunktterhöhung (Zusatz-



**Abbildung 2.** Schmelzprofile von  $3 \mu\text{M}$  8-L-a/b mit  $100 \mu\text{M}$  Ethylenediamin (en) in Gegenwart verschiedener Mengen von a)  $\text{Cu}^{2+}$  (0–1 Äquiv.) und b)  $\text{Mn}^{2+}$  (0–1 Äquiv.). Die Proben enthielten  $150 \text{ mM}$  NaCl und  $10 \text{ mM}$  Puffer (Ches pH 9 für  $\text{Cu}^{2+}$ , Hepes pH 9 für  $\text{Mn}^{2+}$ ).

von Butylenediamin hatte keinen Effekt). Alleinige Zugabe von  $\text{Cu}^{2+}$  ohne Ethylenediamin resultierte in einem Schmelzpunktanstieg von  $15.0 \text{ K}$  relativ zum Duplex mit dem LL-„Basenpaar“ (Tabelle 1, Nr. 2 und 11). Im Unterschied dazu veränderte  $\text{Mn}^{2+}$  in Abwesenheit von Ethylenediamin den Schmelzpunkt nicht. In Abwesenheit von einer oder beiden Salicylaldehydnucleobasen traten in keinem der Kontrollexperimente Schmelzpunktveränderungen auf, was eindeutig dafür spricht, dass die Bildung des Salenkomplexes für die drastischen Schmelzpunktveränderungen verantwortlich ist. Die Komplexierung konnte durch Zugabe eines Überschusses an EDTA rückgängig gemacht werden. Um den Beitrag der Vernetzung zu untersuchen, wurden zum Duplex 8-L-a/b  $\text{Cu}^{2+}$  und Methylamin gegeben. In diesem Fall konnte eine Erhöhung des Schmelzpunktes von nur ca.  $12 \text{ K}$  beobachtet werden (Tabelle 1, Nr. 10).

Die Bildung des Salenkomplexes in der Helix konnte auch durch CD-Spektroskopie am Duplex 8-L-a/b und der Haarnadel 7-L bei Fehlen und in Gegenwart von Metall und Ethylenediamin verfolgt werden (Abbildung 3). Die zwischen  $80^\circ\text{C}$  und  $10^\circ\text{C}$  gemessenen CD-Spektren zeigen klar, dass die DNA in allen Fällen in der B-Konformation vorliegt (Hintergrundinformationen).<sup>[23]</sup> Zugabe von Ethylenediamin und entweder  $\text{Mn}^{2+}$  oder  $\text{Cu}^{2+}$  resultierten in Änderungen der



**Abbildung 3.** Vergleich der CD-Spektren bei  $10$  und  $80^\circ\text{C}$  von a) 8-L-a/b und b) 7-L in Abwesenheit und Gegenwart von Ethylenediamin und  $\text{Mn}^{2+}$ .

CD-Spektren unterhalb der jeweiligen Schmelzpunkte, was auf die Bildung der Salenkomplexe schließen lässt (nur die  $\text{Mn}^{2+}$ -Spektren sind abgebildet). Oberhalb des Schmelzpunktes sind die CD-Spektren des Duplex unabhängig von der Gegenwart des Metalls ununterscheidbar. Die CD-Spektren der Haarnadeln 7-L unterscheiden sich jedoch bei  $80^\circ\text{C}$  sehr stark für die Proben mit und ohne Metall, was darauf hindeutet, dass der Salenkomplex selbst bei sehr hohen Temperaturen in der Haarnadelstruktur intakt bleibt (analoge Ergebnisse wurden für die Proben mit  $\text{Cu}^{2+}$  beobachtet).

Wir haben hier den Einbau eines salenbasierten Metall-Basenpaars in einen DNA-Doppelstrang, der das Metall im Innern der Helix trägt, beschrieben. Wir glauben, dass die drastische Erhöhung des Schmelzpunktes um mehr als  $40 \text{ K}$  auf die reversible Vernetzung der Salicylaldehyde mit Ethylenediamin zurückzuführen ist. Zusätzlich spielt eventuell die axiale Koordination des Metalls durch Heteroatome der DNA-Basen oberhalb und unterhalb der Ebene des Metall-Basenpaars eine Rolle.

