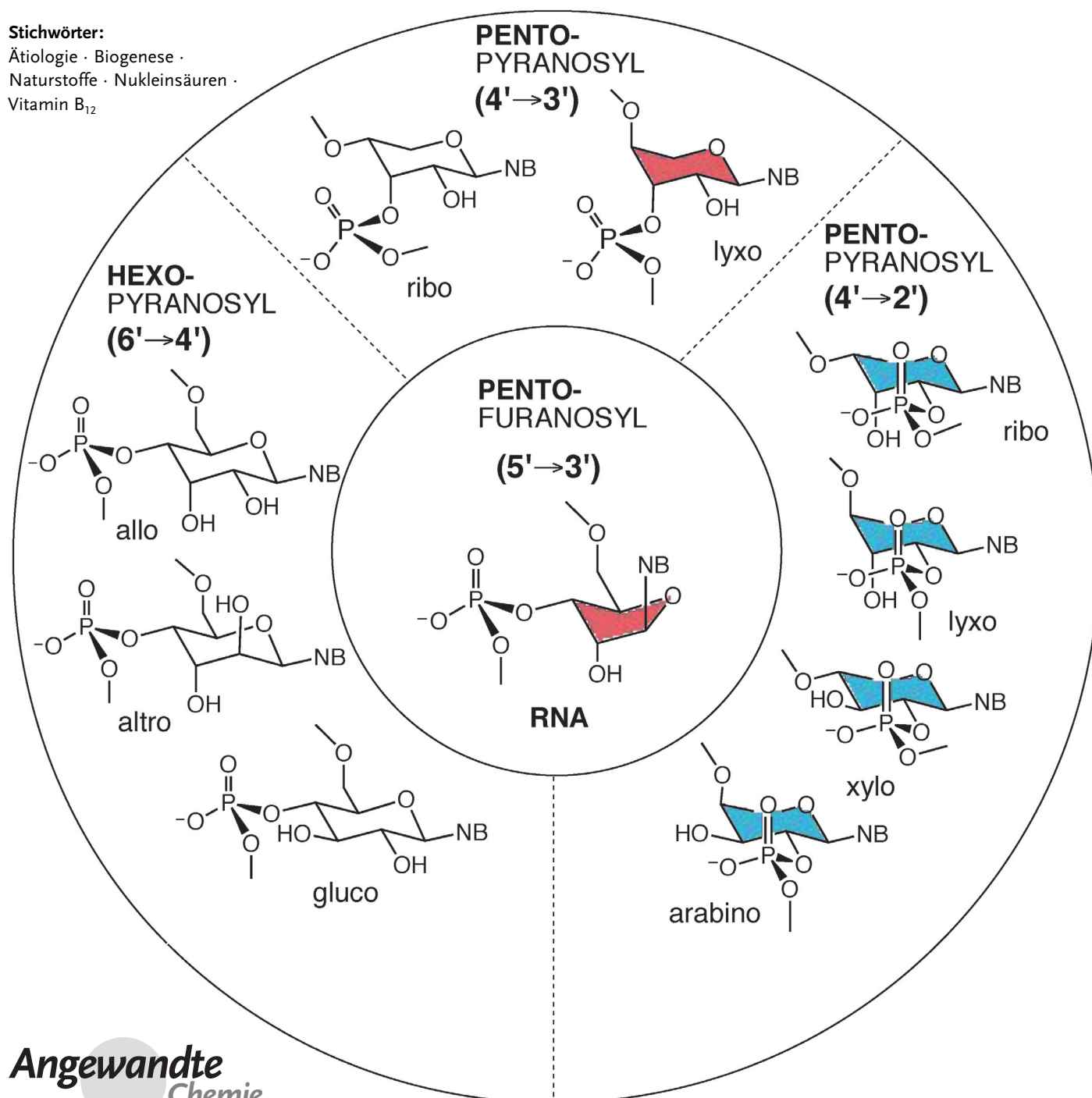


# Ätiologie potentiell primordialer Biomolekül-Strukturen: Vom Vitamin B<sub>12</sub> zu den Nukleinsäuren und der Frage nach der Chemie der Entstehung des Lebens – ein Rückblick

Albert Eschenmoser\*

## Stichwörter:

Ätiologie · Biogenese ·  
Naturstoffe · Nukleinsäuren ·  
Vitamin B<sub>12</sub>



„Wir werden es nie wissen können“ ist ein Truismus, der zu Resignation gegenüber jeglicher experimenteller Investition in eine Suche nach der Chemie der Entstehung des Lebens verführt. Doch widerspricht solche Resignation radikal der Herausforderung, die der Chemie als Naturwissenschaft auferlegt ist. Ungeachtet der Prognose, wonach der kürzeste Weg zum Verständnis der Metamorphose des Chemischen ins Biologische über die experimentelle Modellierung „künstlichen chemischen Lebens“ führt, wird die naturwissenschaftliche Suche nach dem von der Natur begangenen Weg der Entstehung des Lebens, das wir kennen, wohl nie wirklich enden. Denn sie ist Teil der Suche nach unserem eigenen Ursprung.

„Die Naturstoffe sind das Ergebnis einer drei Milliarden Jahre dauernden Entwicklung der lebendigen Welt und haben während einer langen Zeit die Auslese der Evolution überstanden. Ich bin überzeugt, dass sie immer eine Botschaft enthalten, und dass es unsere Aufgabe ist, diese zu entziffern“

Vlado Prelog, „Gedanken nach 118 Semestern Chemiestudium“<sup>[1]</sup>

## 1. Einleitung

Der Begriff *etiologie* (Ätiologie) bedeutet nach Webster „the science of causes or origins“.<sup>[2]</sup> In der Kulturgeschichte spricht man von ätiologischen Mythen, Sagen und Legenden, von kulturspezifischen Überlieferungen zum Ursprung einer Kultur, des Lebens, des Seins. Innerhalb der Naturwissenschaften ist Ätiologie ein im Wesentlichen von der Medizin in Beschlag genomener Begriff; er meint dort die Beschreibung von Ursachen und Herkunft von Krankheiten. Sein Bedeutungspotential für die Naturwissenschaft ist indessen viel breiter; so z. B. kann man in der Naturstoffchemie nicht nur nach Isolierung, Struktur, Synthese, Biosynthese, biologischer Funktion und medizinischer Bedeutung eines Naturstoffs fragen, sondern auch nach dessen *Ursprung*, der Herkunft seiner chemischen Struktur im Sinne des chemisch-biologischen *Ursprungs seiner Biosynthese*. Im Unterschied zu Antworten auf die erstgenannte Art von Fragen werden Antworten auf die Frage nach dem Ursprung naturgemäß letztlich immer mit Ungewissheit behaftet bleiben; es ist genau dies, was mit begriffsgerechter Verwendung des Wortes Ätiologie einhergeht.<sup>[3]</sup> Dabei sollten Gewicht und Bedeutung der Fragestellung die intrinsische Ungewissheit der Antwort aufwiegen.

Spätestens seit Charles Darwin ist das Fragen nach dem Ursprung eine der zentralen Zielsetzungen in der Biologie. Innerhalb der Chemie, dieser betont pragmatischen und traditionell „a-historischen“ Wissenschaft, nach dem Ursprung der Struktur eines Naturstoffs zu fragen, erscheint indessen eher ungewöhnlich. Im Zuge der in Teilbereichen stetig zunehmenden inhaltlichen und methodischen Verschmelzung von Chemie und Biologie ändert sich dies für die Naturstoffchemie zumindest soweit, als sie sich als Teil der Naturwissenschaft versteht. Das Instrumentarium der Molekular-

biologie macht es heute möglich, zu Teilantworten auf die Frage zu gelangen, auf welchen Wegen Naturstoffe durch das Walten der biologischen Evolution auf molekularer Ebene hervorgebracht und selektiert wurden. Andererseits gibt es heute in der Naturstoffsynthese der organischen Chemie zahlreiche Beispiele, wo der generelle Verlauf der Biosynthese ganzer Naturstoff-Familien aufgrund rein chemischer Durchsicht vermutet und für die Syntheseplanung fruchtbar gemacht werden kann. Dabei ist es vielfach möglich, Ursprung und Existenz solcher Biosynthesen so weit und so glaubhaft auf rein chemische Gründe zurückzuführen, dass solchen Begründungen der Rang von Einsichten in die Ätiologie der in Frage stehenden Naturstoffstrukturen zukommt.

Der Frage nach der Ätiologie der molekularen Struktur eines Naturstoffs oder dessen Strukturtyps kommt dann ein besonderes Gewicht zu, wenn sie sich auf Biomoleküle bezieht, die für das Phänomen Leben grundlegend sind, und von denen man aufgrund konvergenter Hinweise chemischer und biologischer Kriterien vermuten kann, dass ihr Ursprung mit der Biogenese, dem Ursprung des Lebens, zusammenhängt.<sup>[4]</sup> Fragen und Quellen für Antworten liegen hier eher auf dem Territorium chemischer denn biologischer Forschung; zu welchem Anteil, ist Teil des Problems. Die Ätiologie einer in solchem Sinne potentiell primordialen Naturstoffstruktur bezieht sich auf jene Periode der chemisch-biologischen Evolution, die zwischen den chemischen Vorgängen einer präbiotischen Ära und jenem Geschehen liegt, als dessen Ergebnis Biologen den „letzten gemeinsamen Vorläufer“ aller biologischer Organismen sehen. Es ist dies die kritische Phase in der Emergenz des Lebendigen, von deren Ort, Dauer und Chemie des Geschehens wir nichts wissen. Auf chemisch experimentellem Wege Licht in dieses Dunkel zu tragen, ist die Zielsetzung der Suche nach der Ätiologie *potentiell* primordialer Biomolekülstrukturen. Das Wort „primordial“ soll in diesem Zusammenhang Zugehörigkeit zu eben jener kritischen Phase bedeuten.

## Aus dem Inhalt

1. Einleitung	12619
2. Zur präbiotischen Chemie	12620
3. Zur Ätiologie der Vitamin-B <sub>12</sub> -Struktur	12621
4. Zur Ätiologie des Strukturtyps der Nukleinsäuren	12629
5. Versuch eines Ausblicks	12669

[\*] Prof. A. Eschenmoser  
Organisch-chemisches Laboratorium der ETH Zürich, Hönggerberg  
Wolfgang-Pauli-Strasse 10, CHI H309, 8093 Zürich (Schweiz)

Eine Ätiologie von primordialen Biomolekülstrukturen beschreibt naturgemäß nicht Fakten, sondern Vorstellungen, konzeptuell und experimentell abgestützte Vorstellungen über chemisch-biologische Faktoren und Umstände, welche für die Entstehung und Selektion einer Struktur (oder eines Strukturtyps) bestimmend waren. Die Festlegung hat sich vor allem auch auf jene kritische Phase der Biogenese zu beziehen, von welcher man sich vorstellt, dass in ihr Selektion auf noch rein chemischer Ebene (durch Autokatalyse) biologischer Selektion voranging.

Die Ätiologie einer Biomolekülstruktur handelt vorab von *Formation* und *Funktion*, beide waren für die Selektion der Struktur Voraussetzung. Formation und Funktion unterscheiden sich als Zielrichtungen ätiologisch ausgerichteter Arbeit nicht zuletzt darin, dass einer Suche nach der Formation unausweichlich das Handicap „historischer“ Forschung anhaftet, während eine Fokussierung auf die Funktion beispielsweise in der Erforschung zeitinvarianter Zusammenhänge zwischen biologischer Funktion und chemischer Struktur bestehen kann. Bei jeglichem Fragen nach der Ätiologie einer Biomolekülstruktur werden letztlich die beiden Zielrichtungen ineinanderfließen, und Antworten werden eine Synthese der Ergebnisse erfordern.

## 2. Zur präbiotischen Chemie

„Par ma foi, il y a plus de quarante ans que je dis de la prose, sans que j'en suse rien“.<sup>[6]</sup> Hinsichtlich des Begriffs „Ätiologie“ im Kontext des Ursprungs potentiell primordialer Naturstoffe hätte Stanley Miller (1930–2007), der Begründer der präbiotischen Chemie,<sup>[5]</sup> dieses wohlbekannte Diktum Molières zur Prosa aus „Le Bourgeois Gentilhomme“ zitieren und darauf hinweisen können, dass es die „präbiotische Chemie“ ist, die seit den historischen Experimenten von ihm selbst<sup>[5a]</sup> und von Juan Oro<sup>[5b]</sup> sich experimentell mit der Frage nach der Herkunft der Grundbausteine des Lebens befasst und sich der Suche nach der Chemie des Ursprung des Lebens widmet. Die bisher erzielten Ergebnisse der präbiotischen Chemie Miller-Oro'schen Typs haben die naturwissenschaftliche Sicht auf die Frage der Lebensentstehung soweit geprägt, als heute allgemein angenommen werden darf, dass zentrale chemische Bausteine des Lebens, vor allem  $\alpha$ -Aminosäuren, Nukleobasen und Zucker, natürliche Bestandteile einer primordial-geochemischen Umwelt auf unserer Erde (oder anderswo) waren.<sup>[7]</sup> Vertreter dieser Biomolekülfamilien bilden sich – wenn auch jeweils in nur geringsten Konzentrationen und immer zusammen mit komplexen Gemischen abiologischer organischer Materials – unter einer großen Vielfalt mit hoher Energie auf organisches Material einhämmernder und anschließend die Einwirkung von Wasser ermöglichender Bedingungen. Zumindest für einige dieser Bedingungen nimmt man an, dass sie Modellen primordialer Umweltbedingungen entsprechen. Über die Frage nach der Relevanz solcher Experimente für unsere Vorstellungen über die Entstehung des Lebens ist man sich heute – im deutlichen Gegensatz zur Frühzeit der präbiotischen Chemie – keineswegs mehr einig, und dies wohl nicht zu Unrecht. Der Zwiespalt liegt in den gegensätzlichen Prämissen

der miteinander konkurrierenden Postulate einer *heterotrophen*<sup>[8,9]</sup> versus einer *autotrophen*<sup>[10]</sup> Biogenese: Aus ersterer Sicht war das auf der Erde über Äonen angesammelte organische Material Substratquelle und damit, zusammen mit Energiequellen, die Voraussetzung für Selbstorganisationsprozesse, die letztendlich zu Leben führten. Aus der Sicht eines autotrophen Lebensbeginns indessen war all das organische Material terrestrischen oder extraterrestrischen Ursprungs, das sich auf der Erde angesammelt haben mochte, für den entscheidenden Prozess der Lebensentstehung irrelevant. Angetrieben durch die freie Energie von einigen wenigen chemischen Grundbausteinen aus lokalen Quellen und natürlichen Reduktionsmitteln habe sich dieser entscheidende Prozess durch chemoselektive und rückkoppelnde Reaktionssysteme seine organischen Bausteine von Anbeginn selbst synthetisiert.

Die Bedeutung der bisherigen Beobachtungen der präbiotischen Chemie ist unabhängig davon, welches Bild der zwar nicht mehr zu rekonstruierenden, jedoch in Zukunft experimentell zu modellierenden Wirklichkeit letztendlich eher entsprechen wird. Die Tatsache der spontanen Bildung von Strukturtypen biologischer Grundbausteine unter vielfältigsten und elementarsten Bedingungen der Zufuhr überschüssiger Energie zu organischer Materie kann nur heißen, dass diese Bausteine zur Menge jener organischen Verbindungen gehören, auf deren Bildung hin unter solchen Bedingungen die Materie determiniert ist. In kohlenstoffhaltigen Meteoriten sind Gemische organischer Verbindungen extraterrestrischen Ursprungs gefunden worden, die Gemischen, wie sie in Experimenten der präbiotischen Chemie gebildet werden, zuweilen auffallend ähnlich sind.<sup>[11]</sup> Dies spricht für Ubiquität der Umweltbedingungen, unter welchen sich solche Determiniertheit äußert. In ähnliche Richtung weist die zunehmend reicher werdende Palette organischer Moleküle, deren Existenz sich im interstellaren Raum spektroskopisch nachweisen lässt.<sup>[12]</sup> Die Frage, ob Determiniertheit der Materie über den Bereich einfacher organischer Grundstoffe des Lebens hinausreicht und für die Emergenz des Phänomens Leben selbst zutrifft, wird vielfach bejaht.<sup>[13]</sup> Doch im Grunde ist eine Antwort auf diese bedeutende Frage solange verfrüht, als wir nicht haben zeigen können, wie Leben entstanden ist oder entstehen kann.

Schon früh haben auf rein *theoretischer* Ebene physikalische Chemiker das thermodynamisch-kinetisch Grundsätzliche einer Entstehung von Leben durch Selbstorganisation der Materie aufgezeigt.<sup>[14]</sup> Das Potential der Materie zu solcher Selbstorganisation ist eine Konsequenz des zweiten Hauptsatzes der Thermodynamik und der Eigenschaften der Materie auf molekularer Ebene. Zu Realität werden kann dieses Potential dadurch, dass ein spezifisches, durch kinetische Barrieren weitab vom Gleichgewicht gehaltenes chemisches Umfeld kraft seiner freien Energie ein dynamisches System von Konstituenten und Katalysatoren generiert, das besagte kinetische Barrieren umgeht, dadurch eine Annäherung des Umfelds an das Gleichgewicht katalysiert, jedoch seiner eigenen thermodynamischen Instabilität durch autokatalytische Replikation entgeht. Das Aufkommen eines solchen Systems entspricht einem kinetischen Analogon des Prinzips von Le Chatelier.<sup>[15]</sup> In einem der denkbaren Szenarien sind

Konstituenten und Katalysatoren des Systems in ihrer Formation und Funktion mit einem zentralen, autokatalytisch sich replizierenden Agens vernetzt, und zwar dergestalt, dass die Replikation des Agens indirekt die Replikation der von ihm kontrollierten Katalysatoren und hiervon abhängender Konstituenten impliziert. Hieraus definieren sich Identität, Autonomie und Selbsterhaltung des System in einem spezifischen Umfeld. Erweist sich das System zu kontingenter Diversifizierung seiner katalytischen Funktionen fähig, kommt ihm das Potential der Anpassung an veränderte Umfeldbedingungen zu, und somit das Potential der Evolvierbarkeit.

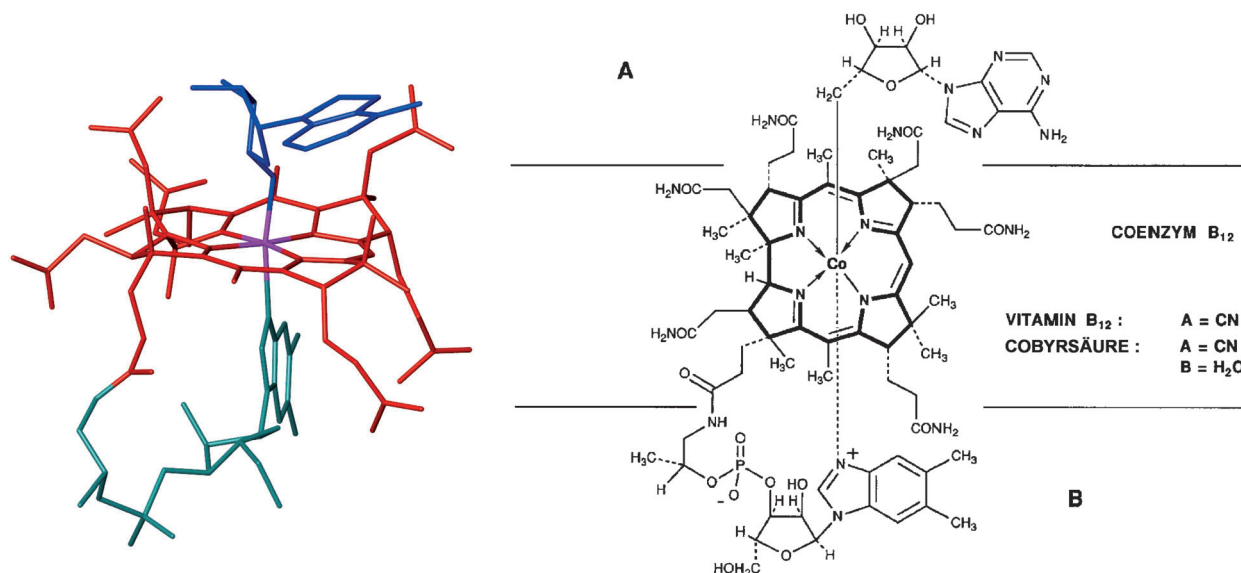
Die präbiotische Chemie klassischer Art mag im Nachweis der Bildung von biomolekularen Bausteinen unter potentiell primordialen Bedingungen erfolgreich gewesen sein, vom eigentlichen Ziel der Biogeneseforschung jedoch, der experimentellen Realisierung von konzeptuell modellierten, potentiell primordialen Selbstorganisationsprozessen ausgehend von *natürlichen* Bausteinen, ist sie sozusagen noch „Lichtjahre“ entfernt. In jüngster Zeit formiert sich deshalb innerhalb der Chemie eine experimentelle Forschungsrichtung, die sich „Systemchemie“ nennt;<sup>[16]</sup> ihr Aufkommen ist Ausdruck der Einsicht, dass es künftig in der experimentell-chemischen Biogeneseforschung nebst Konstitution und Formation der molekularen Akteure vor allem um deren *Funktion* gehen muss.

Die experimentell-chemische Biogeneseforschung wird sich thematisch auf analoge Art entzweien, wie dies die organische Chemie von Beginn an tat: über die ihr ursprünglich zugedachte Aufgabe der Untersuchung chemischer Verbindungen biologischen Ursprungs hinaus hat sie sich immer auch von ihr selbst hervorgebrachten, „künstlichen“ Verbindungen des Kohlenstoffs gewidmet. Analog wird sich die Chemie im Versuch einer experimentellen Modellierung elementarster Lebensprozesse von der Einschränkung auf die

natürlichen biomolekularen Bausteine befreien und das Problem an pragmatisch ausgewählten, künstlichen chemischen Systemen verfolgen. Die experimentelle Modellierung „künstlichen chemischen Lebens“ wird sich als kürzester Weg zum Verständnis dessen erweisen, was „chemisches Leben“ auf elementarster Stufe ausmacht, und auf welchen Wegen solches Leben aus „nur-chemischer Materie“ hervorgehen kann. Was Leben auf einfachster Stufe ausmacht, ist naturgemäß eine Frage, die auch von der Seite der Biologie gestellt wird; die Schaffung der sogenannten „minimalen Zelle“ ist eine der Zielsetzungen der synthetischen Biologie. Der Unterschied in den diesbezüglichen Bemühungen von Chemie und Biologie erinnert an die Unterscheidung, die man innerhalb der Naturstoffchemie zwischen Totalsynthese und Partialsynthese eines Naturstoffs macht. Dass indessen eine solche Unterscheidung nur solange gelten soll, als nicht alle molekularen Ingredientien der „minimalen Zelle“ der Biologen totalsynthetisch hergestellt sein werden, ist wohl zu vordergründig. An die Chemie, und nicht an die Biologie, ist letztlich jener Anspruch gestellt, der in dem durch seine positivistische Radikalität und krasse Übertreibung provozierenden, im Kern halt aber letztlich doch zielsicheren Satz von John Desmond Bernal zum Ausdruck kommt: „*If life once made itself, it must not be too difficult to make it again*“.<sup>[9b]</sup>

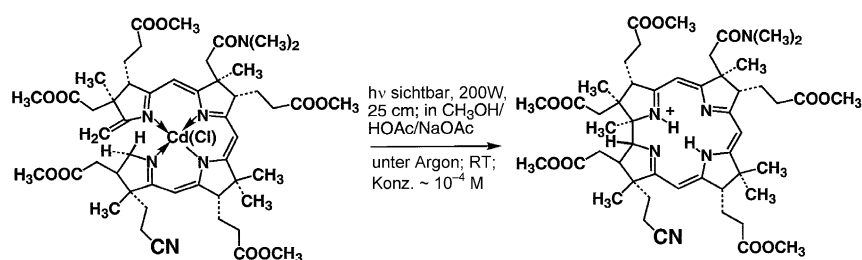
### 3. Zur Ätiologie der Vitamin-B<sub>12</sub>-Struktur

Unter der Überschrift „Vitamin B<sub>12</sub>: Experimente zur Frage nach dem Ursprung seiner molekularen Struktur“ ist vor rund zwei Jahrzehnten in dieser Zeitschrift dargelegt worden,<sup>[17]</sup> wie seinerzeit die Arbeiten zur Synthese des Vitamins B<sub>12</sub> (Abbildung 1) mit einer gewissen Zwangsläufigkeit zur Frage nach dem Ursprung von dessen molekularer Struktur geführt hatten. Solches Fragen ging damals wohl



**Abbildung 1.** Chemische Struktur von Coenzym B<sub>12</sub>: **A** = Ligand oberhalb, **B** = Ligand unterhalb des Corrin-Chromophors. Methylcobalamin: CH<sub>3</sub> als Ligand anstelle von **A**. Vitamin B<sub>12</sub>: CN als Ligand anstelle von **A**. Cobyrsäure: CN als Ligand anstelle von **A**, H<sub>2</sub>O als Ligand anstelle von **B**. (Röntgenstrukturbild zur Verfügung gestellt von Bernhard Kräutler, Innsbruck).

über das in der Naturstoffchemie Übliche hinaus, doch hat diese Überschreitung letztendlich ihre Rechtfertigung in den Ergebnissen der durch sie ausgelösten Experimente gefunden.<sup>[17]</sup> Vitamin B<sub>12</sub> wird ausschließlich von Mikroorganismen biosynthetisiert und, unter diesen, vor allem auch von primitivsten. Schon diese Tatsache lässt in diesem Vitamin eine „archaische“ Biomolekülstruktur vermuten. Was uns damals zur Frage nach dem Ursprung der Vitamin-B<sub>12</sub>-Struktur geführt hatte, war allerdings nicht dies, sondern das letztlich überraschende Ausmaß des Erfolgs einer kritischen Reaktionsstufe, die als zentraler Schritt der photochemischen Variante der B<sub>12</sub>-Synthese eingeplant worden war, die A/D-Präcorrin-zu-Corrin-Cycloisomerisierung (Abbildung 2).<sup>[18–21]</sup> In diesem durch sichtbares Licht induzierten Reaktionsprozess springt im elektronisch angeregten Zustand eines mit Cadmium(II) komplexierten, präcorrinoiden Ligandsystems ein Wasserstoffatom von der Methylengruppe des Ringes D zu dem konstitutionell nicht weniger als 16 Atome entfernten,

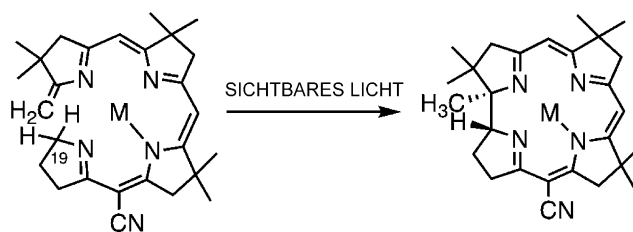


Walter Fuhrer,  
Diss. ETH (1973)

**Abbildung 2.** A/D-Präcorrin-Corrin-Cycloisomerisierungsstufe in der photochemischen Variante der Synthese von Vitamin B<sub>12</sub>.<sup>[21]</sup> Bezeichnung der peripheren fünfgliedrigen Ringe: Ring A (oben links), Ring B, Ring C, Ring D (unten links).

jedoch durch Templatwirkung des Metall-Ions in unmittelbarer Nachbarschaft positionierten Methyliden-Kohlenstoff am Ring A und löst damit einen diastereoselektiv antarafacial verlaufenden 1,15-Makroringschluss zwischen den Ringen A und D aus. Mit hoher Selektivität bildet sich dabei die natürliche *trans*-Verknüpfung der beiden Ringe als Ergebnis stereoelektronischer und sterischer Reaktionskontrolle.<sup>[19–21]</sup>

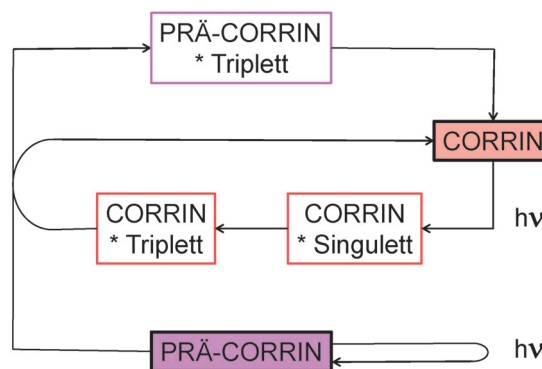
Es lohnt sich, hier einen Moment zu verweilen und von den über diese erstaunliche Reaktion in Modellkomplexen gemachten Beobachtungen einen speziellen Aspekt der Ringschlussreaktion festzuhalten: Eindeutig hat es sich gezeigt, dass die lichtinduzierte A/D-Cycloisomerisation des Cadmium(II)-Modellkomplexes (Abbildung 3) autokatalytisch verläuft.<sup>[22–24]</sup> Der photoangeregte Zustand des Edukt-Chromophors, der die Reaktion auslöst, wird nur auf dem Wege einer Sensibilisierung effizient erreicht. Diese ist eine Triplet-zu-Triplett-Sensibilisierung des Edukt-Chromophors durch den photoaktivierten Produkt-Chromophor (Abbildung 4).<sup>[22–24]</sup> Offenbar ist die Lebensdauer des ersten angeregten Zustands des (fluoreszierenden) Produkt-Chromophors genug hoch, um die Population des entsprechenden Tripletzustands zu ermöglichen, nicht aber die Lebensdauer des ersten angeregten Zustands des (nicht-fluoreszierenden) Edukt-Chromophors. Der Richtung der Sensibilisierung ent-



**Abbildung 3.** In Modellkomplexen festgestellte Eigenschaften der photoinduzierten A/D-Präcorrin-Corrin-Cycloisomerisierung.<sup>[22a,b]</sup> 1) Die Reaktion findet statt mit M = Li, Mg(Cl), Zn(Cl), Cd(Cl), Pd<sup>+</sup>, Pt<sup>+</sup>, nicht aber mit M = H, Cu<sup>+</sup>, Ni<sup>+</sup>, Co(CN)<sub>2</sub>, Mn(Cl). 2) Der 19,19-Dideutero-Pd<sup>II</sup>-Komplex cyclisiert langsamer als der analoge Protiumkomplex. Ein Deuteriumatom wandert zum Methyliden-Kohlenstoff. 3) Sauerstoff und spezifische Triplet-Löcher unterdrücken die Cyclisierung des Zink- und Cadmiumkomplexes. 4) Die Cyclisierung des Zink- und Cadmiumkomplexes wird durch das Cyclisierungsprodukt (und durch den Synthesevorläufer des Edukts) stark sensibilisiert. [R. Neier, Diss. ETH, No. 6178 (1978); *Chem. Soc. Rev.* **1976**, 5, 377].

sprechend, liegt die Lichtabsorption des Edukts bei etwas längeren Wellenlängen als die des Produkts, dies als Folge der endständigen Methyliden-Doppelbindung als Teil des Edukt-Chromophors. Diese Methylidengruppe ist dafür verantwortlich, dass der erste angeregte Zustand des Edukt-Chromophors den reaktiven Tripletzustand – vermutlich wegen zu rascher strahlungsloser Deaktivierung – nicht zu erzeugen vermag.<sup>[22a,23]</sup>

Die außergewöhnliche konstitutionelle Effizienz der A/D-Ringschlussreaktion hatte uns damals zur Frage geführt, ob nicht die (zu jener Zeit noch weitgehend unbekannte) Biosynthese des Vitamins B<sub>12</sub> von einem derart außergewöhnlichen Bildungspotential des kritischen Strukturbezirks der A/D-Ringverknüpfung ebenfalls Gebrauch machen müsste. Die Frage löste eine umfassende, durch mechanistische Überlegungen geleitete Suche nach potentiell biokompatiblen (nicht-photochemischen) Varianten der A/D-Präcorrin-Cycloisomerisierung aus. Das Ergebnis war die Entdeckung einer ganzen Palette *nicht*-photochemischer, jedoch mit der ursprünglichen photoinduzierten Reaktion verwandter Bildungsweisen des Makrocyclus des



**Abbildung 4.** Autokatalytischer Verlauf der photoinduzierten A/D-Präcorrin-Corrin-Cycloisomerisierung in Modellkomplexen.<sup>[22a]</sup>

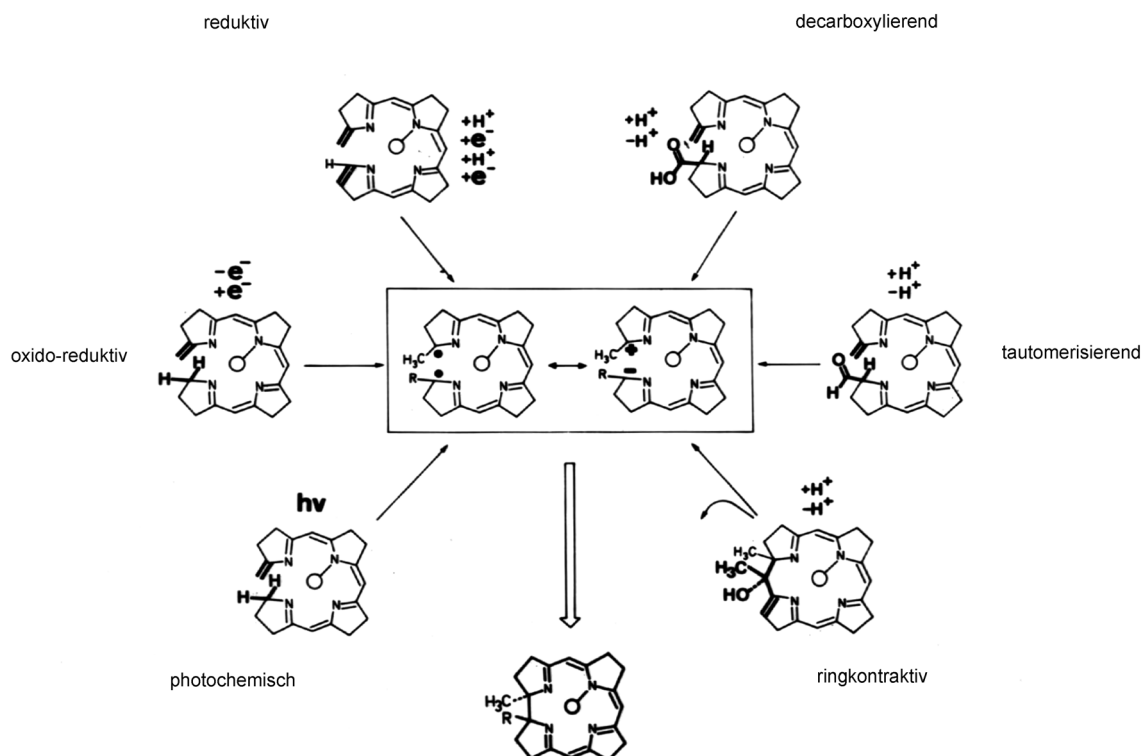
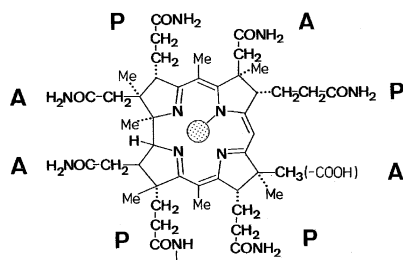


Abbildung 5. Palette experimentell realisierter synthetischer Zugänge zum Ligandensystem des Corrins.<sup>[17]</sup>

Corrins (Abbildung 5).<sup>[25,26]</sup> All dies hat schlussendlich jene Auffassung ins Gegenteil verkehrt, die zur Zeit der Planung des Harvard-ETH-B<sub>12</sub>-Syntheseprojekts geherrscht hatte und die besagte, dass der Molekülbezirk rund um die Verknüpfung der peripheren Ringe A und D den synthetisch am schwierigsten zu bewältigende Teil des B<sub>12</sub>-Moleküls darstelle.<sup>[19a,b,20b,c,27]</sup> Die solcherart veränderte Sicht auf die B<sub>12</sub>-Struktur war der Beginn eines weiteren, über Jahre und mehrere Dissertationen sich erstreckenden Forschungsprojekts,<sup>[17]</sup> das sich im Rückblick als systematischer Versuch präsentiert, auf chemisch-experimentellem Wege Einblick in die Ätiologie des Strukturtyps des Vitamins B<sub>12</sub> zu gewinnen. Dieser Auffassung folgend seien die Ergebnisse jenes Projekts hier nochmals zusammengefasst und aus heutiger Sicht kommentiert.

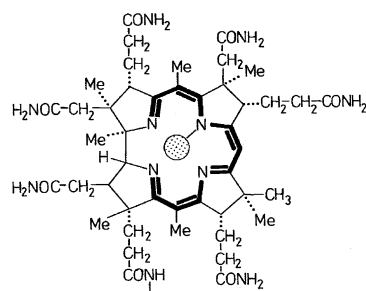
### 3.1. Thermodynamische Stabilität von Strukturelementen des Vitamin-B<sub>12</sub>-Moleküls als ätiologisches Kriterium



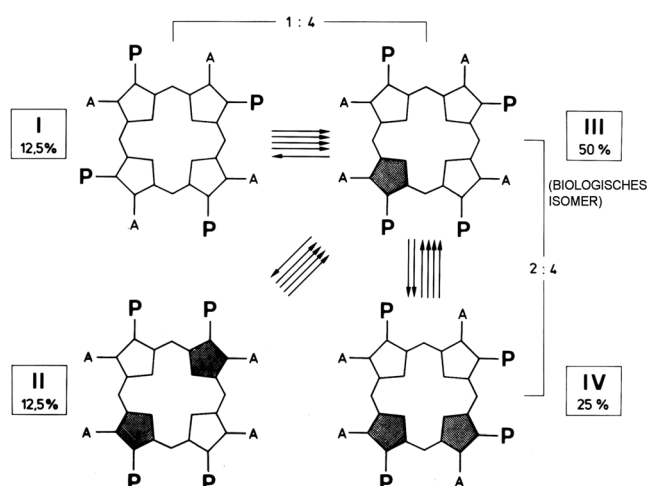
Anordnung der Seitenketten der peripheren Ringe: Die spezifische Anordnung der Essigsäureamid- und Propion-

säureamid-Ketten an der Peripherie der B<sub>12</sub>-Molekülstruktur entspricht der Anordnung der entsprechenden Seitenketten im biosynthetischen Vorläufer aller natürlichen Porphinoide, dem Uroporphyrinogen Typ III. Im Gleichgewicht der insgesamt vier Konstitutionsisomeren Porphyrinogene (Typen I–IV) ist dieser Konstitutionstyp aus entropischen Gründen der bevorzugte (Abbildung 6). Experimentell bildet er sich bei Kondensationsreaktionen monocyclischer Vorläufer unter Bedingungen thermodynamischer Reaktionskontrolle als Hauptprodukt.<sup>[28,29]</sup>

Die Anordnung der Seitenketten an der Peripherie der Vitamin-B<sub>12</sub>-Struktur entspricht der Anordnung, wie sie im thermodynamisch stabilsten Isomer der vier Porphyrinogene vorkommt.



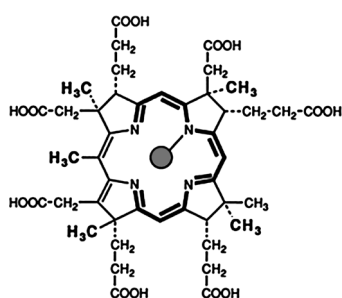
Chromophor des Corrin-Liganden: Unterwirft man Modellverbindungen des hexahydorphinischen Strukturtyps des Uroporphyrinogens komplexierenden Reaktionsbedingungen mit Mg<sup>II</sup>- oder Zn<sup>II</sup>-Salzen in lipophilem Medium, so bilden sich durch Umordnung des gesamten Doppelbin-



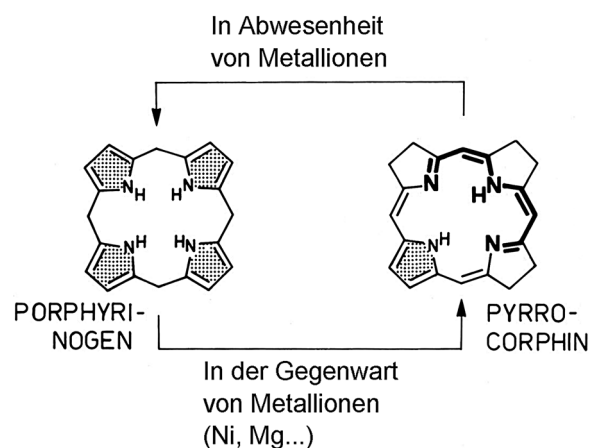
**Abbildung 6.** Uroporphyrinogene I–IV (A = Acetsäure-Seitenkette, P = Propionsäure-Seitenkette). Richtung und Anzahl der Reaktionspfeile möglicher Isomerisierungsschritte an jeweils einem der vier peripheren Ringe jedes Isomers erläutern die Statistik der Gleichgewichtslage unter den vier Uroporphyrinogen-Isomeren.

dungssystems neutrale Metallkomplexe des Ligandensystems Pyrrocorphin oder, je nach Bedingungen miteinander im Gleichgewicht stehend, entsprechend monokationische Komplexe des Ligandensystems Corphin (Abbildung 7).<sup>[30]</sup> Beide Ligandensysteme sind Isomere entsprechender tetrapyrrolischer Porphyrinogene, enthalten jedoch, im Gegensatz zu letzteren, konjugierte Chromophorsysteme, die konstitutionell im Bereich von drei der peripheren Fünfringe dem Chromophor des Corrins entsprechen. Demetalliert man solche Komplexe, und unterwirft man die freien Pyrrocorphin-Liganden tautomerisierenden Bedingungen, so bilden sich die ursprünglichen Porphyrinogene zurück<sup>[30,31]</sup> (Abbildung 7).

*Im Tautomeriegleichgewicht hexahydorphorphinoider Liganden liegen in Metallkomplexen – jedoch nicht in freien Liganden – die Tautomere mit corrinoidem Ligandchromophor in einer thermodynamischen Mulde.*

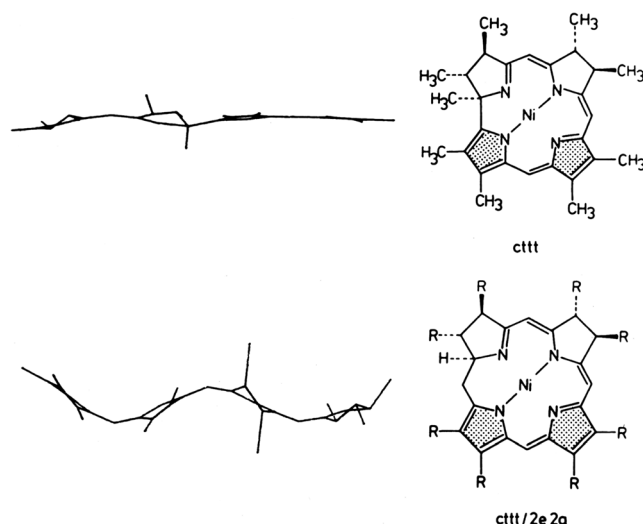


**Ringgliederzahl des Makrorings im Corrin-Liganden:** Das Ligandensystem des Corrins unterscheidet sich von jenem des Corphins nebst Oxidationsniveau und konstitutionellen Details im Chromophorsystem vor allem in der Größe des internen Makrorings.<sup>[32]</sup> Vergleichende Röntgenstrukturbestimmungen von quadratisch-planaren Nickel(II)-Komplexen von einerseits corphinoiden und andererseits corrinoiden Li-



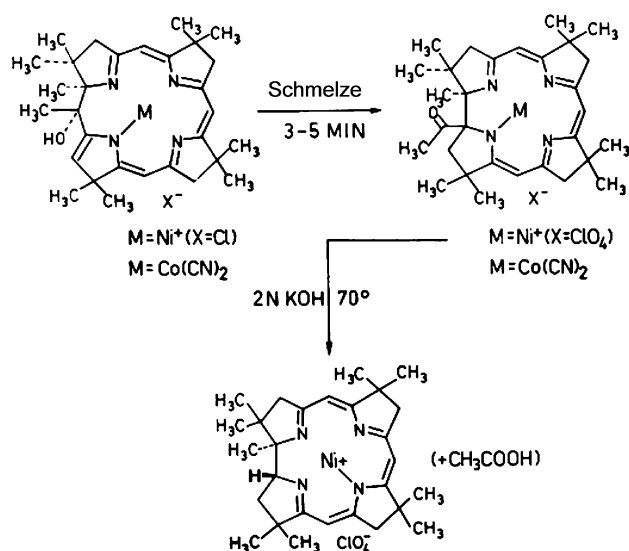
**Abbildung 7.** Die Porphyrinogen-Form von Hexahydorphorphyrinen isomerisiert zur Pyrrocorphin-Form unter Bedingungen der Komplexbildung mit Metallionen in inertem Reaktionsmedium, während freie Pyrrocorphin-Liganden unter tautomerisierenden Bedingungen in die entsprechenden Porphyrinogene übergehen.<sup>[30]</sup>

ganden zeigen in ersteren, jedoch nicht in letzteren, eine konformationelle Deformation des Ligandensystems (Abbildung 8). Die spezifische Art dieser Deformation deutet darauf hin, dass der Corphin-Komplex gespannt, d.h. der



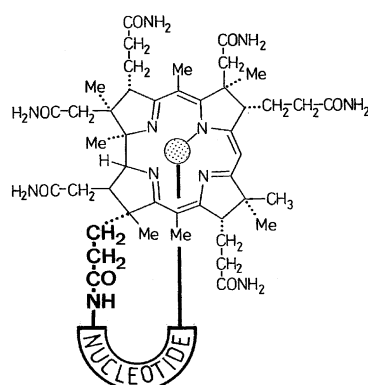
**Abbildung 8.** Röntgenstrukturen von  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Komplexen eines corrinoiden und eines corphinoiden Liganden.<sup>[33]</sup> Für ein Metallion wie  $\text{Ni}^{\text{II}}$  erscheinen die Abmessungen des Koordinationsraums eines Corrinliganden als gerade passend, jene eines corphinoiden Liganden jedoch als zu groß.