Eingegangen am 10. Mai 2005,  
veränderte Fassung am 4. Juli 2005  
Online veröffentlicht am 18. Oktober 2005

**Stichwörter:** DNA · DNA-Strukturen · Metall-Basenpaare · Nucleobasen

- 
- [1] K. Tanaka, A. Tengeiji, T. Kato, N. Toyama, M. Shionoya, *Science* **2003**, 299, 1212.
  - [2] a) S. Klug, M. Famulok, *Mol. Biol. Rep.* **1994**, 20, 97; b) D. Zha, A. Eipper, M. T. Reetz, *ChemBioChem* **2003**, 4, 34.
  - [3] G. Roelfes, B. L. Feringa, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 3294; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 3230.
  - [4] C. Brotschi, C. J. Leumann, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2003**, 22, 1195.
  - [5] L. Zhang, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 74.
  - [6] a) N. Zimmerman, E. Meggers, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 13684; b) E. Meggers, P. L. Holland, W. B. Tolman, F. E. Romesberg, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 10714.
  - [7] a) T. Tanaka, A. Tengeiji, T. Kato, N. Toyama, M. Shiro, M. Shionoya, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12494; b) K. Tanaka, Y. Yamada, M. Shionoya, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8802.
  - [8] a) C. Switzer, S. Sinha, P. H. Kim, B. D. Heuberger, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 1553; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1529; b) C. Switzer, D. Shin, *Chem. Commun.* **2005**, 1342.
  - [9] H. Weizman, Y. Tor, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3375.
  - [10] T. P. Yoon, E. N. Jacobsen, *Science* **2003**, 299, 1691.
  - [11] a) J. F. Larrow, E. N. Jacobsen, *Top. Organomet. Chem.* **2004**, 6, 123; b) T. Katsuki, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 437.
  - [12] T. Katsuki, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, 344, 131.
  - [13] T. Katsuki, *Coord. Chem. Rev.* **1995**, 140, 189.
  - [14] a) M. Tokunaga, J. F. Larrow, F. Kakiuchi, E. N. Jacobsen, *Science* **1997**, 277, 936; b) W. Sun, H. Wang, C. Xia, J. Li, P. Zhao, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 1072; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 1042.
  - [15] a) J. L. Czapinski, T. L. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8618; b) J. L. Czapinski, T. L. Sheppard, *ChemBioChem* **2004**, 5, 127; c) M. Nielsen, A. H. Thomsen, E. Cló, F. Kirpekar, K. V. Gothelf, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 2240; d) K. V. Gothelf, A. Thomsen, M. Nielsen, E. Cló, R. S. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1044.
  - [16] S. Akine, T. Taniguchi, T. Nabeshima, *Chem. Lett.* **2001**, 7, 682.
  - [17] N. U. Hofsløkken, L. Skattebøl, *Acta Chem. Scand.* **1999**, 53, 258.
  - [18] R. Gopinath, S. J. Haque, B. K. Patel, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 5842.
  - [19] R. Bihovsky, C. Selick, I. Guisti, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 4026.
  - [20] a) M. Hoffer, *Chem. Ber.* **1960**, 93, 2777; b) I. Singh, W. Hecker, A. K. Prasad, V. S. Parmar, O. Seitz, *Chem. Commun.* **2002**, 500.
  - [21] G. Zemplén, E. Pascu, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, 62, 1613.
  - [22] J. F. Larrow, E. N. Jacobsen, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 1939.
  - [23] G. M. Segers-Nolten, N. M. Sijtsema, C. Otto, *Biochemistry* **1997**, 36, 13241.
  - [24] CCDC 271234 enthält die ausführlichen kristallographischen Daten zu dieser Veröffentlichung. Die Daten sind kostenlos beim Cambridge Crystallographic Data Centre über [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif) erhältlich.