Koordinationsraum des (16-gliedrigen) Corphin-Liganden für das räumliche Koordinationsbedürfnis eines  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Ions zu groß ist, während der Koordinationsraum des (15-gliedrigen) Corrin-Liganden anscheinend gerade passt.<sup>[33]</sup> Diese Vorstellung besitzt eine eindruckliche Stütze in der Beobachtung, dass  $\text{Ni}^{\text{II}}$ - und  $\text{Co}^{\text{III}}$ -Komplexe eines synthetischen 20-Methyl-20-hydroxydihydrocorphins sich thermisch irreversibel in entsprechende 19-Acetylcorrin-Komplexe umlagern (Abbildung 9).<sup>[26]</sup>



**Abbildung 9.** Thermische Umwandlung von  $\text{Ni}^{\text{II}}$ - und  $\text{Co}^{\text{III}}$ -Komplexen eines 20-Methyl-20-Hydroxydihydrocorphins in entsprechende 19-Acetylcorrin-Komplexe und hydrolytische Deacetylierung des  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -19-Acetylcorrin-Komplexes in den  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Corrin-Komplex.<sup>[26]</sup>

*$\text{Ni}^{\text{II}}$ - und  $\text{Co}^{\text{III}}$ -Komplexe des Corrins sind thermodynamisch stabiler als entsprechende Komplexe des Corphins.*



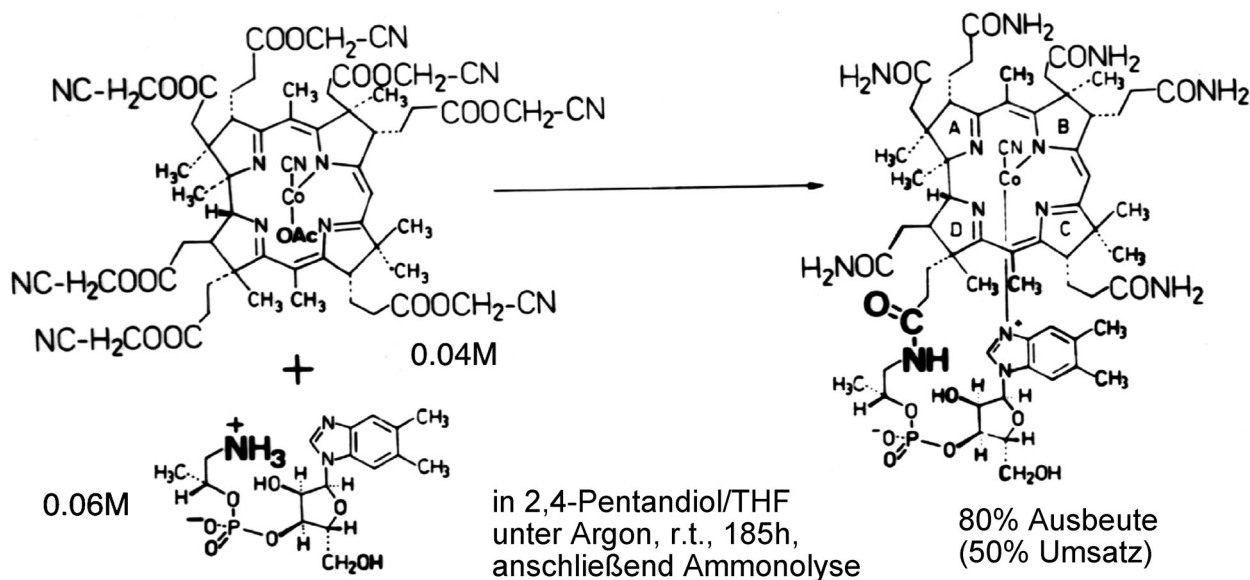
**Anknüpfung des 19-gliedrigen Nukleotid-Loops am Corrin-Liganden:** Die Anknüpfung der Nukleotidkette auf der „Unterseite“ des Vitamin- $\text{B}_{12}$ -Moleküls an das Cobalt und die Propionsäure-Seitenkette des Ringes D als Teil eines insgesamt 19-gliedrigen Rings ist nur eine von insgesamt vier konstitutionell analogen Möglichkeiten. Völlig analog könnte die Nukleotidkette auch an eine der ebenfalls auf der „Unterseite“ des Moleküls sich befindlichen Propionsäurefunktionen der Ringe A, B oder C angeheftet sein. Ein im Hinblick auf diese Möglichkeit durchgeführtes Experiment zeigte folgendes Ergebnis: Aktiviert man in der Cobyrynsäure (die dem Vitamin  $\text{B}_{12}$  entsprechende Heptacarbonsäure) alle sieben Carboxylfunktionen auf identische, jedoch dergestalt milde Weise, dass die Aktivierung unter geeigneten Reaktionsbedingungen nur für eine *intra*-molekulare, nicht aber für eine *inter*-molekulare Amidierung durch die endständige primäre Aminogruppe der freien Nukleotidkette ausreicht,

und ließ man die Nukleotidkette als freier Reaktionspartner unter sehr milden Reaktionsbedingungen auf den siebenfach aktivierten Cyanoacetoxy- $\text{Co}^{\text{III}}$ -cobyrynat-Komplex einwirken, so fand man im Reaktionsgut (nach Amidierung mit Ammoniak) als Reaktionsprodukt praktisch ausschließlich Vitamin  $\text{B}_{12}$  (nebst Ausgangsmaterial in seiner Heptaamid-Form) (Abbildung 10).<sup>[17,34]</sup> Via Benzimidazol-kern auf der Molekül-Unterseite reversibel mit dem Cobalt(III)-Ion komplexiert, reagiert die Nukleotidkette mit ihrer endständigen Aminogruppe in einer intramolekularen Amidierung *regioselektiv* mit der aktivierten Carboxylfunktion des Ringes D und bildet dadurch die *natürliche* Form des 19-gliedrigen Nukleotid-Loops. Die Reaktion ist irreversibel und läuft demzufolge unter kinetischer Kontrolle ab; die Ursache ihrer Regioselektivität ist in der konformationellen Kontrolle zu sehen, die durch unterschiedliche thermodynamische Stabilität entsprechender Konformationen der Nukleotidkette in den vier (formal) möglichen 19-gliedrigen Loop-Versionen auf die Geschwindigkeit der Amidierungsstufe ausgeübt wird.<sup>[35]</sup>

*Die im Vitamin- $\text{B}_{12}$ -Molekül vorliegende, spezifische Verknüpfung der Nukleotidkette mit der Propionsäurefunktion des Ringes D ist die thermodynamisch stabilste unter vier konstitutionell analogen Möglichkeiten.*

Als Fazit ergibt sich, dass alle vier in diesen Experimenten angezielten Strukturelemente des Vitamin- $\text{B}_{12}$ -Moleküls thermodynamisch stabiler sind als konstitutionelle Alternativen, die aus chemischer Sicht sich anbieten, zumindest unter den verwendeten experimentellen Bedingungen. Kann ein dergestalt indirekt und mosaikartig erbrachter experimenteller Nachweis thermodynamischer Begünstigung von Teilen einer Biomolekülstruktur ätiologisch relevant sein? Oder im Hinblick auf die  $\text{B}_{12}$ -Struktur spezifischer gefragt: War die thermodynamische Begünstigung der vier Strukturelemente gegenüber den genannten Alternativen für die *Formation* und biologische *Selektion* der  $\text{B}_{12}$ -Struktur maßgebend?

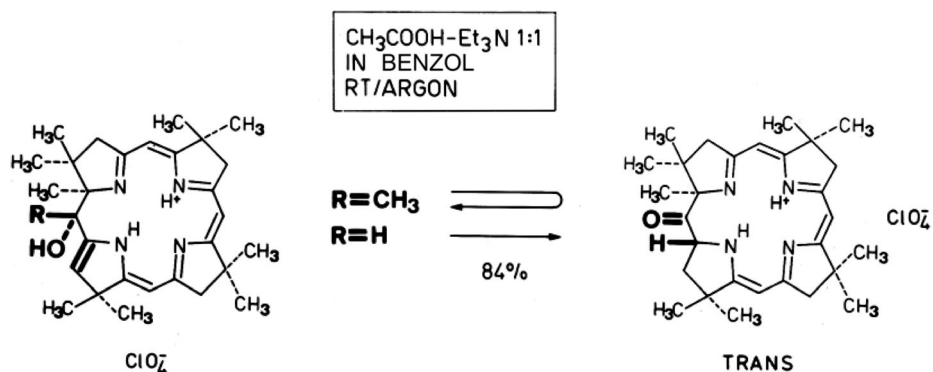
Grundsätzlich kann relative thermodynamische Stabilität in einem biologischen Selektionsprozess sich sehr wohl als Selektionsfaktor auswirken, denn biochemisches „Tinkering“ als Voraussetzung eines biologischen Evolutionsschritts wird Unterschieden in thermodynamischer Produktstabilität soweit folgen, als diese in ihrem Einfluss nicht von gegenteiliger Selektivität kinetischer Kontrolle überspielt werden. Die oben erwähnte, direkt und selektiv zu Vitamin  $\text{B}_{12}$  führende Nukleotidierung ist ein illustratives Beispiel dafür, wie durch (im vorliegenden Fall konformationelles) „Tinkering“ thermodynamische Stabilität als Selektivitätsfaktor über kinetische Kontrolle und Irreversibilität sich hinwegsetzen kann. Darüber hinaus kann nun aber dieses spezielle Experiment durchaus den Rang eines Modells für die biologische Selektion der spezifischen Positionierung der Nukleotidkette in der  $\text{B}_{12}$ -Struktur beanspruchen. Dies unter der Voraussetzung, dass von den vier Nukleotid-Loop-Varianten entweder das stabilste Loop-Isomer sich als funktionsbestes erwies, oder aber die Funktion sich an dieses thermodynamische stabilste und deshalb gegebenenfalls häufigste Isomer adaptiert hat. Nach heutigen Kenntnissen über den Mechanismus von  $\text{B}_{12}$ -katalysierten Reaktionen müsste die (in den vier Nukleotid-Loop-Varianten unterschiedliche) Lage des „base-on/base-



**Abbildung 10.** Durch die relative thermodynamische Stabilität des Produkts bedingte *kinetische* Bevorzugung der Anknüpfung der Nukleotidkette des Vitamins B<sub>12</sub> an die Propionsäure-Seitenkette des Ringes D.<sup>[17,34]</sup> Heptacyanomethylcobyrinat reagiert mit der freien Nukleotidkomponente *regioselektiv* an der propionischen Carboxylfunktion des Ringes D, ohne vorherige Differenzierung der reagierenden Estergruppe [F. Kreppelt, Diss. ETH, No. 9458 (1991); *Angew. Chem.* 1988, 100, 5; *Angew. Chem. Int. Ed.* 1988, 27, 5.]

off“-Gleichgewichts eine der funktions- und damit auch selektionsrelevanten Moleküleigenschaften gewesen sein.<sup>[35]</sup>

Zu den charakteristischen Strukturelementen des Vitamin-B<sub>12</sub>-Moleküls gehört auch der Kranz an Kohlenstoff gebundener Methylgruppen an der Peripherie des Ligandsystems. Ihr schrittweiser enzymatischer Einbau in das Molekül des Uroporphyrinogens mit Adenosylmethionin als Methylierungagens präsentiert sich als ob die B<sub>12</sub>-Biosynthese<sup>[36,37]</sup> den Übergang der im unkomplexierten Zustand stabileren tetrapyrrolischen Form des Makrocyclus in die corphinische und von dort in die corrinische Form „erzwingen“ wollte, ohne die Mitwirkung von Metallionen beanspruchen zu müssen. Eine dieser C-Methylierungen (jene der meso-Stellung zwischen den Ringen A und D) scheint zudem noch eine ganz besondere Funktion zu erfüllen: In der B<sub>12</sub>-Biosynthese unterstützt diese Methylgruppe den Prozess der Ringkontraktion des corphinischen in den corrinischen Makroring, oder ist gar deren Voraussetzung. In Modellsystemen haben wir ein Experiment durchgeführt,<sup>[26b,38,39]</sup> dessen Ergebnis als Hinweis auf eine zusätzliche Aufgabe dieser meso-ständigen Methylgruppe aufgefasst werden kann, der Aufgabe nämlich, eine bei Abwesenheit der Methylgruppe als Gefährdung der Ringkontraktionsstufe zu befürchtende, irreversible und gegebenenfalls sehr leicht eintretende Nebenreaktion zu blockieren (Abbildung 11).<sup>[40]</sup>



**Abbildung 11.** Irreversible Umwandlung in einem 20-Hydroxydihydrocorphin, die in einem entsprechenden 20-Hydroxy-20-methyldihydrocorphin blockiert ist.<sup>[26b]</sup>

Im Zuge unserer Untersuchungen zur Chemie hexahydroporphinoider Ligandmodellsysteme mit corphinischer Chromophorstruktur haben wir auch C-Methylierungen durchgeführt und in deren Verlauf biomimetisch anmutende Regioselektivität beobachtet (Abbildung 12).<sup>[41]</sup> Die Frage, ob solche C-Methylierungen Teil vor-biologischen Geschehens hätten sein können, ist wohl zu verneinen. C-Methylierungen, so einfach sie äußerlich auch erscheinen mögen, gehören – wenigstens aus heute vorherrschender Sicht – nicht zur Reaktionspalette der präbiotischen Chemie.

Noch viel eher als bei anderen archaisch anmutenden Cofaktorstrukturen, von denen vermutet wird, dass sie strukturell und funktionell Fossilien eines primordialen chemischen Geschehens sein könnten,<sup>[17,40,42]</sup> ist im Kontext der Ätiologie des strukturell komplexesten aller Cofaktoren, des Vitamins B<sub>12</sub>, die Frage nach strukturell einfacheren, potentiellen Vorläufern aufzuwerfen. Aus chemischer Sicht scheint es naheliegend, nach möglichen B<sub>12</sub>-Vorläufern zu fragen, die

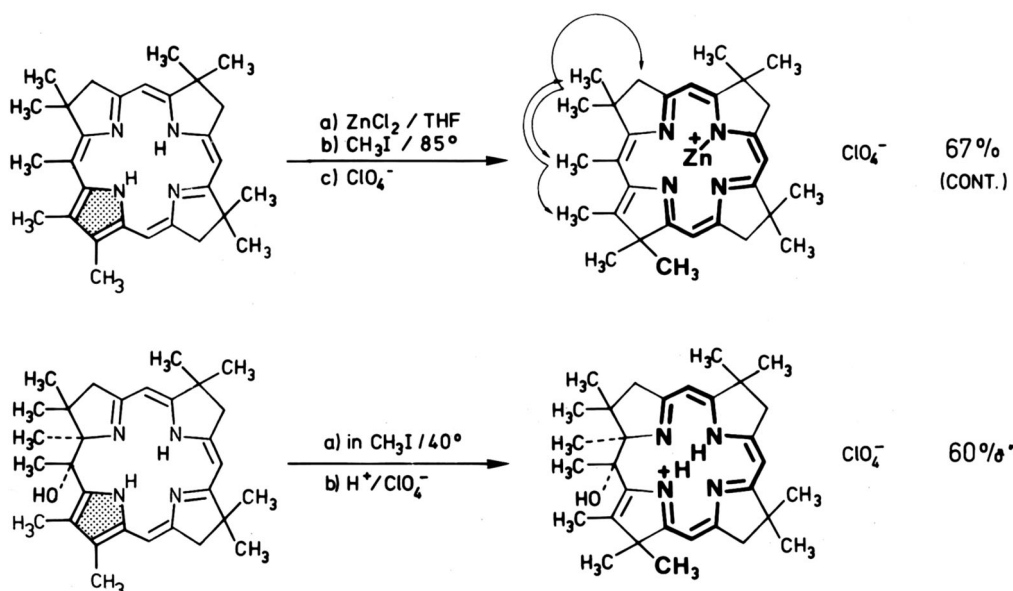


Abbildung 12. Biomimetische C-Methylierungen an der Peripherie von Pyrrocorphin-Modellliganden.<sup>[41]</sup>

ebenfalls dem Strukturtyp des Corrins angehören und von jenem des Uroporphyrinogens sich abgeleitet hätten, jedoch an all jenen Stellen der Ligandperipherie, wo im heutigen Vitamin- $\text{B}_{12}$ -Molekül Methylgruppen sitzen, Wasserstoffe getragen hätten. Gründe für eine solche Vorstellung sind die experimentell beobachtete leichte Zugänglichkeit von Corphin-Komplexen aus Porphyrinogenen (vgl. oben) und die leicht und unter verschiedensten Bedingungen erfolgende Bildung der Uroporphyrinogene aus dem monopyrrolischen Vorläufer Porphobilinogen. Im vorliegenden Zusammenhang hat vor allem die wunderliche Tatsache Gewicht, dass der statistisch wahrscheinlichste Uroporphinogen-Typ zugleich das natürliche Isomer ist; dies weist mit einigem Nachdruck auf einen vor-enzymatischen Ursprung der gesamten Familie der porphinoïden Naturstoffe hin.<sup>[28]</sup> Aus der Sicht der präbiotischen Chemie darf man die säurekatalysierte Tetramer-(oid)isierung von Porphobilinogen zum statistisch dominierten Gemisch der vier Uroporphyrinogene wohl mit zu den schönsten Ergebnissen der „Naturstoffsynthese unter potentiell präbiotischen Bedingungen“ zählen.<sup>[28–29,43]</sup> Enttäuscht haben allerdings die Ergebnisse bisheriger Versuche, die formal ebenfalls so attraktive Stufe der Dimer(oid)isierung der Aminolävulinäure zu Porphobilinogen unter eben solchen Bedingungen zu erreichen.<sup>[44]</sup> Sogar Aminolävulinäure, so einfach sich diese in konstitutioneller wie auch biosynthetischer Hinsicht präsentiert, bleibt für die Naturstoffsynthese unter potentiell präbiotischen Bedingungen ein Puzzle.<sup>[45]</sup>

Wir haben versucht, den Weg ausgehend von einem Derivat des Uroporphinogens zu entsprechenden Corphin-Komplexen und von dort zu Wasserstoff statt Methylgruppen tragenden Corrin-Komplexen nicht nur gedanklich, sondern auch experimentell zu beschreiten.<sup>[46,47]</sup> Dabei erwies sich der erste Schritt der Porphinogen-zu-Pyrrocorphinat-Umwandlung als begehbar, wenn auch um einiges schwieriger als früher bei peripher nur mit einfachen Alkylgruppen substi-

tuierten Modellen. Trotz eingehender Versuche scheiterten wir aber an der Aufgabe, an uroporphyrinoden Modellen – auch solchen, die in der meso-Stellung zwischen den Ringen A und D eine Methylgruppe tragen – einen Corphin-Komplex in einen Corrin-Komplex umzuwandeln.<sup>[48]</sup>

Wiewohl Misserfolge auch hier – und eigentlich hier noch viel eher als bei rein chemisch orientierten Syntheseprojekten – grundsätzlich nichts entscheiden, scheint uns doch unser Scheitern jener chemischen Komplexität der Reaktionswege zu entsprechen, welche die

Biosynthese des Vitamins  $\text{B}_{12}$  in die Umwandlung corphinischer Zwischenprodukte in den Corrinliganden investiert.<sup>[36,37]</sup> Unter anderem wirft dieses Scheitern die Frage auf, wie weit die beiden Essigsäure-Seitenketten, welche den in der Ringkontraktion involvierten meso-ständigen Kohlenstoff zwischen den Ringen A und D flankieren, für den Corrinisierungsprozess mechanistisch förderlich oder gar Voraussetzung sind. Darin könnte letztlich ein Grund dafür liegen, warum die Ligandstruktur des Vitamins  $\text{B}_{12}$  spezifisch zwischen diesen beiden Ringen und nicht an einer der drei anderen meso-Stellungen kontrahiert ist. Vor allem aber führten unsere Schwierigkeiten zur Frage, warum Vitamin  $\text{B}_{12}$  überhaupt eine Corrin-Struktur und nicht eine entsprechende Corphin-Struktur aufweist, da eine letztere doch auf dem Wege zu ersterer liegt. Weisen thermodynamische Bevorzugung von Corrin- im Vergleich zu Corphin-Komplexen und funktionelle Selektion der Corrinstruktur ätiologisch in die gleiche Richtung?

### 3.2. Warum ein Corrin und nicht ein Corphin?

Die Frage verschiebt die Zielrichtung der ätiologischen Hinterfragung von der *Formation* zur *Funktion*. Sie fragt nach chemischen Gründen für die (als gegeben angenommene) Überlegenheit des corrinischen gegenüber einem corphinischen Ligandensystem für den Funktionstyp des Coenzyms  $\text{B}_{12}$ . Sie spitzt sich auf die Frage zu, in welchen chemischen Eigenschaften ein Cobalt-Corrinkomplex und ein Cobalt-Corphinkomplex sich voneinander unterscheiden. Aus der Sicht dessen, was wir aus Modellstudien über die strukturellen Unterschiede der beiden Ligandensysteme wissen, lässt sich die Frage noch schärfer fassen: Wie unterscheiden sich Corrin- und Corphin-Komplexe in der axial sich abwickelnden Koordinationschemie als Folge der unterschiedlichen Abmes-

sungen des Koordinationsraums, den diese beiden Liganden einem Cobalt(III)- oder Nickel(II)-Ion anzubieten haben?

Die Frage impliziert bereits die Hypothese, die als Teil einer Antwort sich aufdrängt:  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Ionen, im „überdimensionierten“ Corphin-Liganden quadratisch-planar koordiniert, sind im Gegensatz zur Koordination im „optimal dimensionierten“ Corrin-Ligand „koordinativ ungesättigt“, sie weisen eine stärkere Tendenz zu zusätzlicher axialer Koordination auf als im Corrin-Liganden. Dementsprechend erweisen sich axiale Liganden in oktaedrischen Cobalt(III)-Corphin-Komplexen als fester gebunden als in entsprechenden Cobalt(III)-Corrin-Komplexen. Qualitativ ist dieser Unterschied experimentell mehrfach belegt und vor allem für  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Komplexe leicht beobachtbar. So z.B. ist der Modell- $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Komplex des 1,2,2,7,7,12,12,17,17-Nonamethylcorrins in methanolischer Lösung diamagnetisch, und der  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Komplex des entsprechenden 2,2,7,7,12,12,17,17-Octamethylcorphins paramagnetisch und damit – im Gegensatz zum Corrin-Komplex – axial koordiniert (Abbildung 13).<sup>[49]</sup> Für die oktaedrisch koordinierten Cobalt(III)-Komplexe synthetischer Corrins und Corphine ist der Unterschied weniger augenfällig, doch qualitativ unmissverständlich erkennbar, so z.B. an der Leichtigkeit eines axialen Ligandaustauschs: Ein Dicyano-Cobalt(III)-Corphinkomplex verliert seine Cyanoliganden hydrolytisch viel langsamer als ein entsprechender Corrinkomplex.<sup>[50]</sup> Leider haben wir seinerzeit den Vergleich der Chemie von Cobalt(III)-Corrin- und Cobalt(III)-Corphin-Komplexen experimentell nicht soweit vorangetrieben, dass wir heute den Unterschied der Dissoziationsenergien von Alkyl-Cobalt(III)-Komplexen der beiden Ligandsysteme kennen würden (und nicht nur qualitativ einschätzen müssten). Wie Jack Halpern<sup>[51]</sup> erstmals klargestellt hat, besteht die vom Coenzym  $\text{B}_{12}$  generell zu leistende biochemische Funktion darin, als enzymatisch abrufbare Quelle von 5'-Desoxyadenosylradikalen zu dienen. Der im Vergleich zu anderen Bin-

dungsdissoziationsenergien geringe Wert der Dissoziationsenergie der Cobalt-Kohlenstoff-Bindung im Coenzym  $\text{B}_{12}$  (ca.  $30 \text{ kcal mol}^{-1}$ )<sup>[51,52]</sup> ist für die enzymatische Funktion des Cofaktors entscheidend. Deshalb wäre der Vergleich Corphin versus Corrin dieses Energiewerts für eine weitere Verfolgung der Frage wichtig, warum die Natur für die von  $\text{B}_{12}$ -Coenzymen zu leistenden Funktionen den biosynthetisch anspruchsvollen Strukturtyp des Corrins „benötigte“ und nicht mit dem am Biosyntheseweg zu eben diesem Corrin liegenden Strukturtyp des Corphins „sich begnügen konnte“.

### 3.3. Coenzym F-430

In diesem Zusammenhang verdient ein rund drei Jahrzehnte nach dem Vitamin  $\text{B}_{12}$  in methanogenen Bakterien entdeckter, ebenfalls aus Uroporphyrinogen sich ableitender und von seinen Entdeckern<sup>[53]</sup> „Faktor 430“ genannter  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Komplex besondere Aufmerksamkeit. Seine Struktur ist in Zusammenarbeit mit dem Mikrobiologen Rolf Thauer in Marburg, einem der Entdecker des Cofaktors, in der Arbeitsgruppe des Autors von Bernhard Jaun und Andreas Pfaltz im Wesentlichen durch NMR-Spektroskopie aufgeklärt worden. Der Ursprung dieser äußerst fruchtbaren Zusammenarbeit war eine Vermutung Thauers, dass der neue Cofaktor „etwas mit Vitamin  $\text{B}_{12}$  zu tun haben könnte“, was ihn bewog, bei den „ $\text{B}_{12}$ -Chemikern“ der ETH um Hilfe nachzusuchen. Die Struktur, die wir fanden, war einerseits eine Bestätigung und gleichzeitig eine Überraschung: Faktor F-430 erwies sich als Nickel(II)-Komplex eines neuartigen Ligandsystems, das dem Strukturtyp des Corphins, genauer dem Strukturtyp eines Tetrahydrocorphins, angehört (Abbildung 14).<sup>[54,55]</sup> Die magnetischen und koordinationschemischen Eigenschaften des natürlichen  $\text{Ni}^{\text{II}}$ -Komplexes entsprachen denn auch durchaus den Beobachtungen, die man

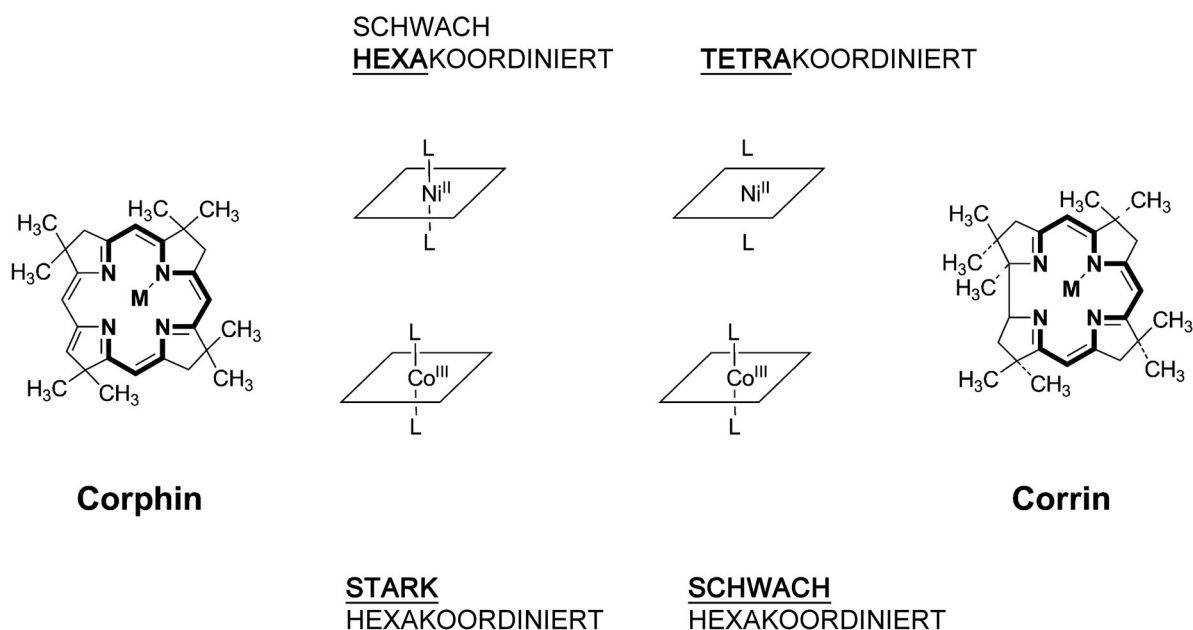
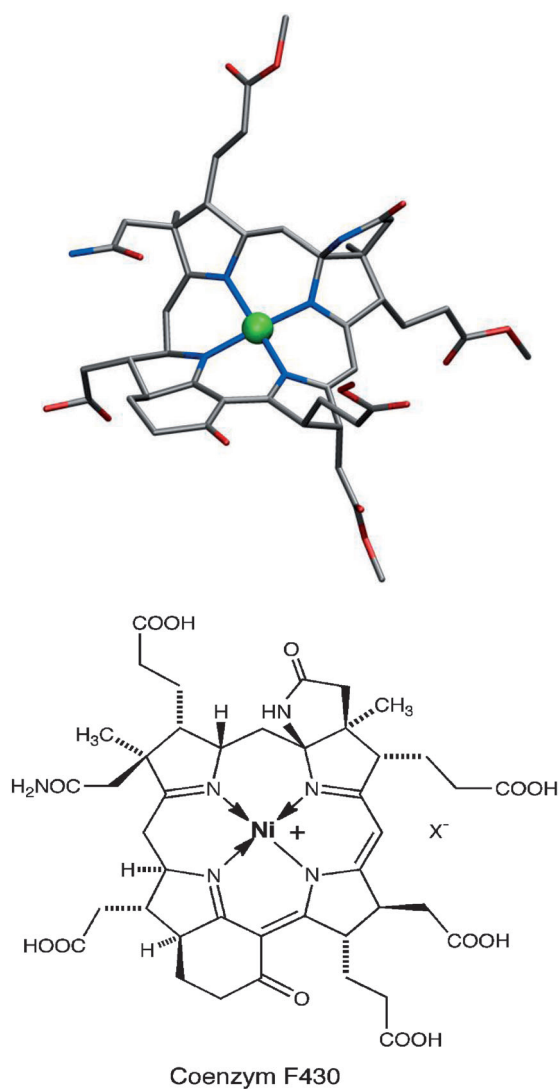


Abbildung 13.  $\text{Ni}^{\text{II}}$ - sowie  $\text{Co}^{\text{II}}$ - und  $\text{Co}^{\text{III}}$ -Corphin-Komplexe binden axiale Liganden stärker als entsprechende Corrin-Komplexe.<sup>[31]</sup>



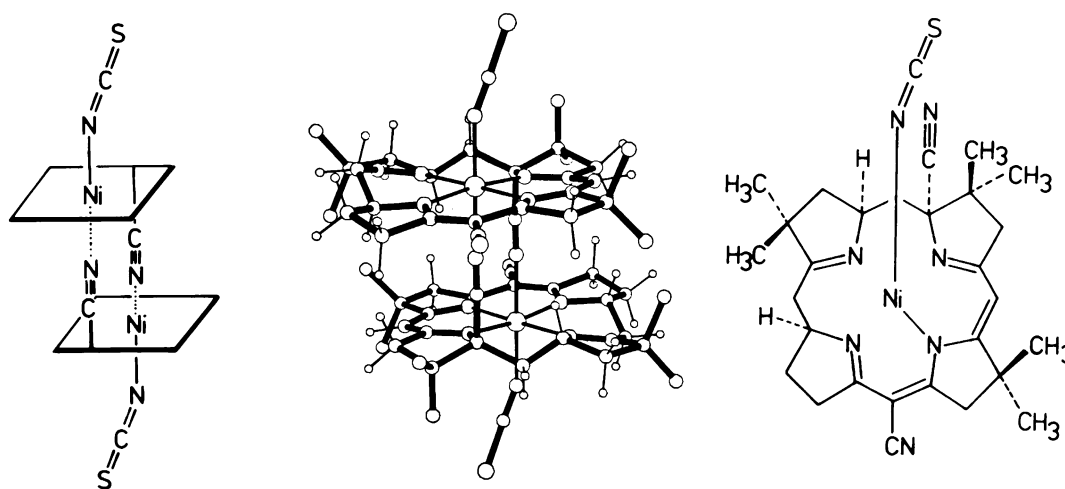
**Abbildung 14.** Strukturformel von Coenzym F-430<sup>[54]</sup> und Röntgenstrukturbild des 12,13-Diepi-F430-pentamethylesters (Röntgenstrukturbild zur Verfügung gestellt von Bernhard Jaun, ETH).<sup>[55]</sup>

zuvor in den Arbeiten zur Chemie synthetischer Corphin- und Hydrocorphin-Komplexe im Vergleich mit entsprechenden Corrin-Komplexen gemacht, sowie den Folgerungen, die man daraus gezogen hatte. Dem von der neuen Cofaktorstruktur ausgehenden Impuls folgend, haben wir einen den Chromophor des Coenzym F-430 aufweisenden Nickel(II)-Modellkomplex synthetisiert und damit einen Modellkomplex des Cofaktors in die vergleichende Untersuchung der Eigenschaften von Nickel(II)-Komplexen des Corrins, Corphins und Tetrahydrocorphins einbeziehen können (Abbildung 15).<sup>[56]</sup>

Eigentlich ist uns die corphinoide Struktur des Faktors F-430 bei ihrer Entdeckung wie ein „Kommentar der Natur“ zur Ätiologie der Vitamin-B<sub>12</sub>-Struktur erschienen, denn die im B<sub>12</sub>-Kontext gestellte Frage „Warum ein Corrin, und nicht ein Corphin?“ hat durch die Struktur und Funktion des Faktors F-430 sozusagen ihr inhaltliches Spiegelbild erhalten; auf die Funktion bezogene Fragen zur Ätiologie der beiden Coenzymstrukturen dürften zu komplementären Antworten führen. Heute spielt der Cofaktor in der Biochemie der Archaeobakterien eine prominente Rolle, und die ligandspezifische Funktion des Nickel-Ions für die Methanogenese aus CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> (und neulich auch deren Umkehr, die anaerobe Oxidation von Methan) ist ein wichtiges, in die mechanistische Enzymologie der Gegenwart hineinreichendes Problem. Bedeutende Beiträge zu dessen Erforschung kommen aus dem Laboratorium von Bernhard Jaun an der ETH,<sup>[57]</sup> der heute als der führende Experte auf dem Gebiete der Chemie des Coenzym F-430 gilt.

#### 4. Zur Ätiologie des Strukturtyps der Nukleinsäuren

Ebenso wie die molekulare Struktur des Coenzym B<sub>12</sub> fallen bekanntlich auch die Molekülstrukturen einiger strukturell einfacherer Cofaktoren dadurch auf, dass sie Elemente enthalten, die auch Bestandteile des Strukturtyps der natürlichen Nukleinsäuren sind, oder zumindest solchen strukturell gleichen. Hierzu gehören klassische, für das Überleben aller, auch primitivster Organismen unentbehrliche Cofaktoren wie



**Abbildung 15.** Strukturformel und Röntgenstrukturbild eines synthetischen Ni<sup>II</sup>-Modell-Komplexes von Coenzym F430.<sup>[56]</sup>

Thiaminpyrophosphat, Pyridoxalphosphat, Flavin-Adenin-Dinukleotid, Nicotinamidadenindinukleotid, Folsäure und Coenzym A. Wie schon erwähnt, gibt es die Vorstellung, dass solche fundamentalen Biomoleküle, oder Strukturteile davon, molekulare Fossilien der Biogenese sein könnten.<sup>[40,42]</sup> Die Vorstellung impliziert ein primordiales Szenario, in welchem solche Cofaktoren sich im Verein mit replikationsfähigen Nukleinsäuresträngen als „Organokatalysatoren“ betätigten und chemische Prozesse eines primitiven Stoffwechsels lenkten. Aus solcher Sicht wäre der Strukturtyp der heutigen Nukleinsäuren das wohl bedeutendste Fossil einer solchen hypothetischen primordialen Welt, und somit ein entsprechend wichtiges Objekt der Erforschung der Ätiologie potentiell primordialer Biomolekülstrukturen. Jegliches Fragen nach dem Ursprung dieses Strukturtyps hat sich dabei primär auf die RNA auszurichten, denn alle hiefür relevanten Kriterien chemischen, biochemischen und biologischen Inhalts weisen in die gleiche Richtung, dass nämlich RNA den älteren Biomolekültyp darstellt und jener der DNA evolutiv aus der RNA hervorgegangen ist.<sup>[58,59]</sup>

Im Anschluss an die Arbeiten zur Ätiologie der B<sub>12</sub>-Struktur hatten wir Anfang der 80er Jahre erste synthetische Gehversuche auf dem Territorium einer potentiell präbiotischen Chemie unternommen.<sup>[29]</sup> Darunter war auch eine Untersuchung über die basenkatalysierte Aldolisierung des Glycolaldehydphosphats,<sup>[60]</sup> die uns in der Folge die Frage „Warum Pentose- und nicht Hexose-Nukleinsäuren?“ aufwerfen ließ. Eigentlich bräuchte eine solche Frage keinen besonderen Anstoß, um im Rahmen eines ätiologisch orientierten Forschungsprojekts aufgeworfen zu werden, doch würden wir sie höchstwahrscheinlich nie gestellt haben, hätte nicht ein überraschender experimenteller Befund uns förmlich auf sie gestoßen, nämlich, dass die basenkatalysierte Aldolisierung von Glycolaldehydphosphat ebenso klar zu Allopyranose-2,4,6-triphosphat als Hauptprodukt führen kann, wie sie – in Anwesenheit von Formaldehyd – Ribopyranose-2,4-diphosphat als Hauptprodukt erzeugt. Im Hinblick auf den Einfluss, den dieser Befund auf unsere Arbeit hatte, sei sein Hintergrund im folgenden dargelegt.

#### 4.1. Glycolaldehydphosphat

Die aus der Chemie des 19. Jahrhunderts stammende „Formose-Reaktion“, die durch Basen katalysierte und autokatalytisch verlaufende Bildung komplexer Gemische von Monosacchariden aus Formaldehyd (meistens nach Initiation durch Glycolaldehyd),<sup>[61]</sup> gehört zusammen mit der Konstituierung von  $\alpha$ -Aminosäuren und der kanonischen Nukleobasen aus elementarsten Ausgangsstoffen zu den drei Pfeilern der klassischen präbiotischen Chemie.<sup>[7]</sup> Allen dreien haftet indessen eine aus ätiologischer Sicht latente Problematik an, nämlich die mit einer notorisch geringen Effizienz der Produktbildung einhergehende Ungewissheit über ihre eigentliche Rolle auf dem Wege zur Biogenese. Für die Formose-Reaktion ist es einerseits die problematisch hohe Konzentration an Formaldehyd, die sie erfordert, falls sie nicht durch Glycolaldehyd oder andere Komponenten ihrer eigenen Produktpalette initiiert wird, und andererseits die geringe kon-

stitutionelle Produkt-Selektivität. Die klassische Durchführung der Formose-Reaktion führt zu komplexen Reaktionsgemischen, in welchen die ätiologisch vor allem interessierende Ribose in derart geringen Mengen vorkommt, dass die Relevanz der Formose-Reaktion für den Ursprung der RNA des öfters – und wohl nicht zu Unrecht – angezweifelt wurde.<sup>[62]</sup> In einer in diesem Zusammenhang vielzitierten Arbeit aus dem Laboratorium von Peter Decker<sup>[63]</sup> wurden nach Derivatisierung des nach Initiation mit Glycolaldehyd gewonnenen „Formose“-Gemisches über 40 Komponenten gaschromatographisch erfasst und davon 33 konstitutionell zugeordnet; dabei war die *rac*-Xylulose mit einem Anteil von ca. 2.5% die Hauptkomponente des in ca. 20% Ausbeute gewonnenen Zuckergemischs.

Es war diese für die präbiotische Chemie notorische Ribose-Problematik, die uns seinerzeit veranlasst hatte, die Aldolisierung des Glycolaldehydphosphats zu untersuchen. Zum einen war zu erwarten, dass bei einem Ersatz des freien Glycolaldehyds durch sein Phosphat in einem entsprechenden Aldolisierungs-Netzwerk all jene Reaktionsstufen der Formose-Reaktion entfallen würden, in denen Aldosen zu Ketosen tautomerisieren und dadurch zu einer der Quellen der konstitutionellen Komplexität der Reaktionsgemische werden. Zum andern war da die wohlbekannte, aber deswegen nicht weniger bemerkenswerte Tatsache, dass im biochemischen Geschehen in Zellen Monosaccharide anscheinend nie in freier, sondern generell in phosphorylierter Form agieren. Von solchen Betrachtungen ist es ein kurzer Weg zur Vorstellung eines primordialen Szenarios, in welchem ebenfalls phosphorylierte und nicht nur neutrale Kohlehydrate Akteure präbiotischer Chemie waren. Bei einem Selbstorganisationsprozess in einer primordialen Umwelt mag es auch für Kohlehydrat-Moleküle vor allem darum gegangen sein, einem chemischen Chaos zu entrinnen und in reaktionsgerechten Konzentrationen sich in Reaktionsräumen vorzufinden, die ein effizientes chemisches Reagieren ermöglichten. Bezüglich beider Forderungen hätten phosphorylierte Zuckermoleküle kraft ihrer elektrischen Ladung in einem Umfeld von mineralischen Oberflächen oder mineralischen Schichtstrukturen gegenüber neutralen wasserlöslichen Kohlehydraten offensichtliche Vorteile gehabt.<sup>[64]</sup>

Ein typisches Ergebnis unserer Versuche zur Aldolisierung von Glycolaldehydphosphat in stark basischer, wässriger Lösung und Abwesenheit wie auch in Gegenwart von Formaldehyd, vermitteln die Abbildungen 16–18. GC-analytische Daten derivatisierter Reaktionsgemische im Verein mit NMR-spektroskopischen Daten underivatisierter Reaktionsprodukte ermöglichten eine zuverlässige Beurteilung des konstitutionellen und konfigurativen Verlaufs der Reaktionen.<sup>[65]</sup> Wie die GC-analytischen Daten zwar indirekt, jedoch bezüglich der Zuordnung der Reaktionsprodukte zuverlässig zeigten, entstanden in Abwesenheit von Formaldehyd zur Hauptsache (*racemische*) Hexose-2,4,6-triphosphate mit Allose-2,4,6-triphosphat als eindeutigem Reaktionshauptprodukt (46% der Gesamtmenge der acht diastereomeren Hexosen). Ebenso eindeutig entstand unter gleichen Reaktionsbedingungen, *jedoch in Gegenwart eines halben Mol-äquivalents Formaldehyd*, nebst geringen Mengen an Hexosetriphosphaten, die Familie der vier diastereomeren Pen-

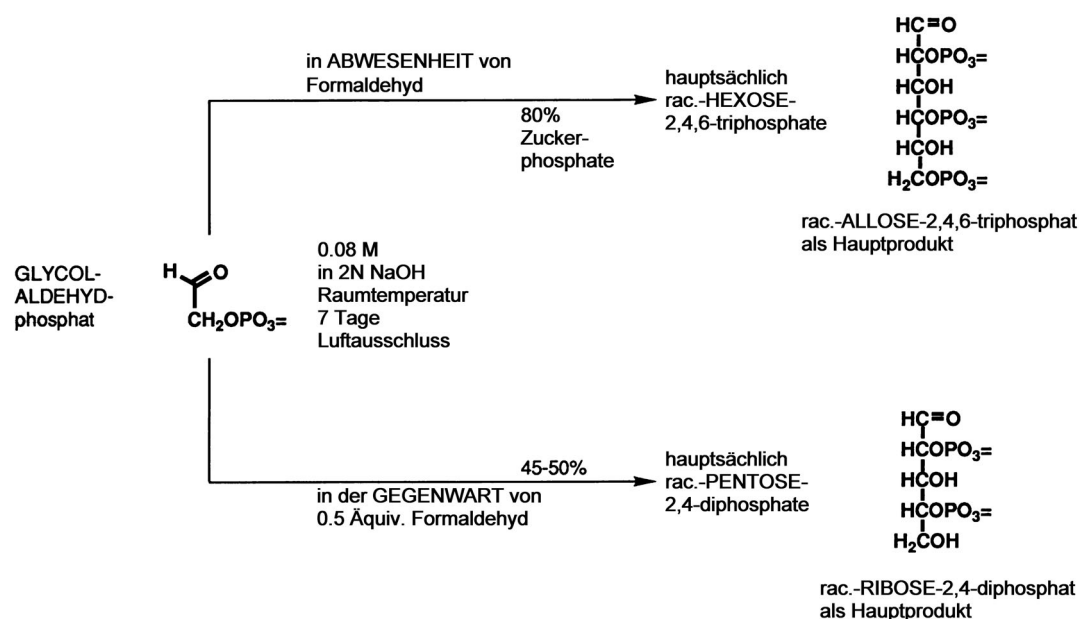


Abbildung 16. Aldolisierung von Glycolaldehydphosphat in alkalischer wässriger Lösung in Abwesenheit und Gegenwart von Formaldehyd.<sup>[60]</sup>

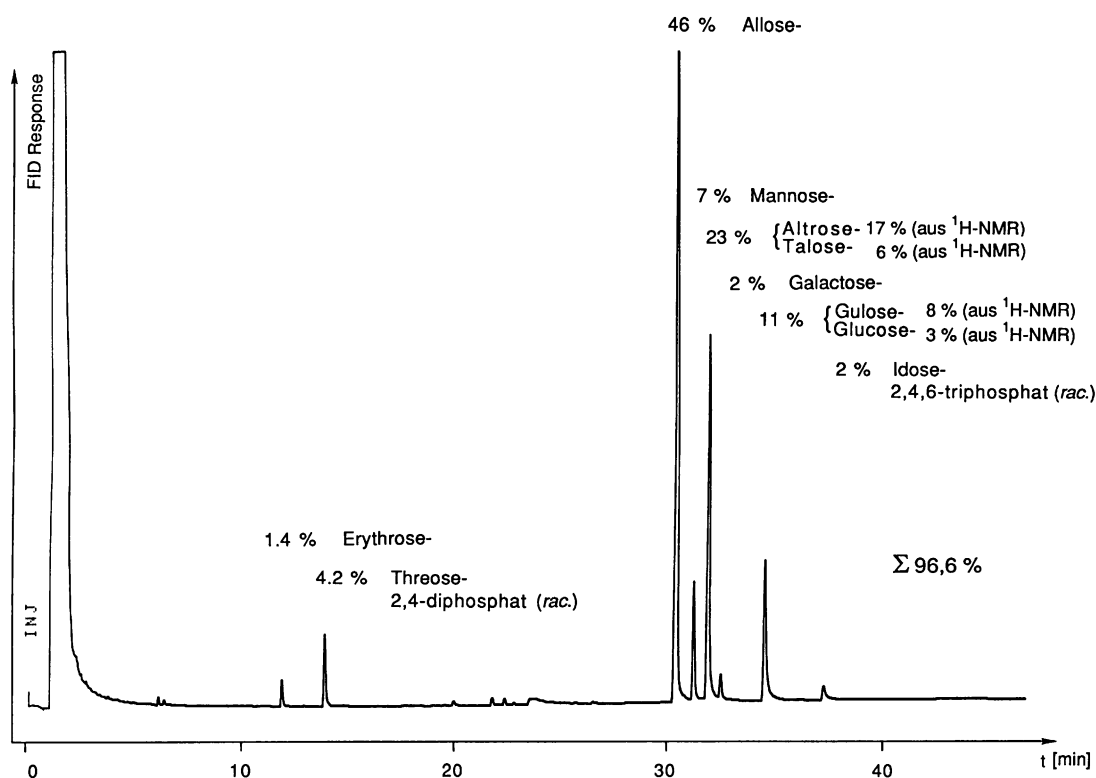
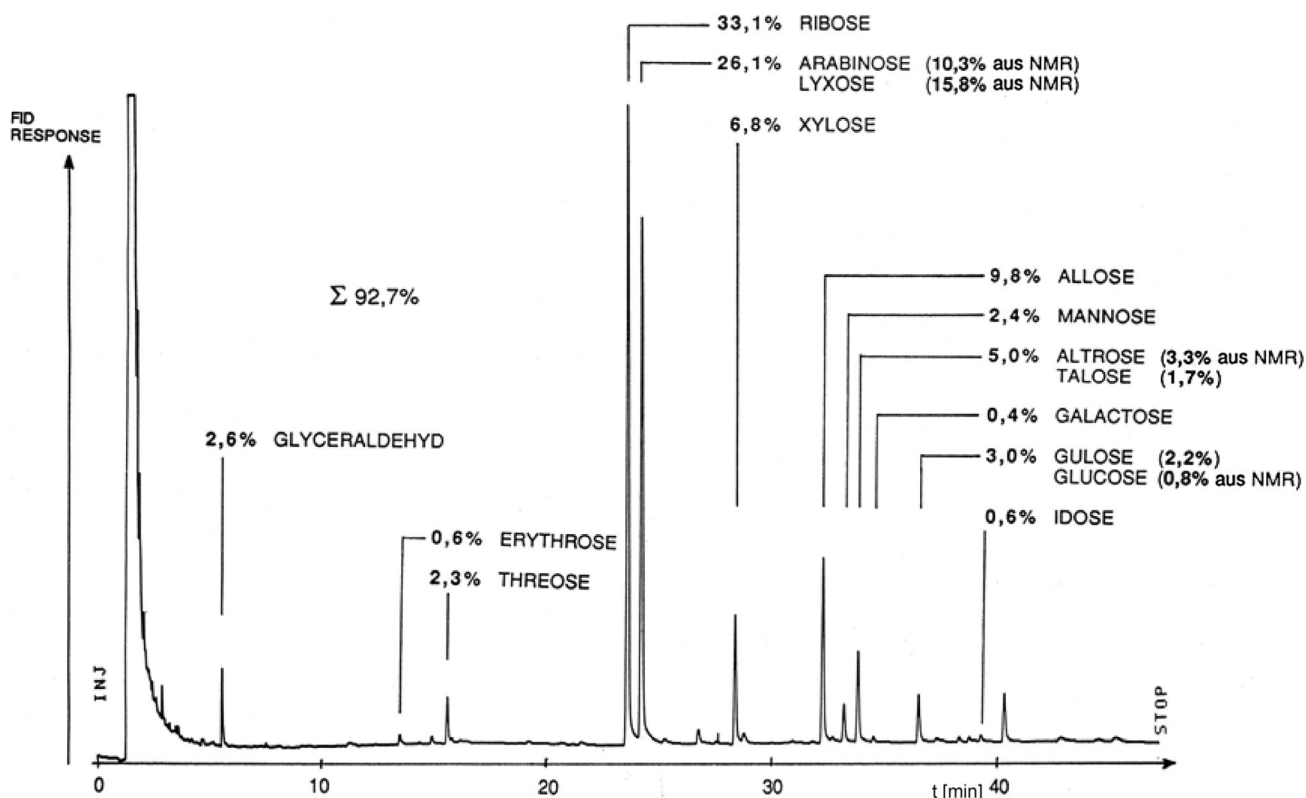


Abbildung 17. Gaschromatographische Analyse des Produktgemischs der Aldolisierung von Glycolaldehydphosphat in Abwesenheit von Formaldehyd (siehe Abbildung 16) nach enzymatischer Dephosphorylierung, Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  und Acetylierung: Derivat der Allose als Hauptkomponente.<sup>[60]</sup>

tose-2,4-diphosphate als Hauptanteil des gesamten Reaktionsprodukts. Unter diesen findet sich als Hauptkomponente – ebenso überraschend wie bemerkenswert – das *rac.*-Ribose-2,4-diphosphat (rund 50 % der Gesamtmenge der vier diastereomeren Pentosen).<sup>[60]</sup> Äquimolare Mengen Glycolalde-

hydphosphat und *rac.*-Glycerinaldehyd-2-phosphat (vgl. unten) reagierten unter sonst im Wesentlichen gleichen Reaktionsbedingungen ebenfalls zu den vier Pentose-2,4-diphosphaten, worunter das Ribosederivat wiederum und in ähnlichem Ausmaß dominierte. Die beiden Tetrose-2,4-di-



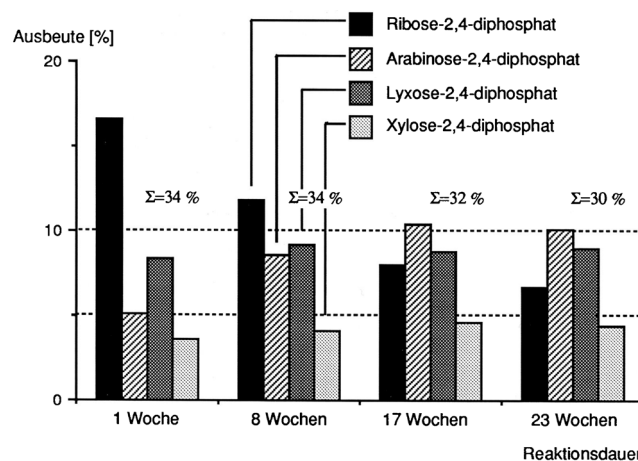
**Abbildung 18.** Gaschromatographische Analyse des Produktgemisches der Aldolisierung von Glycolaldehydphosphat in Gegenwart von Formaldehyd (siehe Abbildung 16) nach enzymatischer Dephosphorylierung, Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  und Acetylierung: Derivat der Ribose als Hauptkomponente.<sup>[60]</sup>

phosphate „überleben“ unter den Bedingungen der Hexose-triphosphat-Bildung nur in geringer Menge; durch Verringerung der Basizität des Mediums wurden indessen auch sie als Hauptprodukte (in ungefähr gleichen Anteilen) erhalten. Ließ man unter den Standardbedingungen der Bildung der Familie der Pentosediphosphate die Reaktion nicht nur während einer Woche, sondern über 23 Wochen laufen, so blieb der Gesamtgehalt der vier Diastereomere im Wesentlichen erhalten, doch verschob sich das Verhältnis der Diastereomere untereinander, und zwar dergestalt, dass der Gehalt an Ribosediphosphat sich zunehmend zugunsten Arabinosediphosphats verringerte, wobei letzteres schlussendlich überhand nahm (Abbildung 19). Diese Beobachtung steht für die Schlussfolgerung, dass die bevorzugte Bildung des Ribose-2,4-diphosphats unter den verwendeten Reaktionsbedingungen das Ergebnis kinetischer Reaktionskontrolle darstellt.

Diese Arbeiten hatten gezeigt, dass bei der Konstituierung von Pentosen durch einen mit der Formose-Reaktion verwandten Reaktionstyp die Ribose von allen vier Pentosen sich bevorzugt bilden kann. Es war dies der unseres Wissens erste Hinweis auf eine intrinsische Selektivität der Ribose-Bildung; eine solche hatte in Diskussionen über das Potential der Formose-Reaktion, eine präbiotische Quelle für diesen RNA-Baustein gewesen zu sein, als höchst unwahrscheinlich gegolten.<sup>[66]</sup> Seither ist die Eigenschaft der Ribose, in Aldolisierungsreaktionen unter kinetischer Reaktionskontrolle die am raschesten sich bildende Pentose zu sein, von Zubay<sup>[67]</sup> auch für Aldolisierungen mit freiem Glycolaldehyd beob-

achtet worden, und Benner<sup>[68]</sup> hat neuerdings in Arbeiten über Boratkomplexe von Ribose zusätzliche Möglichkeiten einer sowohl kinetischen als auch thermodynamischen Bevorzugung dieses Zuckers vor anderen Pentosen aufgezeigt.

Der Versuch, auf qualitativer Ebene die konfigurative Selektivität der von Glycolaldehydphosphat ausgehenden



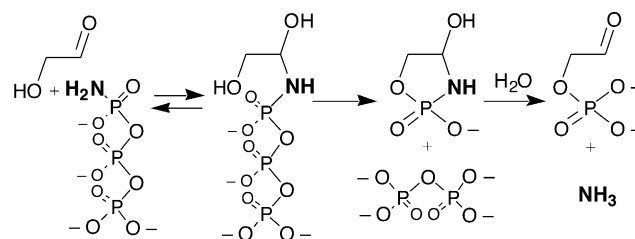
**Abbildung 19.** Produktverteilung bei der Aldolisierung von Glycolaldehydphosphat in Gegenwart von Formaldehyd (vgl. Abbildung 16) in Abhängigkeit zur Reaktionsdauer: Die bevorzugte Bildung von *rac*-Ribose-2,4-diphosphat bei kurzer Reaktionsdauer (Abbildung 16 und 18) ist das Resultat einer kinetischen Kontrolle des Reaktionsablaufs.<sup>[60]</sup>

Aldolisierungen konformationsanalytisch zu verstehen, hat zu einem in Anbetracht der Komplexität des Systems eher überraschenden Resultat geführt. Minimierung der „Newman-Spannung“<sup>[69]</sup> – hier die Anzahl von 1,5-Interaktionen zwischen (hydratisierten!) Phosphatgruppen und freien Hydroxygruppen – zusammen mit Minimierung sterischer Behinderungen in den Übergangszuständen produktbestimmender Reaktionsschritte, vermag das beobachtete Reaktionsbild qualitativ wiederzugeben (für Details siehe Lit. [60]). Dies gilt vor allem für die Bildung der Hauptprodukte *rac*-Ribose-2,4-diphosphat und *rac*-Allose-2,4,6-triphosphat, sie beide sind das Ergebnis durchgehend erythroid verlaufender Aldolisierungsschritte („Allose ist die Ribose der Hexose-Reihe“).<sup>[70]</sup>

In diesen Arbeiten über die Aldolisierung des Glycolaldehydphosphats hatten wir uns bezüglich der Wahl der Reaktionsbedingungen vorrangig auf die Optimierung der Produktbildung und Analyse der Produktzusammensetzung konzentriert und nicht versucht, „präbiotische Reaktionsbedingungen“ zu simulieren. Eine Ausweitung des Projekts in diese Richtung wurde indessen in Zusammenarbeit mit der Forschungsgruppe des Geochemikers Gustaf Arrhenius am SIO<sup>[71]</sup> unternommen: Glycolaldehydphosphat, hochverdünnt in wässriger 0.1N NaOH-Lösung in Gegenwart von expansionsfähigen Schichtmineralien des Typus des Hydrotalcs (eines Magnesium/Aluminiumhydroxycarbonats),<sup>[72]</sup> aldolisierte vermutlich innerhalb der Mineralschichten zu Zuckerphosphatgemischen, die die beiden Tetrose-2,4-diphosphate sowie wiederum die acht Hexose-2,4,6-triphosphate mit prominenten Mengen des Allose-Isomeres enthielten.<sup>[73]</sup> In scharfem Gegensatz hierzu wurde in Abwesenheit des Schichtminerals unter sonst gleichen Bedingungen keinerlei Aldolisierung des Glycolaldehydphosphats beobachtet. Experimente in Gegenwart von Formaldehyd unter sonst gleichen Bedingungen ergaben Pentose-2,4-diphosphate in nur geringer Menge. In einer Folgeuntersuchung am SIO wurde indessen gefunden, dass Schichtmineralien aus einem hochverdünnten Gemisch von *rac*-Glycerinaldehyd-2-phosphat und Glycolaldehydphosphat aus neutraler Lösung zu Pentose-2,4-diphosphaten in merklichen Ausbeuten (ca. 25 % mit ca. hälftigem Anteil an Ribosederivat) zu coaldolisieren vermögen.<sup>[74]</sup>

Kann Glycolaldehydphosphat als potentiell präbiotische Reaktionskomponente gelten? – Jedenfalls nicht aufgrund der für diese Verbindung aus der Literatur bekannt gewesenen Bildungsweisen.<sup>[75]</sup> Ausgelöst durch präbiotisch-chemische Arbeiten<sup>[76]</sup> (die wir heute als überholt betrachten), hatten wir noch an der ETH unter anderem die Chemie des Acrylonitriloxids bearbeitet und dabei gefunden, dass dieses Epoxid bei Raumtemperatur in wässriger Phosphatlösung rasch und regioselektiv zu Glycolaldehydphosphatcyanhydrin reagiert, welches durch Cyanid-Transfer auf z.B. Formaldehyd leicht in Glycolaldehydphosphat übergeht.<sup>[77]</sup> Die eigentliche Herausforderung war aber letztlich doch die direkte Phosphorylierung des Glycolaldehyds in wässriger Lösung. Eingehende am SIO durchgeführte Versuche,<sup>[78]</sup> dies mit dem in der präbiotischen Chemie prominenten Phosphorylierungsmittel Cyclotriphosphat<sup>[79]</sup> zu erreichen, misslangen. In der Folge wurden die Versuche in dem inzwischen gemeinsam

mit Ramanarayanan Krishnamurthy etablierten Laboratorium am TSRI wieder aufgenommen, diesmal mit dem Amidolyseprodukt des Cyclotriphosphats, dem Amidotriphosphat, das kraft seines in Abbildung 20 erläuterten Reaktionspotentials sich als Reagens einer regioselektiven



**Abbildung 20.** Prinzip der intramolekularen Phosphorylierung von Glycolaldehyd mit Amidotriphosphat.

Phosphorylierung von  $\alpha$ -Hydroxyaldehyden empfahl.<sup>[80]</sup> Die in das Reagens gesetzten Erwartungen wurden durch das Experiment sogar übertroffen (Abbildung 21), womit die Frage nach der Präbiotizität des Glycolaldehydphosphats einer möglichen Antwort näher gebracht war.<sup>[81]</sup> Die regio-spezifische Phosphorylierungsmethode verdankt ihre Entdeckung der Anwendung der Prinzipien der gezielten Konversion einer *inter*-molekularen in eine *intra*-molekulare produktbestimmende Reaktionsstufe (vgl. z.B. Lit. [19a]).

Amidotriphosphat in 0.1-molarer, nahezu neutraler wässriger Lösung in Gegenwart von Magnesiumionen überführt 0.025-molare Lösungen von Glycolaldehyd binnen Tagen bei Raumtemperatur in Glycolaldehydphosphat in (analytisch) praktisch quantitativer Ausbeute (Abbildung 21).<sup>[81]</sup> Die Reaktion verläuft selbst bei Substratkonzentrationen um 30  $\mu\text{M}$  und Reagenskonzentration von 60  $\mu\text{M}$  noch mit hoher Effizienz ( $^1\text{H}$ - und  $^{31}\text{P}$ -NMR), womit diese Phosphorylierung eine der Hauptforderungen erfüllt, die man an eine Reaktion stellen möchte, um sie als potentiell präbiotisch einstufen zu können. Die Phosphorylierung von Glycerinaldehyd mit Amidotriphosphat führt unter den verwendeten Reaktionsbedingungen regioselektiv und in hoher Ausbeute zu Glycerinaldehyd-2-phosphat (Abbildung 21).<sup>[82]</sup>

In den Arbeiten zur Ätiologie des Strukturtyps der Nukleinsäuren hatten wir von Beginn an Fragen zu dessen *Formation* zu umgehen versucht und uns an dessen *Funktion* gehalten, um den Ungewissheiten „historisierender chemischer Forschung“ auszuweichen. Dadurch versuchten wir einer Forderung zu entsprechen, die wir nach bezahltem Lehrgeld auf dem Territorium der präbiotischen Chemie<sup>[29,76]</sup> uns als Devise stellten: Experimente auf dem Gebiete der Ätiologie potentiell primordialer Biomolekülstrukturen sind wenn immer möglich so zu planen, dass Ergebnissen nicht nur ätiologische Relevanz zukommen kann, sondern diese gleichzeitig auch den Rang eines valuellen Beitrags zur Chemie haben. Ätiologische Relevanz bleibt letztlich immer ungewiss; entfällt sie irgendwann später aufgrund neuer Einsichten, überleben die Ergebnisse als Beitrag zur Chemie. Die Experimente zur Phosphorylierung von Glycolaldehydphosphat sind dafür ein Beispiel: Sie sind aus der Frage nach der Präbiotizität von Glycolaldehydphosphat hervorgegangen, und ihre Ergebnisse sind vorab von chemischem Inter-

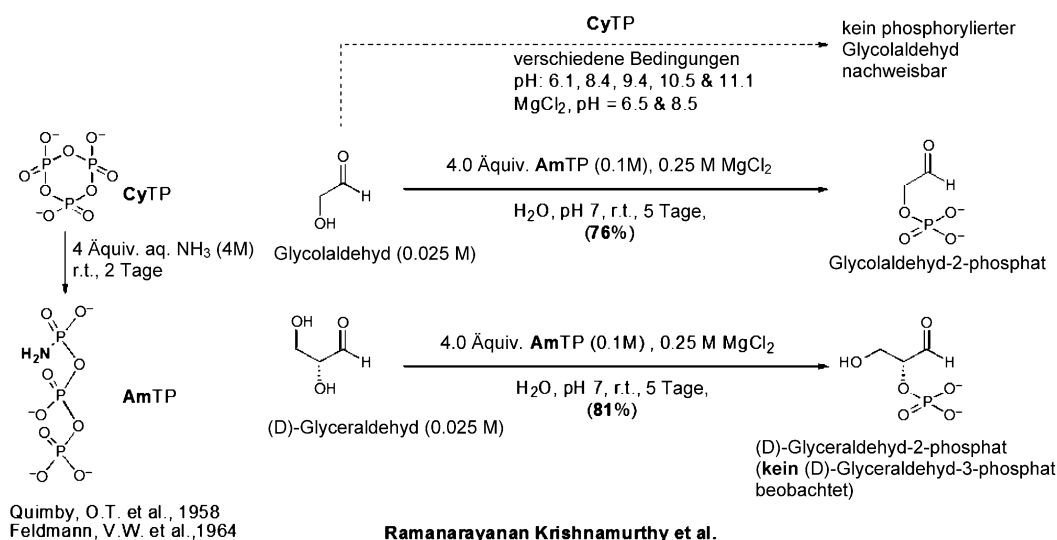


Abbildung 21. Regioselektive Phosphorylierung von  $\alpha$ -Hydroxyaldehyden mit Amidotriphosphat.<sup>[81, 83]</sup>

esse, und dies unabhängig davon, ob die Vermutung, wonach Glycolaldehydphosphat Teil der Chemie der Biogenese hätte sein können, überleben wird oder nicht.

#### 4.2. „Warum“-Fragen

„Warum-Fragen“ der Art „Warum ein Corrin und nicht ein Corphin?“ oder „Warum Pentose- und nicht Hexose-Nukleinsäuren?“ sind nicht absolut, sondern in Relation zu einer Alternative gestellt.<sup>[17, 83, 84]</sup> Dies scheint entscheidend, um solche Fragen sinnvoll angehen zu können. Frank Westheimer<sup>[83]</sup> in seinem klassischen Essay „Why Nature Chose Phosphates“ hat sowohl auf metabolische Prozesse als auch auf den Strukturtyp der Nukleinsäuren zielend sich auf Molekültypen wie Sulfate, Silicate oder Arsenate als formal mögliche, aber eben – wie er darlegte – funktionell ungeeignete Alternative bezogen. Experimente, die den Vergleich einer Biomolekül-Struktur mit potentiellen Alternativ-Strukturen ermöglichen, können sich auf die *Formation* oder die *Funktion* des Biomoleküls oder auf beides beziehen. Soll eine Antwort vorab auf die Funktion Bezug nehmen, muss letztere mit einer in vitro experimentell messbaren chemischen Eigenschaft der Biomolekülstruktur konsistent korrelierbar sein. Der Vergleich einer Biomolekülstruktur mit einer Alternativ-Struktur bezüglich einer solchen Eigenschaft kann Elemente einer Begründung der erfolgten Selektion der spezifischen Struktur des Biomoleküls sichtbar machen, insbesondere dann, wenn die Alternativ-Struktur als „potentiell natürliche“ Struktur einzustufen ist. Dies ist sie dann, wenn aus chemischer Sicht angenommen werden darf, dass jenen Prozessen, die die Entstehung der Biomolekül-Struktur ermöglichten, auch das Potential zur Bildung der Alternativ-Struktur hätte zukommen müssen.

Der Strukturtyp der Nukleinsäuren erfüllt in nahezu idealer Weise die Voraussetzungen, um die Frage „warum so und nicht anders“ experimentell angehen zu können. Vor allem besteht keinerlei Zweifel, welche chemische Eigen-

schaft den Vergleich zwischen Biomolekül- und Alternativ-Struktur zu vermitteln hat: Es ist dies ganz offensichtlich die Fähigkeit der informationellen Basenpaarung. Variierbar sind der Zuckerbaustein, die Struktur der Nukleobasen oder die Art der Verknüpfung der Mononukleotid-Bausteine. Variation des Zuckerbausteins ist sowohl in chemischer als auch ätiologischer Hinsicht nächstliegend. Kraft des sich wiederholenden Musters in der konstitutionellen Anordnung funktioneller Gruppen in der Familie der  $(\text{CH}_2\text{O})_{n=4,5,6}$ -Aldose-zucker, lässt sich die Ribose durch andere Aldosen ersetzen, ohne dass dabei andere Strukturelemente der RNA zusätzlich verändert werden müssten. Dadurch kann man der Forderung nachkommen, dass die Alternativen „potentiell natürliche“ Strukturen zu sein hätten. Wiewohl wir naturgemäß nichts über die Umstände wissen, aus welchen der Strukturtyp der RNA erstmals hervorging, wird jenen Umständen das Potential unterstellt, auf chemisch analogen Wegen nicht nur zum Einbau der Ribose, sondern auch anderer Aldosen in den Strukturtyp eines Oligonukleotids fähig gewesen zu sein.

Im Grunde impliziert diese Erwartung das evolutionäre Szenario einer Selektion des Strukturtyps der RNA aus einem natürlichen Angebot varianter Oligomerstrukturen. Die systematische Variation des Zuckerbausteins mit synthetisch-chemischen Methoden und der Vergleich der Varianten mit RNA bezüglich der Effizienz informationeller Watson-Crick-Basenpaarung hat den Charakter einer experimentellen Simulation solch potentiell natürlicher Vorgänge. Die Vergleiche beziehen sich auf die Funktion und nicht die Formation der RNA; *dementsprechend ist die ätiologische Relevanz des Projekts davon unabhängig, ob jene natürlichen Vorgänge präbiotischer oder biotischer Natur waren.*

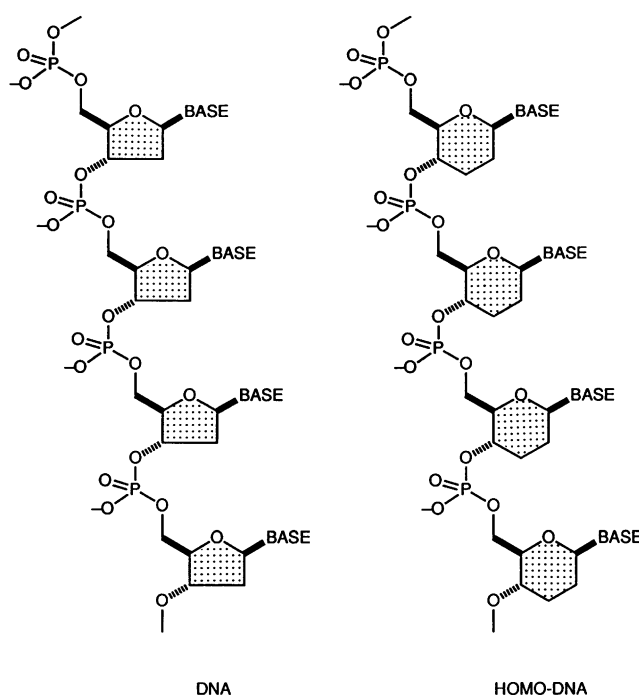
#### 4.3. „Homo-DNA“ – eine Modellstudie

Die Zahl der bei einer Variation des Zuckerbausteins  $(\text{CH}_2\text{O})_n$  im Strukturtyp der Nukleinsäuren formal in Betracht kommenden Möglichkeiten (Triosen, Tetrosen, Pen-

tosen, Hexosen; Furanose- und Pyranoseformen) ist bei genauerem Zusehen so groß, dass die Setzung von Prioritäten in der Wahl experimentell aufzugreifender Varianten und somit die Festlegung entsprechender Auswahlkriterien erstes Gebot war. Das wichtigste dieser Kriterien war die einer gegebenen Variante zuzuschreibende Chance, sich als informationelles Watson-Crick-Paarungssystem<sup>[85]</sup> zu erweisen. Da bei Projektbeginn<sup>[86]</sup> in der Literatur keinerlei Anleitung zu einer solchen Beurteilung bekannt war und wir keinen Zugang zu einer theoretisch-rechnerischen Behandlung der Fragestellung hatten (ganz abgesehen von der zu jener Zeit für eine solche Aufgabe durchaus fraglichen Leistungsfähigkeit solcher Methoden), erstellten wir Basenpaarungsprognosen für Oligonukleotid-Einzelstränge auf der Basis qualitativ-konformationsanalytischer Argumentation. Was für ein Oligonukleotid aus Furanose-Bausteinen keinesfalls möglich schien, war für ein aus Pyranose-Bausteinen aufgebautes Oligonukleotid durchaus zu bewältigen, war doch die Sesselkonformation des Cyclohexans – im Gegensatz zur Konformation des Cyclopentans – die Ikone des Erfolgs der Barton'schen Konformationsanalyse innerhalb der organischen Naturstoffchemie gewesen.

Am Ausgangspunkt unserer experimentellen Arbeiten über Nukleinsäuren stand die sogenannte „homo-DNA“,<sup>[87,88]</sup> ein aus D-2,3-Didesoxyglucopyranose-Bausteinen konstruiertes Oligonukleotidsystem, das sich von der DNA einzig durch den Mehrgehalt einer endocyclischen CH<sub>2</sub>-Gruppe unterscheidet. Sowohl die nukleotidische Anbindung der (kanonischen) Nukleobasen als auch die Anknüpfung der Phosphodiester-Brücken an die Pyranose-Ringe, entsprechen konstitutiv und konfigurativ (relativ und absolut) der natürlichen DNA (Abbildung 22). 2,3-Dideoxyhexosen sind im Gegensatz zu normalen Hexosen keineswegs als „potentiell natürliche“ Zuckerbausteine im geforderten Sinne einzustufen;<sup>[89]</sup> deshalb kommt den Arbeiten über homo-DNA aus ätiologischer Sicht nur die Bedeutung einer Modellstudie zu, einer Studie allerdings, die uns den Einstieg in die Erarbeitung von Basenpaarungsprognosen, die Herstellungsmethodik von Oligonukleotiden und schließlich die Interpretation von Paarungseigenschaften alternativer Nukleinsäuren ganz wesentlich erleichtert hat.

Abbildung 23 ruft am Modellbeispiel eines Einzelstrangs der homo-DNA das Prinzip und das Ergebnis einer konformationsanalytischen Paarungsprognose in Erinnerung. Eine solche Analyse erfolgt anhand „idealisierte“ Konformationen (ideale Staffellung sämtlicher Einfachbindungen) einer konstitutionell repetitiven Pyranosephosphodiester-Einheit, ermittelt die Menge der enthalpisch stabilsten Konformationen dieser Einheit durch Minimierung der Anzahl Newman'scher 1,5-Repulsionen<sup>[69]</sup> und stereoelektronisch sich begründendem Ausschluss von zweifach antiparallelen Phosphodiester-Konformationen und urteilt, ob sich innerhalb dieser Menge der stabilsten Konformationen (zumindest) eine befindet, die „repetitiv“ ist, d. h. sich im Verband eines Oligomer-Einzelstrangs identisch wiederholt. Ist dies der Fall, ist Paarung möglich, und die repetitive Konformation der Monomereinheit entspricht der Paarungskonformation des Oligomersystems.<sup>[90,91]</sup>

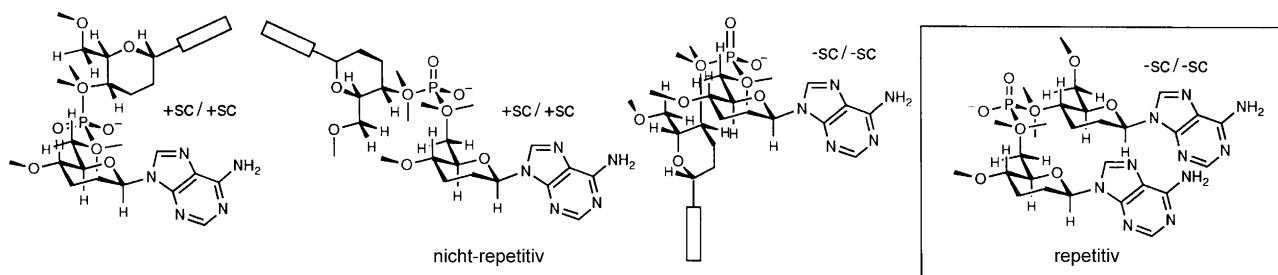


**Abbildung 22.** Der einzige Unterschied in der chemischen Struktur des „homo-DNA“-Einzelstrangs zu jener des DNA-Einzelstrangs ist eine ringständige CH<sub>2</sub>-Gruppe.

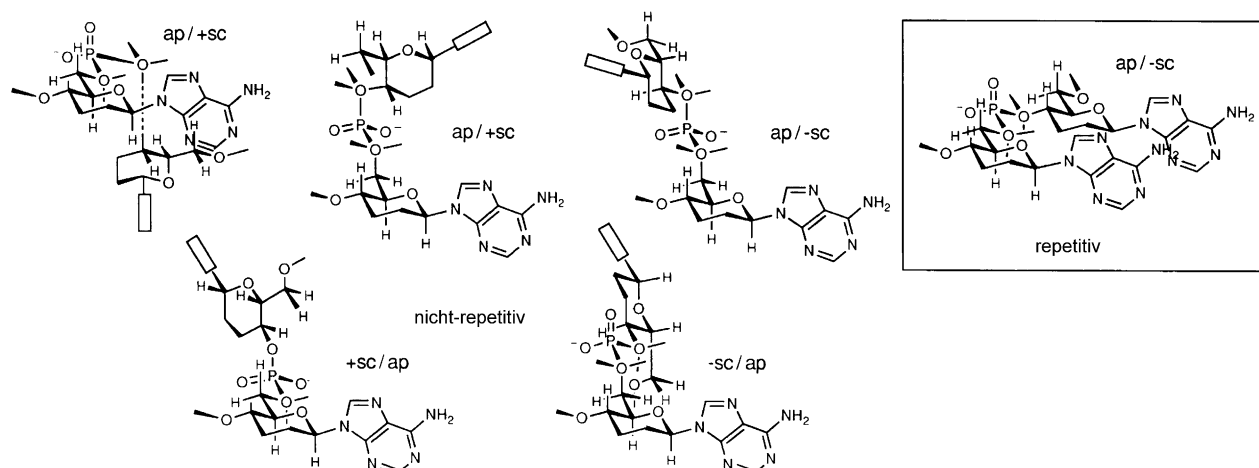
Die Menge der stabilsten Konformationen der homo-DNA-Einheit enthält insgesamt zehn stabilste (idealisierte) Konformationen, von denen zwei repetitiv sind und sich in der Konformation der Phosphodiester-Gruppierung unterscheiden (synklinal/synklinal versus synklinal/antiparallel). Folgt man aufgrund qualitativ-stereoelektronischer Betrachtungen (Anomereffekt) dem Postulat, dass die synklinal Konformation eines Phosphodiester-Arms ( $\pm$  sc) stabiler sein sollte als die antiparallele, so fällt die Entscheidung auf die ( $-sc/-sc$ )-Konformation als Paarungskonformation der homo-DNA<sup>[90]</sup> (Abbildung 23).

Wir hatten damals mit einiger Genugtuung zur Kenntnis genommen, dass dieser (idealisierte) Konformationstyp genau jener ist, der dem aus Röntgenstrukturbestimmungen der DNA-Duplex bekannten A-Strukturtyp entspricht und somit auch den Paarungskonformationstyp der RNA darstellt (Abbildung 24). Nicht nur schien dies einen willkommenen Beleg der Berechtigung des Vorgehens bei der Paarungsprognose zu bedeuten, sondern umgekehrt auch eine qualitative Deutung der Paarungskonformation der RNA zu sein: Indem das entscheidende Selektionskriterium der konformationsanalytischen Herleitung der Paarungskonformation der homo-DNA die Minimierung der Anzahl sterischer 1,5-Repulsionen ist, legt die Übereinstimmung der Paarungskonformationen der homo-DNA und der RNA die Auffassung nahe, dass sich die Konformation der natürlichen RNA durch Minimierung eben solcher sterischer Repulsionen konstituiert. Dies bedeutet, dass die für RNA in Duplexen charakteristische A-Typ-Konformation des Oligomer-Rückgrats diesem nicht primär durch die räumlichen Ansprüche der Watson-Crick-Basenpaarung auferlegt wird,

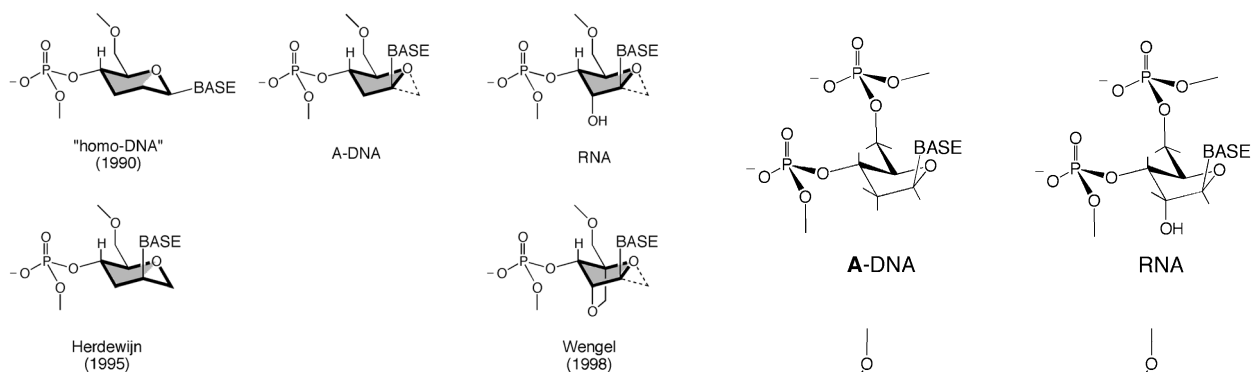
Phosphodiester-Konformationen -sc/-sc und +sc/+sc



Phosphodiester-Konformationen ap/±sc und ±sc/ap

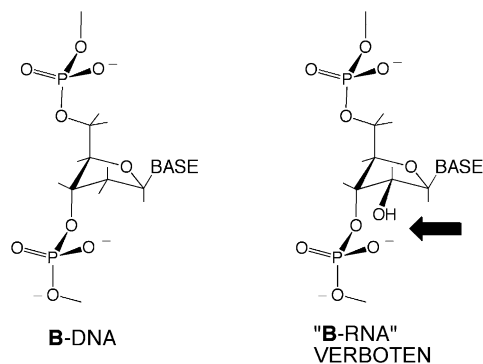


**Abbildung 23.** Paarungsprognose für homo-DNA durch qualitative Konformationsanalyse anhand idealisierter Konformationen: Von den insgesamt vier sterisch geringst gehinderten Konformationen einer Rückgrateinheit mit zweifach synklinaler Phosphodiester-Gruppierung ist nur eine Konformation „repetitiv“, von ihr wird erwartet, dass sie die Paarungskonformation ist. Bei Einbezug von Konformationen mit *trans*-synklinaler Phosphodiester-Gruppierung gibt es zwei mögliche Paarungskonformationen.<sup>[90]</sup>



**Abbildung 24.** Konformationelle Analogie zwischen den Strukturen von homo-DNA, A-Typ-DNA und RNA sowie den Strukturen der Wengel'schen „locked-RNA“<sup>[94]</sup> und der Herdewijn'schen „Hexitol-NA“.<sup>[95]</sup>

sondern dem Rückgrat immanent ist. Zu dem Ausmaß wie dies zutrifft, ist der RNA-Einzelstrang auf seine in Duplexen eingenommene Konformation, und damit auf Watson-Crick-Paarung hin, *präorganisiert*. Abbildung 25 deutet auch an, weshalb der konformationelle Rückschluss von homo-DNA auf RNA trotz ungleicher Konstitution der Zuckerbausteine erlaubt erscheint.



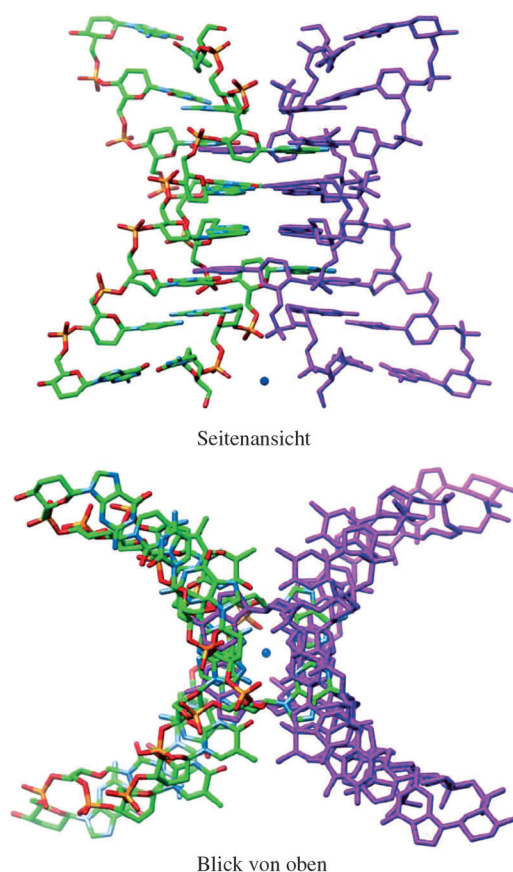
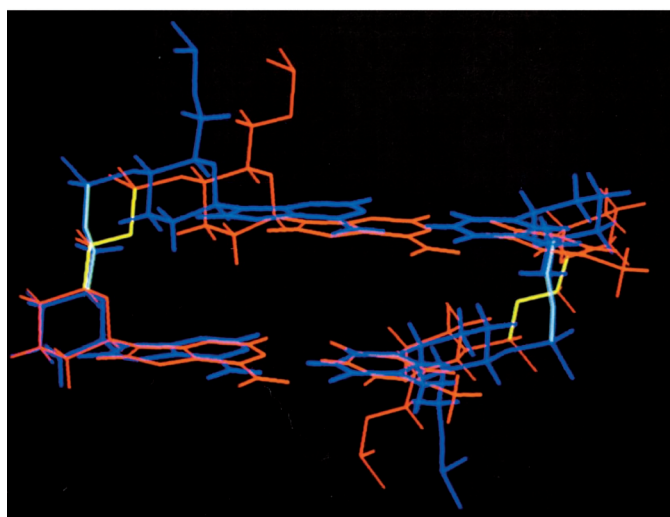
**Abbildung 25.** Konformationsbetrachtungen anhand idealisierter Konformationen lassen erkennen, warum der DNA als Paarungskonformationen Typ A und Typ B zugänglich sind, der RNA jedoch nur Typ A.

Die Verdeutlichung und Klassifizierung der Paarungskonformation von nukleotidischen Nukleinsäuresystemen auf der Ebene „idealisierter“ Konformationen erleichtert die Erkennung von Zusammenhängen, die bei realistischer Wiedergabe von Strukturdaten von Nukleinsäuren vielfach verwischt erscheinen. Oft wird der mit solcher Idealisierung einhergehende Verlust an Wiedergabe der Realität durch einen Gewinn an Sicht auf das Wesentliche aufgewogen. So z. B. ist der konformationelle Übergang von der A-Typ- zur B-Typ-DNA als die dem organischen Chemiker vertraute Umklappung des „Halbsessels“ eines fünfgliedrigen Rings erkennbar (Abbildung 25); oder jener „Van-der-Waals-Clash“, der von den Entdeckern der DNA-Doppelhelix als verantwortlich dafür vermutet wurde, dass für die RNA im Gegensatz zur DNA eine B-Typ-Doppelhelix nicht in Frage komme,<sup>[92,93]</sup> wird klar als sterische 1,5-Repulsion des Newman'schen Typs identifizierbar (Abbildung 25). Der Grund für die gegenüber RNA-Duplexen beträchtlich erhöhte Stabilität von Duplexen der sogenannten „locked RNA“<sup>[94]</sup> wird ebenso augenfällig, wie die Eigenschaft der von Piet Herdewijn konzipierten, zur homo-DNA isomeren „HNA“,<sup>[95]</sup> mit natürlichen Nukleinsäuren Kreuzpaarung einzugehen (Abbildung 24) (vgl. auch unten).

Wie unten noch weiter auszuführen sein wird, bildet homo-DNA schon bei relativ kurzen Basensequenzen

Watson-Crick-Duplexe, die viel stabiler sind als entsprechende DNA-Duplexe. Hingegen ist sie unfähig, Kreuzpaarung mit komplementären DNA- oder RNA-Sequenzen einzugehen. Dieses Unvermögen kam seinerzeit nicht als Überraschung, denn das idealisierte Modell eines homo-DNA-Einzelstrangs hatte (anders als das entsprechende Modell eines DNA-Strangs) zum voraus angezeigt, dass ein antiparallel paarender homo-DNA-Doppelstrang nicht helikal, sondern tendentiell linear sein wird. Eine (für die damalige Zeit als umfassend zu bezeichnende) NMR-spektroskopische Analyse der Struktur des homo-DNA-Duplexes der antiparallel-selbstkomplementären Basensequenz 6'-A<sub>5</sub>T<sub>5</sub> durch Gottfried Otting im Laboratorium von Kurt Wüthrich<sup>[96]</sup> offenbarte tatsächlich eine weitgehend lineare Duplexstruktur. Sie zeigte zwar den prognostizierten (–sc/–sc)-Phosphodiester-Konformationstyp, erwies sich jedoch insofern komplexer als erwartet, insofern dieser Konformationstyp als innerhalb des Duplexes in einem dynamischen Gleichgewicht mit dem (ap/–sc)-Konformationstyp stehend interpretiert werden musste (Abbildung 26, links).

Als die Kristallisation des homo-DNA-Duplexes der antiparallel-selbstkomplementären Basensequenz 6'-CGAATTTCG gelang und man glaubte, damit die Frage nach der Struktur der homo-DNA abschließend durch Röntgenstrukturanalyse lösen zu können, erwies sich diese Aufgabe in den

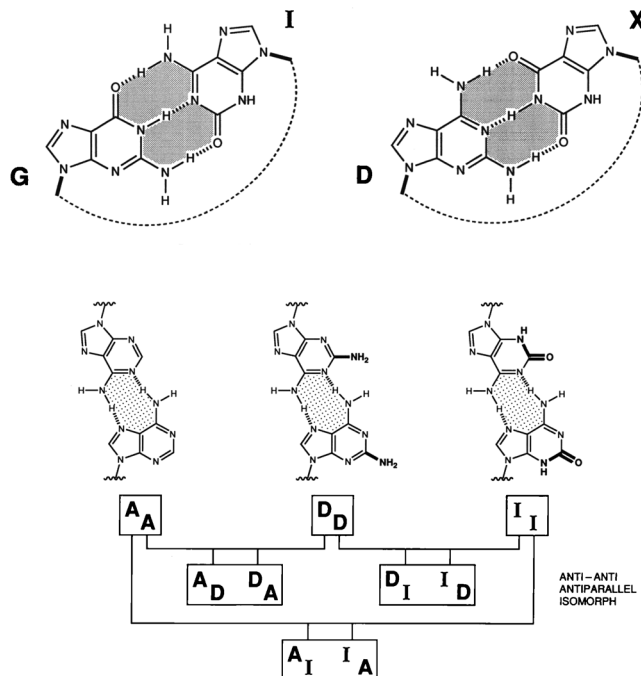


**Abbildung 26.** NMR-spektroskopischer (links) und röntgenstrukturanalytischer (rechts) Einblick in die Struktur von homo-DNA-Duplexen: Gemeinsame Präsenz der sc/sc- und der ap/sc-Paarungskonformationen (Abbildung 23) im Duplex der antiparallel-selbstkomplementären Basensequenz 6'-A<sub>5</sub>T<sub>5</sub><sup>[96]</sup> und die durch laterale Dimerisierung komplizierte Struktur des Duplexes der selbstkomplementären Sequenz 6'-CGAATTTCG.<sup>[97]</sup>

Händen einer ganzen Reihe von Röntgenstrukturanalysten als ein derart vertracktes Problem, dass beinahe zwei Jahrzehnte vergehen mussten, bis schlussendlich Martin Egli<sup>[97]</sup> nach systematischem Screening von ihm synthetisierter Derivate die Lösung am Duplex der Selenophosphodiestersequenz CGA<sub>psc</sub>ATTTCG präsentieren konnte. Sie offenbarte eine Kristallstruktur, deren kapriziöse Komplexität darin besteht, dass in ihr schwach rechts-helikale Duplexmoleküle durch Interduplex-Wasserstoffverbrückung über zwei „ausgedrehte“ Nukleobasen als Duplex-Dimere vorliegen (Abbildung 26, rechts). Trotz dadurch bedingter konformationeller Irregularität des kurzen Oligonukleotidstrangs finden sich in dessen regulärem Teil die ursprünglich prognostizierten und durch die NMR-Analyse bestätigten Charakteristika der homo-DNA-Struktur nochmals belegt: antiparallele Stranganordnung im Duplex, Sesselkonformation des Hexopyranoserings mit äquatorialer Lage der Nukleobase, sc/sc-Phosphodiester-Konformation des Oligonukleotidstranges und vorherrschende Interstrang-Stapelung der Nukleobasen als Folge ausgeprägter Neigung zwischen (lokaler) Strangachse und (lokaler) Basenpaarachse.

Da bereits in unseren ersten Beobachtungen über das Verhalten der homo-DNA offenbar wurde, dass hier zum ersten Mal ein Oligomersystem vorliegt, das mit sich selbst, jedoch nicht mit DNA paart, d.h. mit sich selbst in einer „Paarungs-Sprache“ zu kommunizieren vermag, welche von der „Sprache“ der natürlichen Nukleinsäuren verschieden ist, haben wir nicht zuletzt auch deshalb die Paarungseigenschaften der homo-DNA experimentell extensiv untersucht.<sup>[98–101]</sup> Von diesen Eigenschaften sind die wichtigsten: In der homo-DNA sind alle vier kanonischen Watson-Crick-Paarungen stärker als in der DNA; homobasische Sequenzen von Adenin zeigen starke Adenin-Adenin-Paarung im reverse-Hoogsteen-Modus, ebenso verhalten sich homobasische Sequenzen von Guanin (Abbildung 27); beide Purin-Purin-Paare sind stärker als das kanonische Adenin-Thymin-Paar, das Guanin-Guanin-Paar jedoch schwächer als das kanonische Guanin-Cytosin-Paar. Hieraus resultiert – abhängig von der Basensequenz – eine zu DNA unterschiedliche Paar-

ungsselektivität. Bei der homo-DNA sind erstmals veritable Purin-Purin-Basenpaarungen des Watson-Crick-Modus nachgewiesen worden: Die Purinbasen Xanthin (X) und Guanin (G) bilden mit den nicht-kanonischen Partnern 2,6-Diaminopurin (D) und Isoguanin (I) starke (vermutlich) dreizählige Purin-Purin-Basenpaare (X/D und G/I) (Abbildung 28). 2,6-Diaminopurin und Isoguanin sind zudem in der



**Abbildung 28.** Konstitutionstypen der in den Duplexen der Abbildung 27 vorkommenden Purin-Purin-Basenpaare.

Lage, sowohl unter sich wie auch mit den kanonischen Purinbasen im reverse-Hoogsteen-Modus zu paaren; solche Paare sind indessen deutlich schwächer als die Watson-Crick-Purin-Purin-Basenpaare A/D und G/I<sup>[102]</sup> (Abbildung 27).

Die aus den thermodynamischen Daten (Abbildung 29) sich andeutende entropische Begünstigung der Duplexierung von kanonisch gepaarten homo-DNA-Strängen relativ zu entsprechenden DNA-Strängen entspricht dem Bild eines im Vergleich zu letzteren höheren Grades an Präorganisation des homo-DNA-Stranges in Richtung auf die in Duplexen vorliegende Konformation hin. Die konformationelle Stabilität eines Pyranose-Sessels im Vergleich zur hohen konformationellen Flexibilität eines Furanose-Rings macht ein solches Bild plausibel. Befund und Interpretation dieses für Paarungssysteme erstmals bei der homo-DNA durch thermodynamische Daten belegten Phänomens eröffneten eine Möglichkeit, die sich in der gerade um jene Zeit in Fahrt gekommenen medizinisch-chemischen Forschung über künstliche Antisense-Oligonukleotidsysteme als fruchtbar erwies: die Verwendung des Präorganisationskriteriums als Planungshilfe bei der Suche nach Oligonukleotidsystemen mit stärkerer Paarung als RNA und DNA. Das Konzept hat erstmals Christian Leuman<sup>[103,104]</sup> zu seiner Synthese der „Bicyclo-DNA“ gezielt eingesetzt.<sup>[105]</sup> Den wohl eindrück-

HOMO – DNA : PURIN-PURIN-PAARUNG

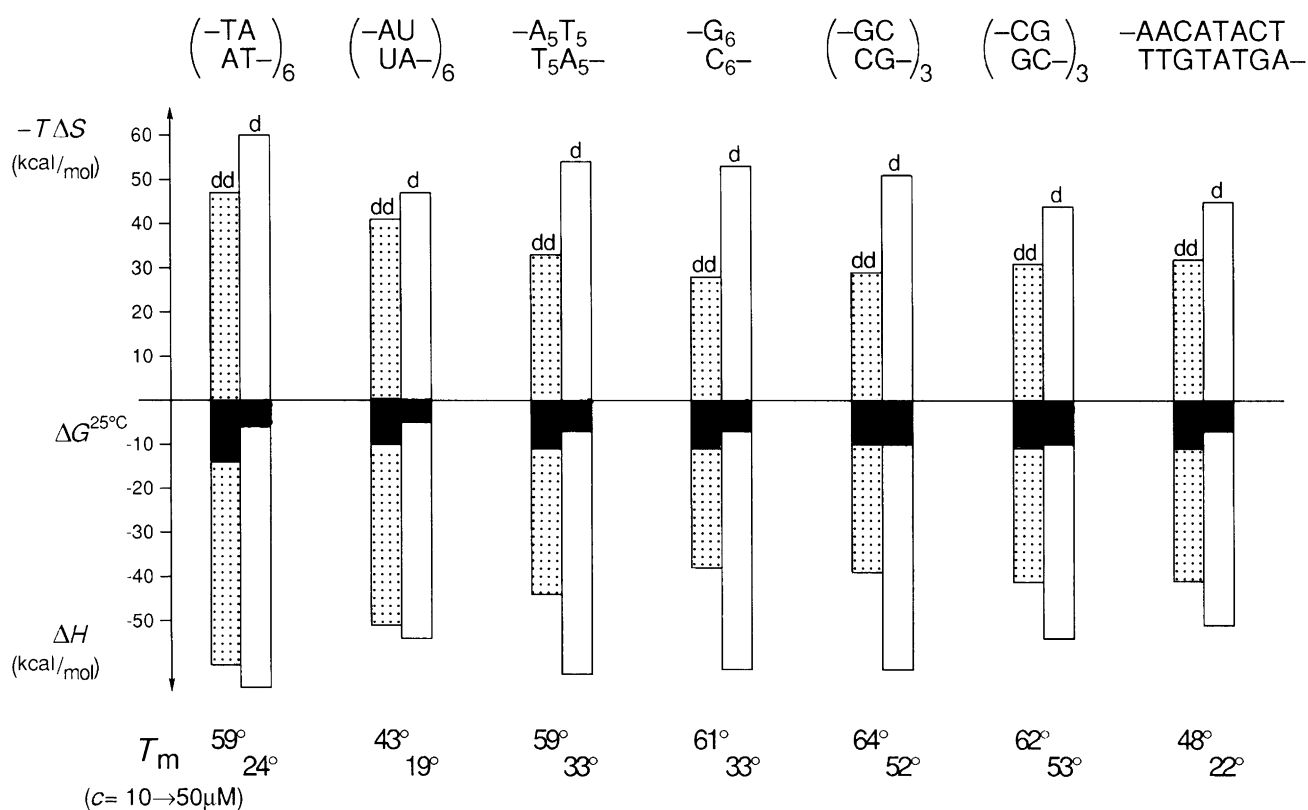
SCHMELZTEMPERATUREN (°C) VON HEXAMER-DUPLEXEN

15–20 μM Nucleotid  
150 mM NaCl  
10 mM Tris pH 7

	A	H	D	X	I	G
ADENIN	A 47					
HYPOXANTHIN	H < 7	–				
2,6-DIAMINOPURIN	D 41	< 5	36			
XANTHIN	X 14	–	63	–		
ISOGUANIN	I 43	12	39	16	42	
GUANIN	G < 15	< 15	< 15	18	61	38

~40 HOOGSTEEN (ZWEIZÄHNIG)  
~60 WATSON – CRICK (DREIZÄHNIG)  
— KEINE PAARUNG BEOBSACHTET

**Abbildung 27.** Purin-Purin-Paarung in homo-DNA-Duplexen (Schmelztemperaturen  $T_m$ ): Watson-Crick-Paarung von Xanthin mit 2,6-Diaminopurin und von Guanin mit Isoguanin, sowie Selbst- und Kreuzpaarungen nach dem reverse-Hoogsteen-Modus der Purine Adenin, 2,6-Diaminopurin, Isoguanin und Guanin (vgl. Abbildung 28).<sup>[100]</sup>



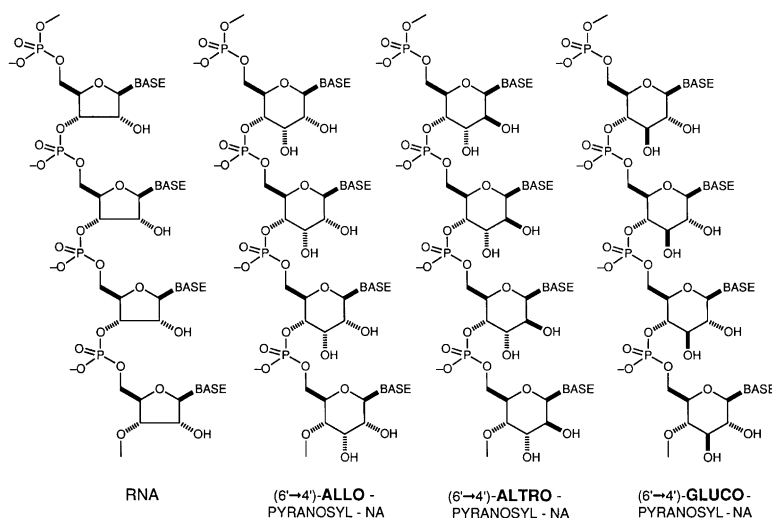
**Abbildung 29.** Vergleich der thermodynamischen Daten der Duplexierung von Einzelsträngen gleicher Basensequenz in der homo-DNA und der DNA-Reihe: Die fast durchgehend negativeren  $\Delta G$ -Werte in der homo-DNA-Reihe sind durch entsprechende Unterschiede in den  $\Delta S$ -Werten bedingt.<sup>[99,100]</sup>

lichsten Erfolg erzielte das Konzept mit der Synthese der LNA („locked nucleic acid“) (Abbildung 24) durch Jesper Wengel.<sup>[94]</sup> Piet Herdewijn, der unabhängig von der ETH-Gruppe ursprünglich mit medizinisch-chemischer Zielsetzung ebenfalls homo-DNA-Oligomere synthetisiert hatte,<sup>[88,106]</sup> gelang die wichtige Entdeckung der zu homo-DNA konstitutionsisomeren HNA („hexitolnucleic acid“; Abbildung 24),<sup>[95]</sup> deren Eigenschaft, mit RNA und DNA im Watson-Crick-Modus Kreuzpaarungen mit antiparalleler Stranganordnung einzugehen, den wichtigen Nachweis erbrachte, dass eine sechsgliedrige Ringstruktur einer Zuckereinheit in Oligonukleotiden nicht *an sich* die Bildung helikaler Duplexstrukturen des natürlichen Typs ausschließt. Im Rahmen von umfassenden Untersuchungen zur Chemie von Pyranoseoligonukleotiden hat dies Herdewijn<sup>[107,108]</sup> zudem durch die Synthese der zur ursprünglichen homo-DNA anomeren  $\alpha$ -homo-DNA gezeigt;<sup>[109–112]</sup> diese paart im Unterschied zur ersteren mit RNA, wenn auch schwach, und in paralleler Stranganordnung.

Oligonukleotidsysteme wie Bicyclo-DNA, HNA und LNA, und darüber hinaus auch zahlreiche weitere Paarungssysteme, deren Synthese mit medizinisch-chemischer Zielsetzung durch das Präorganisationskriterium stimuliert wurde,<sup>[94,104,107,108,111,113–115]</sup> haben keinen direkten Bezug zur ätiologischen Problematik; sie alle sind künstliche Systeme, deren Konstitution die für „potentiell natürliche“ Nukleinsäure-Alternativen zu fordernden Kriterien (vgl. oben) nicht erfüllt.

#### 4.4. Hexopyranose-Nukleinsäuren

Bereits parallel zu den Studien über die Paarungseigenschaften des Modellsystems homo-DNA hatten wir mit Arbeiten begonnen, die uns zu „echten“ Nukleinsäure-Alternativen führen sollten, d.h. Oligonukleotiden, deren Zuckerbausteine sich aus der Familie von solchen Hexosen rekrutieren würden, die ebenso wie Pentosen in Formose-Reaktionsgemischen enthalten sind. Dabei sollten die übrigen konstitutionellen Elemente (Nukleobase, glucosidische Anknüpfung der Nukleobase in äquatorialer Lage, (6'→4')- anstelle von (5'→3')-Phosphodiester-Verbrückung) möglichst der RNA entsprechen. Als Bausteine von Oligomeren kommen von den insgesamt acht diastereomeren Hexopyranosen nur zwei in Frage, wenn man für entsprechende Oligonukleotide gleiche Rückgratstruktur und gleiche Paarungskonformation wie bei der homo-DNA anstrebt; es sind dies die Allose und die Altrose. Nur in diesen beiden Isomeren – bei obligat äquatorialer Lage der Nukleobase und der beiden Rückgratsubstituenten – nimmt die freie Hydroxygruppe in Stellung 3 die axiale Konformation ein, in welcher sie nicht zur Behinderung der Paarungskonformation Anlass geben kann, wie sie es in äquatorialer Lage tun würde. Die erste Wahl fiel auf D-Allose, denn sie steht konfigurat (relativ und absolut) der D-Ribose am nächsten, was sich in der Tatsache reflektiert, dass das *rac*-Allosederivat in Aldolisierungsexperimenten mit Glycolaldehydphosphat das Hauptprodukt darstellt (Abbildungen 16–18),<sup>[60,70,116]</sup> ebenso



**Abbildung 30.** Konstitution, Konfiguration und Chiralität der experimentell untersuchten, potentiellen RNA-Alternativen der Allose-, Altrose- und Glucose-Reihe.

wie dies für das *rac*-Pentosederivat bei entsprechenden Experimenten in Gegenwart von Formaldehyd der Fall ist.<sup>[60]</sup> Später kamen noch die D-Altrose- und die D-Glucose-Variante hinzu (Abbildung 30); erstere als Reaktion auf die im Laufe der Arbeit gemachte Erfahrung, dass die Konfiguration der 2'-ständigen Hydroxygruppe für die Paarungsfähigkeit von solchen Oligonukleotiden kritisch ist, letztere deshalb, weil die Glucose den Ruf hat, die thermodynamisch stabilste Aldose unter den Hexosen zu sein. Die experimentellen Ergebnisse über Allo-, Altro-, und Glucopyranosyl-(4,6)-Oligonukleotide<sup>[117]</sup> sind in ihrer Gesamtheit (leider) nach wie vor nur in Dissertationen<sup>[102,117–121]</sup> und Postdoktoratsberichten<sup>[122–124]</sup> zugänglich.<sup>[125]</sup> Wie wohl Schlussfolgerungen aus solchen Ergebnissen in diversen Publikationen erwähnt wurden,<sup>[4,15,84,126–129]</sup> sollen hier unsere Erfahrungen über die drei erwähnten Hexopyranose-Oligomersysteme etwas eingehender behandelt werden. Die Untersuchungen über diese drei Oligonukleotidsysteme waren weniger umfassend als jene über die homo-DNA; früh wurde klar, dass es sich hier um Systeme handelt, die aufgrund ihrer Eigenschaften keine Chance haben, evolutionäre Konkurrenten der RNA gewesen zu sein.<sup>[130]</sup>

Im Unterschied zu homo-DNA, wo man sich bei der Synthese von Oligonukleotiden<sup>[98]</sup> einfach an das Vorbild der DNA-Synthetik halten konnte, gab es bei der Herstellung von Hexose-Analoga der

RNA infolge der zwei vicinalen, nicht in die Phosphodiester-Brücken einbezogenen Hydroxygruppen ein Schutzgruppenproblem. Als dessen Lösung für die beiden (2',3')-*cis*-ständigen Hydroxygruppen der Allose-Reihe erwies sich die Isopropylidenacetal-Schutzgruppe, da sie, obwohl säureempfindlich, bei der Festphasensynthese von Oligomeren die unter milderen Bedingungen erfolgende säurekatalysierte Entfernung der 5'-Trityloxy-Gruppierung zu überstehen vermag.<sup>[118–120]</sup> Bei anschließenden Arbeiten in der Altrose- und Glucose-Reihe stellte sich indessen heraus, dass in diesen beiden Reihen die unter basischen Bedingungen zu spaltende Benzotatgruppe als Schutzgruppe dienen kann.<sup>[102,121]</sup> Im übrigen entsprach die Methodik der Herstellung von Oligonukleotiden in dieser Reihe der bei der Synthese von Oligonukleotiden der homo-DNA-Reihe verwendeten.<sup>[98]</sup>

Die in Abbildung 31 aufgeführten experimentellen Daten zeigen vorab vor allem Eines:

wie glücklich im Nachhinein die Entscheidung war, vorerst das Modellsystem homo-DNA zu bearbeiten und sich erst dann mit „potentiell natürlichen“ Alternativsystemen der Hexose-Reihe zu befassen. Die unter Standardbedingungen ermittelten Schmelztemperaturen der Duplexe der selbstkomplementären Basensequenz (5' bzw. 6')-CGCGAATT-(bzw. UU)CGCG in den Reihen der DNA, homo-DNA und Allose-NA stehen für den generellen Befund, dass die Purin-Pyrimidin-Paarung in der Allopripyranosyl-Reihe, wenn überhaupt vorhanden, dann sehr viel schwächer ist als in der homo-DNA. Die gegenüber DNA und homo-DNA inverse Abhängigkeit der Schmelztemperatur vom pH-Wert der

		<i>T<sub>m</sub></i> ~10 μM Oligomer 150 mM NaCl, 10 mM Puffer	
		pH 7	pH 4.3
DNA	d - CGCG AATT CGCG GCGC TTAA GCGC - d	58 °	44 °
HOMO-DNA	dd Glc - _____ _____ - dd Glc	86 °	75 °
ALLOSE-NA	Allo - _____UU_____ _____UU_____ - Allo	< 3 °	20 °
ALTROSE-NA	Altro - _____UU_____ _____UU_____ - Altro	< 0 °	13 °

**Abbildung 31.** Vergleich der Paarungstärken von Duplexen einer antiparallel-selbstkomplementären Dodecamersequenz in der DNA-, homo-DNA-, Allose-NA- und Altrose-NA-Reihe.<sup>[118,119]</sup>

Messlösung darauf hin, dass die im protonierenden Bereich einsetzende Paarung des Alloose-NA-Duplexes einen Konstitutionstyp aufweist, der eine Protonierung des Cytosin-Partners voraussetzt, wie dies z.B. bei der DNA für den Paarungsmodus des Hoogsteen-Typs bekannt ist. Die lineare Abhängigkeit der Schmelztemperatur des Duplexes der alternierenden Sequenz 6'-allo-(GC)<sub>5</sub> vom pH-Wert der Lösung stützt diese Annahme (Abbildung 32). Die pH-Abhängigkeit der Schmelztemperatur der Blocksequenz 6'-allo-(G<sub>5</sub>C<sub>5</sub>) ist hingegen komplizierter; eindeutig zeigt sie bei einem pH-Wert um 5–5.5 einen abrupten Wechsel von einem pH-unabhängigen zu einem pH-abhängigen Paarungsmodus an. Dass die im neutralen Bereich für dieses Blockoligomer beobachtete (schwache) Paarung einer Purin-Purin- und nicht einer Purin-Pyrimidin-Paarung entspricht, ist wahrscheinlich.<sup>[119]</sup>

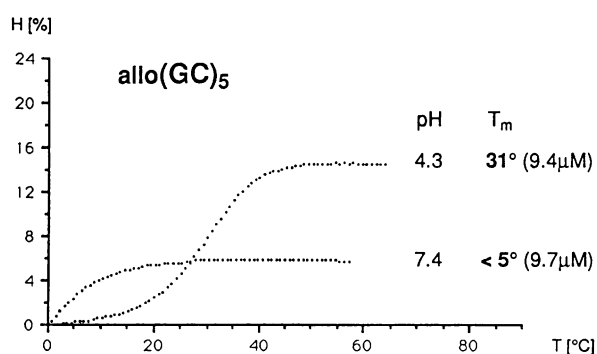
Eingehende Versuche, an den formal antiparallel-selbstkomplementären Sequenzen 6'-allo-(AU)<sub>6</sub>, 6'-allo-allo-A<sub>6</sub>U<sub>6</sub> und 6'-allo-U<sub>6</sub>A<sub>6</sub>, sowie den antiparallel-komplementären Sequenzpaaren A<sub>12</sub> und U<sub>12</sub> sowie 6'-allo-U<sub>2</sub>A<sub>4</sub>UA<sub>2</sub>U<sub>3</sub> und 6'-allo-A<sub>3</sub>U<sub>2</sub>AU<sub>4</sub>A<sub>2</sub> durch Beobachtung von Schmelztemperaturen und Temperaturabhängigkeit von CD-Spektren die Existenz einer Adenin-Uracil-Paarung schlüssig nachzuweisen, schlugen fehl. Diese Paarung ist in der Allopyranosyl-Alternative zur RNA wenn überhaupt nur äußerst schwach

existent, und wenn, dann (infolge Konkurrenzierung durch Adenin-Adenin-Paarung) stark sequenzabhängig.<sup>[118,119]</sup>

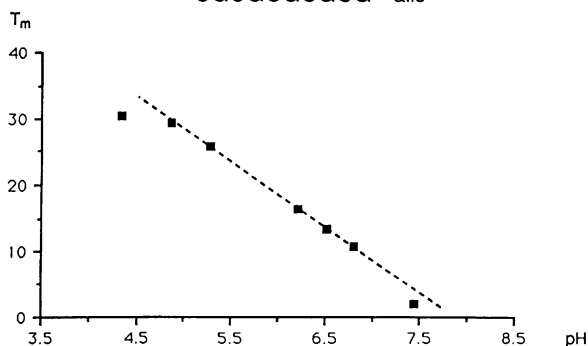
Homobasische Purin-Purin-Sequenzen der Alloose-NA verhalten sich ähnlich wie entsprechende Sequenzen der homo-DNA, d.h., sie paaren mit sich selbst, nur sind die Schmelztemperaturen generell tiefer als bei der homo-DNA. Für letztere ist nachgewiesen, dass die Guanin-Guanin- und die Adenin-Adenin-Paarungen in solchen Sequenzen den reverse-Hoogsteen-Modus in antiparalleler Strangorientierung benutzen.<sup>[99,100]</sup> Während aber z.B. die Struktur der temperaturabhängigen CD-Spektren und die hieraus ermittelten Schmelztemperaturen der homobasischen Sequenz A<sub>12</sub> von homo-DNA ( $T_m = 43^\circ$ ) und Altrose-NA ( $T_m = 39^\circ$ ; vgl. unten) sehr ähnlich sind, weist das CD-Spektrum der gleichen Sequenz bei der Alloose-NA ( $T_m = 29^\circ$ ) auf eine drastisch unterschiedliche Struktur hin. Welche Paarungsstruktur (Hoogsteen-Paarung in paralleler Strangordnung oder *syn*-Anordnung der Adeninkerne in antiparalleler reverse-Hoogsteen-Paarung) diesen Unterschied bedingt, bleibt unbestimmt. Die Kombination von Guanin mit Isoguanin in Sequenzen der Alloose-NA zeigt ein viel komplexeres Verhalten als bei der homo-DNA.<sup>[121,119]</sup> Unter Standardbedingungen bilden sich aus gleichen Äquivalenten der homobasischen Sequenzen G<sub>8</sub> und I<sub>8</sub> Gemische von Triplex-Aggregaten von zum Teil ungewöhnlich hoher Schmelztemperatur, selbstkomplementäre Sequenzen des Typs 6'-allo-G<sub>4</sub>I<sub>4</sub> und 6'-

## ALLOSE – NA:

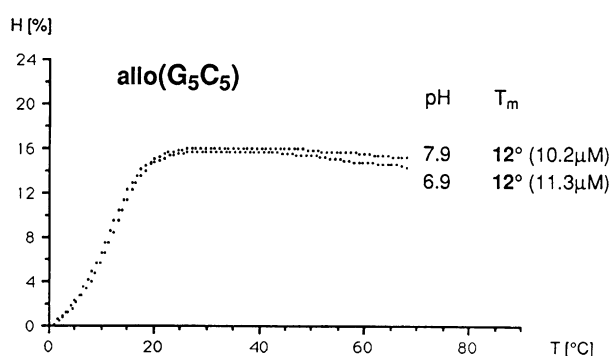
## GUANIN-CYTOSIN-PAARUNG



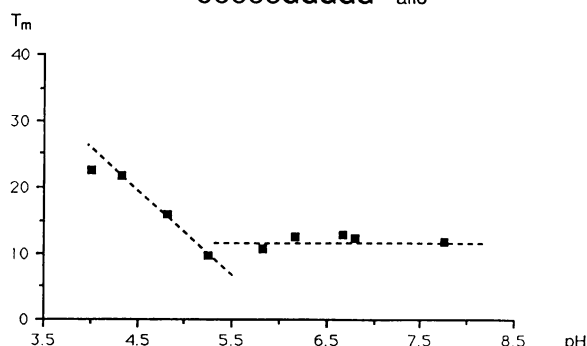
allo-GCGCGCGCGC  
CGCGCGCGCG-allo



$c = 8.4 - 11.3 \mu\text{M}$ ; 150 mM NaCl, 10 mM Acetat/Citrat/Tris



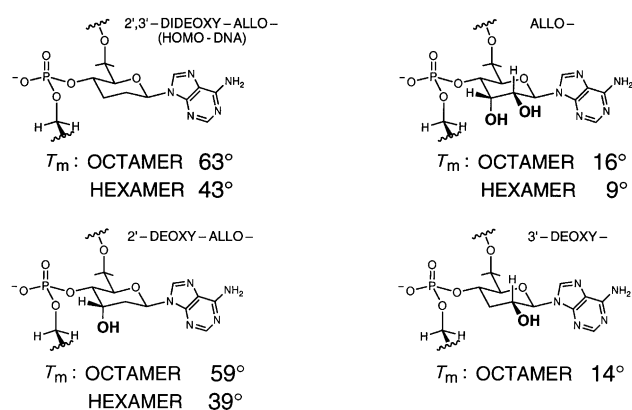
allo-GGGGGCCCCC  
CCCCCGGGGG-allo



**Abbildung 32.** Sequenzabhängigkeit der Abhängigkeit vom pH-Wert im Paarungsverhalten von zwei isomeren Guanin- und Cytosin-haltigen Alloose-NA-Decameren: Die „RNA der Hexose-Reihe“ ist kein Watson-Crick-Paarungssystem.<sup>[118,119]</sup>

allo-I<sub>4</sub>G<sub>4</sub> scheinen höhere Assoziate zu bilden,<sup>[121]</sup> während komplementäre Sequenzpaare G/I-haltiger Hexamere und Octamere sich zu anscheinend „normalen“, jedoch tief-schmelzenden Duplexen vereinigen. Experimentieren mit Allose-NA-Sequenzen bei Konzentrationen, die höher waren als die bei UV- und CD-spektroskopischer Charakterisierung üblichen, erwies sich infolge akuter Löslichkeitsprobleme als schwierig; schon deshalb lag eine NMR-spektroskopische Strukturmittlung außerhalb unserer Möglichkeiten.<sup>[118,119,121]</sup>

Das Fazit des Ersatzes der D-Ribofuranose durch die D-Allopyranose zu einer ansonsten der RNA konstitutionell völlig analogen Oligonukleotidstruktur ist der fast völlige Verlust der Fähigkeit zur informationellen Watson-Crick-Basenpaarung. Dies steht im krassen Gegensatz zur homo-DNA, in welcher diese Fähigkeit – wenn auch sozusagen in anderer „Sprache“ – erhalten bleibt, ja sogar verstärkt ist. Die in der homo-DNA gegenüber RNA ausgeprägtere Tendenz zur Purin-Purin-Paarung ist in der Allose-NA erhalten, wenn auch in deutlich schwächerem Ausmaß. Nach solchen Ergebnissen schien es wichtig, der Frage nachzugehen, warum und wie die beiden zusätzlichen Hydroxygruppen der Allose-NA die Paarungsfähigkeit der homo-DNA derart zu kompromittieren vermögen. Eine Antwort ergab sich aus den Paarungseigenschaften von 2'- und 3'-Desoxyderivaten der Allose-NA, die eigens zu diesem Zweck synthetisiert wurden (Abbildung 33).<sup>[122]</sup>



**Abbildung 33.** Selbstpaarung von Hexopyranosyladenin-Oligonukleotiden ( $c \approx 10 \mu\text{M}$ ,  $0.15 \text{ M NaCl}$ , pH 7, 260 nm). Vergleich der Paarungsstärken (im reverse-Hoogsteen-Modus) von A<sub>n</sub>-Oligomeren ( $n=8$  und 6) in der Allo-, 3'-Desoxyallo-, 2'-Desoxyallo- und 2',3'-Dideoxyallo(=homo-DNA)-Reihe: die äquatoriale Hydroxygruppe in Stellung 2' ist Quelle sterischer Hinderung der Paarungskonformation des homo-DNA-Typs.<sup>[122]</sup>

Modellbetrachtungen anhand der damals bereits vorhandenen NMR-Strukturdaten für homo-DNA<sup>[96]</sup> hatten vermuten lassen, dass im Duplex eines homo-DNA-Derivats, dessen Zuckerbaustein in Stellung 2' eine Hydroxygruppe in äquatorialer Lage aufweist, die Paarungskonformation einer spezifischen sterischen Behinderung zwischen dieser Hydroxygruppe und der Nukleobase der nachfolgenden Nukleotideinheit begegnen würde. Die in Abbildung 33 wiedergegebenen experimentellen T<sub>m</sub>-Daten für die Selbstpaarungs-

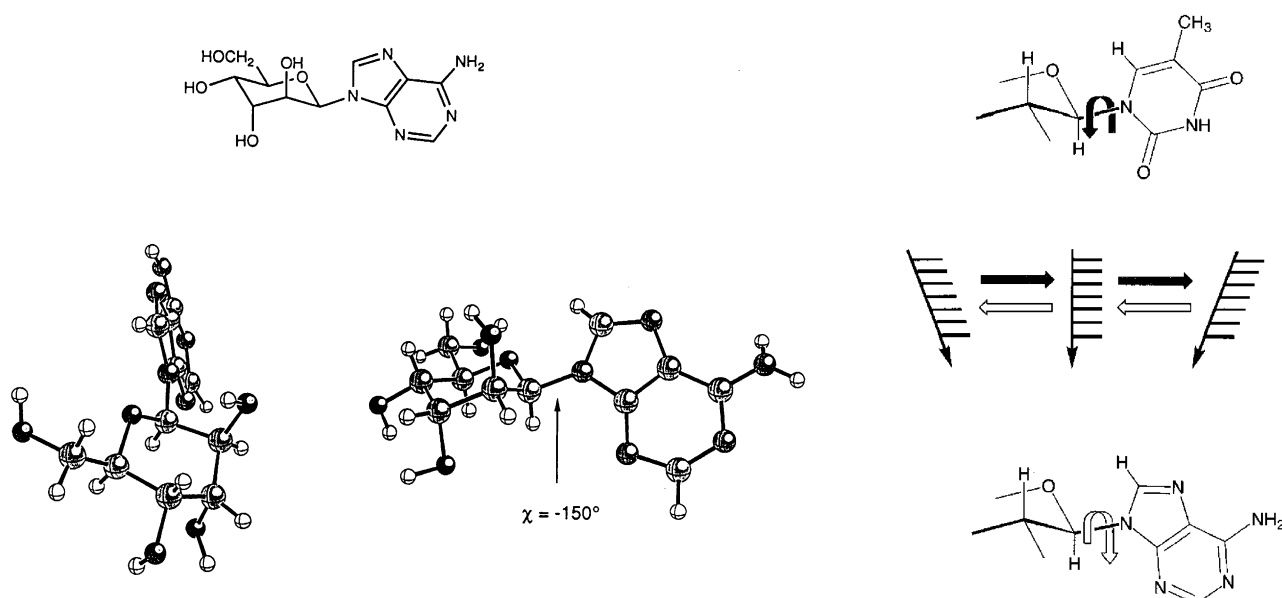
Duplexe der homobasischen Sequenz A<sub>6</sub> von homo-DNA und der Allose-NA sowie deren 2'-Desoxy- und 3'-Desoxyderivate stehen in Übereinstimmung mit dieser Interpretation: Verantwortlich für den weitgehenden Verlust an Basenpaarungsstärke der Allose-NA ist die 2'-ständige (äquatoriale) Hydroxygruppe, und nicht die 3'-ständige (axiale). Neulich ist diese Interpretation durch die bereits erwähnte Röntgenstrukturanalyse eines homo-DNA-Duplexes durch Martin Egli<sup>[97]</sup> nachdrücklich gestützt worden (vgl. Abbildung 33).

Die Erfahrungen über die Allopyranosyl-NA und die eben angedeutete Interpretation ihres Verhaltens hatten uns seinerzeit zur Altopyranosyl-NA geführt; diese unterscheidet sich von ersterer in der Konfiguration der kritischen Hydroxygruppe in Stellung 2' und nährte deshalb unsere Hoffnung, in ihr schlussendlich doch noch einer „potentiell natürlichen“ Hexopyranose-Alternative der RNA zu begegnen, die eine ähnlich hohe Paarungseffizienz aufweisen würde wie die homo-DNA. Doch dies – soweit geprüft – traf nicht zu: Die Watson-Crick-Paarung der antiparallel-selbstkomplementären, in Abbildung 31 wiedergegebenen Sequenz bei der Altrose-NA ist ebenso schwach (oder nicht existent) wie bei der Allose-NA (Abbildung 31), und homobasische Adenin-Duplexe der Altrose-NA sind zwar um einiges stabiler als bei der Allose-NA, aber immer noch viel tiefer schmelzend als bei der homo-DNA (Abbildung 34).<sup>[102]</sup>

	T <sub>m</sub> (°C) (10 μM)	ΔH (kcal / mol)	TΔS (kcal / mol)	ΔG <sup>25°C</sup> (kcal / mol)
<b>dd (A<sub>6</sub>)</b> 2',3'-Dideoxyallo- -AAAAAA- AAAAAA-	43°	-39.4	-30.1	-9.3
<b>allo (A<sub>12</sub>)</b> -AAAAAAAAAAAA- AAAAAAAAAAAA-	29°	-67.8	-60.1	-7.7
<b>altro (A<sub>12</sub>)</b> -AAAAAAAAAAAA- AAAAAAAAAAAA-	39°	-47.9	-39.0	-8.9

**Abbildung 34.** Selbstpaarung von Hexopyranosyl-Oligonukleotiden: thermodynamische Daten. Vergleich der Paarungsstärken im reverse-Hoogsteen-Modus von A<sub>n</sub>-Oligomeren der homo-DNA-, Allose-NA- und Altrose-NA-Reihe.<sup>[117]</sup>

Gemäß der temperaturabhängigen CD-Spektren entspricht die Paarungsstruktur jener der homo-DNA, und nicht der Allose-NA, wie es die axiale Lage der 2'-Hydroxygruppe erwarten lässt. Die Guanin-Cytosin-Paarung in den selbstkomplementären Sequenzen 6'-altro-(GC)<sub>5</sub> und 6'-altro-(G<sub>5</sub>C<sub>5</sub>) ist hingegen ebenso schwach wie in der Allopyranosyl-NA, und die pH-Abhängigkeit der Schmelztemperatur gleicht ebenfalls weitgehend dem in Abbildung 32 gezeigten Verhalten der letzteren.<sup>[123]</sup> Die strukturelle Ursache dieser unerwarteten Paarungsschwäche sehen wir im Nachhinein darin, dass in der Altrose-NA die 2'-Hydroxygruppe in axialer Lage die Nukleobase der gleichen Nukleotideinheit sterisch behindert und dadurch den nukleosidischen Torsionswinkel zwingt, von seinem in der homo-DNA um  $-120^\circ$  liegenden Wert signifikant abzuweichen. Tatsächlich wird in der Röntgenstruktur des „Adenosins der Altrose-Reihe“ ein nu-

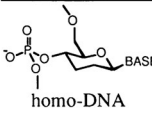
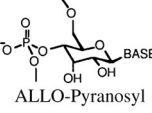
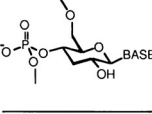
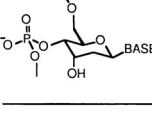
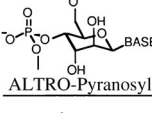
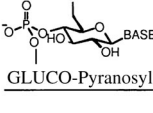


**Abbildung 35.** Röntgenstruktur des Adenosins der D-Altrose-Reihe<sup>[102]</sup> und schematische Illustration der Abhängigkeit zwischen nukleosidischem Torsionswinkel und Neigung des Oligomer-Rückgrats relativ zur Nukleobase.

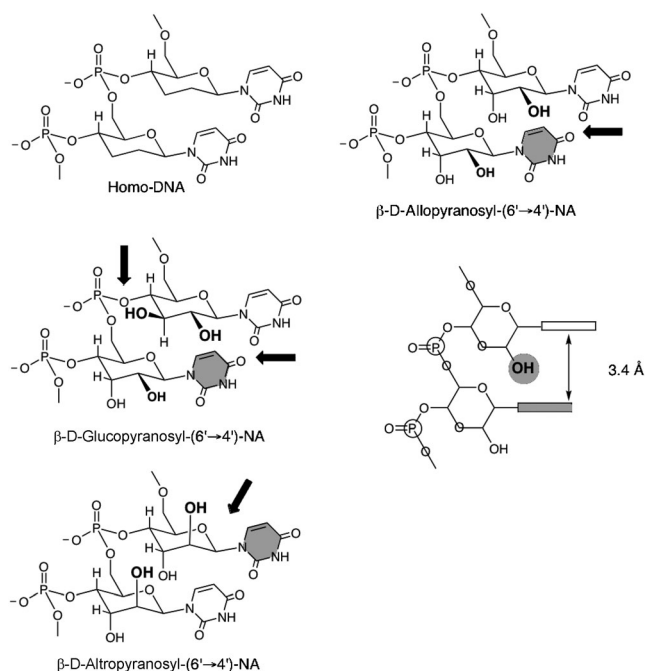
kleosidischer Torsionswinkel von  $-150.3^\circ$  beobachtet (Abbildung 35).<sup>[102]</sup> Wie solche Änderungen im nukleosidischen Torsionswinkel mit Änderungen in der Neigung zwischen Rückgrat-Achse und Basenpaar-Achse in einem Duplex zusammenhängen, ist in Abbildung 35 (rechts) angedeutet; Basenpaar-Abstände, somit auch Effizienz der Basenstapelung, sind dadurch direkt betroffen.<sup>[102]</sup>

Was die konformationsanalytische Paarungsprognose bezüglich der Paarungsfähigkeit von Glucose-NA (beide freien Hydroxygruppen äquatorial) nach all diesen Beobachtungen zum voraus erwarten ließ, hat das Experiment wiederum bestätigt: An Oligonukleotidsträngen mit D-Glucose als Zuckereinheit mit Adenin und Uracil als Nukleobasen konnte mit UV- und CD-spektroskopischen Methoden weder Adenin-Adenin-Paarung noch Adenin-Uracil-Paarung beobachtet werden (Abbildung 36).<sup>[120]</sup>

Als Teilantwort auf die eingangs gestellte Frage, „Warum Pentose- und nicht Hexose-Nukleinsäuren?“ ist nach all diesen experimentellen Ergebnissen zu folgern, dass RNA-Varianten, in denen anstelle der D-Ribofuranose eine der drei Hexopyranosen D-Allose, D-Altrose und D-Glucose als Zuckerbaustein gestanden hätte, in einem chemisch-biologischen Selektionsprozess keine Konkurrenten der RNA hätten sein können, denn ihnen fehlt die funktionelle Voraussetzung hierzu (Abbildung 36 und 37).<sup>[130]</sup> Auch wenn sich unsere Erfahrung über diese Alternativsysteme auf relative kurze Basensequenzen beschränkt, und zu erwarten ist, dass bei höheren Sequenzlängen stabilere Komplexe auftreten, ist die an kurzen Sequenzen festgestellte extreme Sequenzabhängigkeit der (schwachen) Basenpaarungen mit Informationsübertragung der Art, wie wir sie von natürlichen Nukleinsäuren kennen, unvereinbar; denn eine solche verlangt eine möglichst weitgehende Invarianz der Paarungsstärke von der Varianz der Basensequenz innerhalb eines gegebenen Satzes von Nukleobasen.

	AT	GC	AA
	WATSON-CRICK	WATSON-CRICK	REV. HOOGSTEEEN
 homo-DNA	stark	stark (stärker als DNA)	stark
 ALLO-Pyranosyl	sehr schwach	schwach (viel schwächer als RNA)	schwach
 Pyranosyl	sehr schwach (ähnlich wie ALLO-Pyranosyl)	—	schwach
 Pyranosyl	stark (ähnlich wie homo-DNA)	—	stark
 ALTRO-Pyranosyl	sehr schwach	schwach	schwach
 GLUCO-Pyranosyl	keine	—	keine

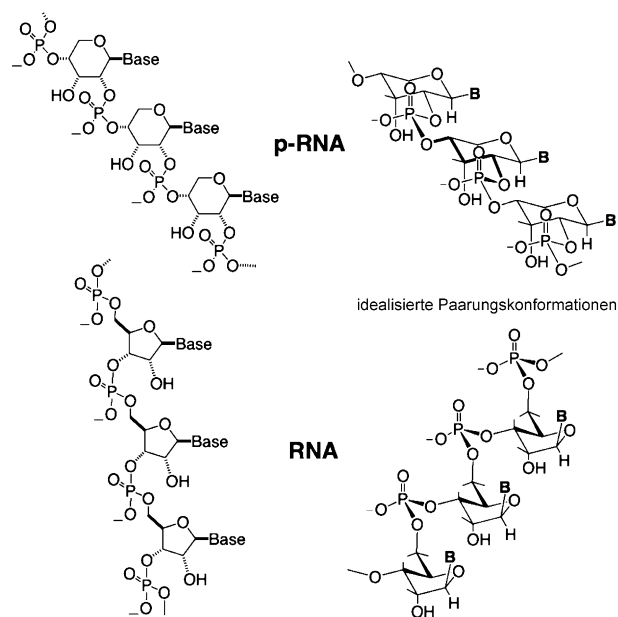
**Abbildung 36.** Qualitative Übersicht auf das Paarungsverhalten von Hexopyranose-Oligonukleotiden;<sup>[117–123]</sup> („—“ bedeutet: experimentell nicht bearbeitet).



**Abbildung 37.** Qualitative Übersicht auf paarungsrelevante sterische Hinderungen der Paarungskonformation des homo-DNA-Typs in Hexopyranose-NA-Oligomeren.

#### 4.5. Pyranoseform der RNA („p-RNA“)

Der drastische Unterschied in den Paarungseigenschaften des Modellsystems homo-DNA und seiner „potentiell natürlichen“ Dihydroxy-Analoga war ein Befund, dessen chemische Interpretation man vielleicht am prägnantesten als Paraphrase eines legendären Ausrufs<sup>[131]</sup> wiedergibt: „Zu viele Atome!“. Die Einsicht, dass die zusätzlichen Hydroxygruppen in den drei untersuchten Hexopyranose-Nukleinsäuren die von Duplexen der homo-DNA eingenommene Paarungskonformation sterisch behindern, wies uns von den Hexosen zurück zu den Pentosen und vorab zur Frage, ob es eine paarungsfähige RNA-Alternative gibt, die anstelle der Ribofuranose die Ribopyranose als Zuckerbaustein aufweist. Im Unterschied zu einem Hexopyranose-Baustein, auf welchen der Strukturtyp der RNA leicht und auf offensichtliche Art übertragbar ist, verlangte die Ribopyranose eine Änderung im Konstitutionstyp des Oligonukleotids: Die einzige Möglichkeit, die seinerzeit als imperativ betrachtete Forderung nach einer 6-Zentren-Periodizität des Oligonukleotid-Rückgrats<sup>[132]</sup> zu erfüllen, war eine Phosphodiester-Verbrückung über die *cis*-ständigen Hydroxygruppen in den Stellungen C-4' und C-2' des Ribopyranose-Rings (Abbildung 38). Für diesen Konstitutionstyp zeigte die beim Entwurf der homo-DNA-Struktur bewährte Methode der konformationsanalytischen Paarungsprognose, dass von insgesamt neun stabilsten (idealisierten) Konformationen der Ribopyranosephosphat-Einheit eine einzige repetitiv ist, womit die Paarungskonformation eines solchen hypothetischen Oligonukleotids vorausgesagt und somit zu erwarten war, dass die Pyranoseform der RNA paarungsfähig sein müsste.<sup>[133]</sup> Molekülmodelle von Duplexen dieser „Pyranosyl-

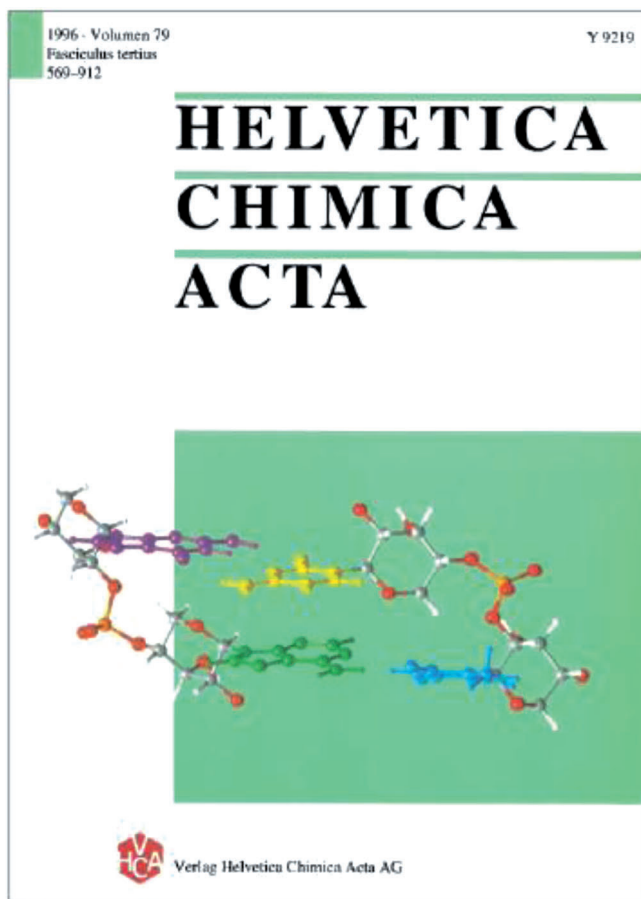


**Abbildung 38.** Chemische Struktur und prognostizierte Paarungskonformation der Pyranose-Form der RNA („p-RNA“).<sup>[133]</sup>

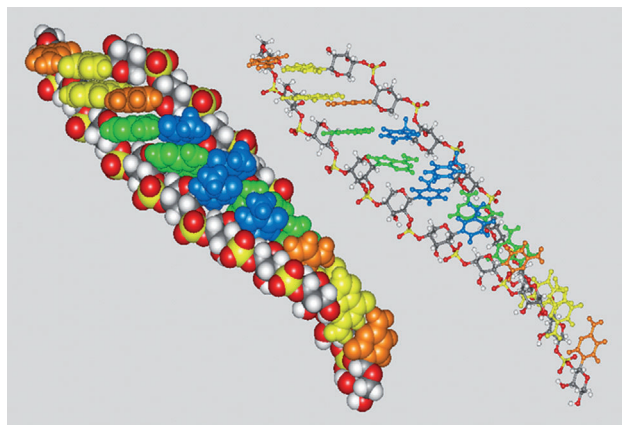
RNA“ (p-RNA) deuteten klar darauf hin, dass es sich dabei um eine weitgehend lineare Struktur mit starker Neigung mit einem gegenüber homo-DNA umgekehrtem Neigungssinn handeln wird (Abbildung 38). Ein Element an Unsicherheit lag darin, dass in einer solchen Struktur die Phosphodiester-Gruppierung obligat eine synklinale/antiparallele Konformation aufweisen muss, und nicht eine zweifach synklinale Konformation einnehmen kann, wie sie in der RNA vorkommt und für diese als die stabilere Konformation eingeschätzt wurde.<sup>[90]</sup> Eine alternative Nukleinsäurestruktur, die aus dem (konstitutionell) gleichen Zuckerbaustein Ribose aufgebaut ist wie die RNA und sich zu dem nach chemischem Ermessen mit Reaktionsstufen des gleichen Typs wie jene zur RNA hätte bilden können, ist für die Ätiologie der RNA-Struktur von besonderem Belang. Entsprechend eingehend haben wir das Projekt „p-RNA“ denn auch bearbeitet.<sup>[133–141]</sup>

Die Pyranoseform der RNA erwies sich als ein in diversen Beziehungen hervorragendes Paarungssystem; seine besondere Struktur reflektiert sich in höchst instruktiver Weise in seinen besonderen Paarungseigenschaften. Die von Bernhard Jaun und Mitarbeitern NMR-spektroskopisch ermittelte und von Romain Wolf molekulardynamisch modellierte Struktur des Duplexes der antiparallel-selbstkomplementären Sequenz 4'-pr-(CGAATTCG) zeigt eine (schwach) linkshelikale Leiterstruktur mit antiparalleler Strangorientierung und einer starken Rückgrat/Basenpaarachsen-Neigung (Abbildungen 39 und 40).<sup>[136,142,169]</sup> Diese weist eine im Vergleich zur homo-DNA umgekehrte Orientierung auf.<sup>[97,139]</sup> Der Strukturtyp entspricht zu einem bemerkenswerten Ausmaß jenem, der durch qualitative Konformationsanalyse anhand idealisierter Konformationen für einen p-RNA-Duplex vorausgesagt worden war.<sup>[133]</sup>

Die p-RNA unterscheidet sich in ihren Paarungseigenschaften scharf von jenen der RNA und DNA; dies ist vor allem eine Konsequenz der starken Neigung der p-RNA-



**Abbildung 39.** NMR-spektroskopisch beobachtete Paarungskonformation von p-RNA.<sup>[136]</sup> Die Basenstapelung ist interstrangulär.



**Abbildung 40.** Die NMR-spektroskopisch ermittelte Struktur des p-RNA-Duplexes der antiparallel-selbstkomplementären Basensequenz 4'-CGAATTCG ist eine schwach linkshelikale Leiterstruktur mit starker Rückgratneigung.<sup>[136, 169]</sup>

Leiterstruktur.<sup>[133, 134, 141]</sup> Duplexe sind durchwegs nach dem Watson-Crick-Modus gepaart und zeigen durchwegs höhere Schmelztemperaturen als entsprechende Duplexe der natürlichen Reihe. Wie bei der homo-DNA ist auch die Basenpaarung der p-RNA zu jener der RNA und DNA orthogonal, darüber hinaus aber auch orthogonal zur Basenpaarung der homo-DNA. Im wichtigen Unterschied zu sowohl homo-

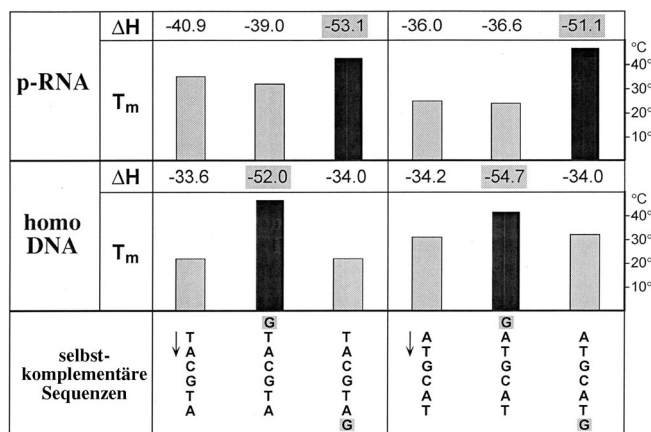
DNA als auch DNA zeigen p-RNA-Basensequenzen – wenigstens in untersuchten Konzentrations- und Sequenzlänge-Bereichen – keinerlei Paarung im Hoogsteen-Modus, weder zwischen Purinen und Pyrimidinen noch zwischen Purinen und Purinen.<sup>[133, 134, 141]</sup> Wie bei der homo-DNA ist die Duplexierung durch Watson-Crick-Paarung in antiparalleler Strangorientierung gegenüber Paarung in paralleler Orientierung viel stärker bevorzugt als bei der DNA.<sup>[99, 141]</sup> Für ein Adenin- und Thymin-haltiges Hexadecamer der p-RNA-Reihe, dessen Duplex mit dem antiparallel-komplementären Strang unter Standardbedingungen über 60°C schmilzt, wurde keinerlei Duplexierung mit seinem parallel-komplementären Strang beobachtet.<sup>[141]</sup> Dies entspricht der Erwartung, dass Oligomersysteme mit starker Rückgratneigung aus geometrischen Gründen<sup>[99]</sup> keine Paarung in paralleler Stranganordnung eingehen sollten. Solche Strangorientierungsselektivität ist aus ätiologischer Sicht von Belang; auf Grund dieser und anderer Eigenschaften wäre die Paarungsspezifität der p-RNA eigentlich als höher einzuschätzen als jene der natürlichen Systeme (vgl. jedoch unten die Diskussion zu Abbildung 57).

Eine weitere Konsequenz der starken Neigung der p-RNA-Leiterstruktur ist die Interstrang-Basenstapelung. Es ist dies ein Aspekt von Oligonukleotid-Duplexstrukturen, dessen Bedeutung für die Eigenschaften von Paarungssystemen wir wohl erst bei den Arbeiten über die p-RNA richtig erkannt hatten, wiewohl auch die Struktur der homo-DNA eine starke Neigung (mit umgekehrter Orientierung) aufweist.<sup>[96, 97, 140]</sup> Bei Interstrang-Stapelung stapeln benachbarte Nukleobasen paarweise, wobei die beiden Basen nicht dem gleichen Strang angehören; im Gegensatz ist Intrastrang-Stapelung eine solche zwischen benachbarten Nukleobasen des gleichen Stranges und ist nicht auf Interaktion zwischen Paaren solcher Basen eingeschränkt. In der Standardstruktur einer B-Typ-DNA ist die Basenstapelung rein intrastrangulär, im A-Typ (sowie bei der RNA) ist sie ein Hybrid der beiden Stapelungen, und in p-RNA-Duplexen ist sie rein interstrangulär (Abbildung 39). An sich wäre zu erwarten, dass Interstrang-Basenstapelung effizienter zur Stabilisierung eines Duplexes beiträgt als Intrastrang-Stapelung, denn beim „Schmelzen“ der Duplexstruktur verschwindet sie; dies braucht für Intrastrang-Stapelung nicht unbedingt der Fall zu sein. Die simple Erwartung, dass der Beitrag der Interstrang-Stapelung zur Stabilität eines p-RNA-Duplex durch Purin-Purin-Stapelung am größten und durch Pyrimidin-Pyrimidin-Stapelung am geringsten sein würde, und dass dadurch Stabilitätsunterschiede der Duplexe von isomeren Basensequenzen weitgehend rationalisierbar sein sollten, fand sich experimentell in bemerkenswertem Ausmaß bestätigt (Abbildung 41–43).<sup>[137, 139, 140]</sup> Gleiches gilt für die Erwartung, wonach sogenannte „dangling bases“ einen p-RNA-Duplex nur dann stabilisieren, wenn sie am 2'-Ende eines Stranges sitzen, und dass sie dies als Purine stärker tun, als in Form von Pyrimidinen (Abbildung 43 und 44). Die Zuverlässigkeit dieser Zusammenhänge ist gestützt durch die Beobachtung von deren systematischer Umkehr bei entsprechenden Komplexen der homo-DNA, bei welcher die Rückgratneigung umgekehrte Orientierung aufweist (Abbildung 41–44).<sup>[140]</sup>

Sequenz-motive	selbstkomplementäre Sequenzen	p-RNA		homo-DNA	
		$T_m$ °C	$\Delta\Delta H$ kcal/mol	$T_m$ °C	$\Delta\Delta H$ kcal/mol
py <sub>n</sub> -PU <sub>n</sub> PU <sub>n</sub> -py <sub>n</sub>	-TTTTAAAA	40	+11.8	34	+3.8
	-AAAATTTT	27		38	
	-TTTTTAAAAA	54	-4.3	45	-3.2
	-AAAAATTTT	43		50	
	-CCCGGG	68	+7.2	49	-1.8
	-GGGCC	58		53	
(py-PU) <sub>n</sub> (PU-py) <sub>n</sub>	-TATATATA	40	+5.0		
	-ATATATAT	38			
	-TACGTA	36	+4.9	27	-0.6
	-ATGCAT	26		37	
	-CGCGCG	65	+7.4	55	-2.0
	-GCGCGC	62		53	

**Abbildung 41.** Vergleich der Paarungsstärke in Duplexen antiparallel komplementärer Basensequenzen der p-RNA und der homo-DNA-Reihe: Gegensätzliche Orientierung der Rückgratneigung bedingt gegensätzlichen Einfluss der Interstrang-Basenstapelung auf die Duplexstabilität (vgl. Abbildung 42).<sup>[141]</sup> Fehler bzgl.  $\Delta H = \pm 10\%$ ; 10  $\mu\text{M}$ , 150 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH = 7.0.

Ein nicht unbeträchtlicher Teil unserer Arbeiten über die chemischen Eigenschaften der p-RNA sind durch Überlegungen initiiert worden, die sich aus einem ätiologischen Blickwinkel ergaben. So ist mit einem Seitenblick auf das Konzept der „RNA-Welt“ (vgl. unten) von einem potentiell primordialen genetischen Paarungssystem zu fordern, dass es wenigstens grundsätzlich eine hohe Mannigfaltigkeit sequenzspezifischer Strukturformen ausbilden kann. Nicht zu-



**Abbildung 43.** Die gegensätzliche Orientierung der Rückgratneigung in p-RNA- und homo-DNA-Duplexen bedingt gegensätzlichen Einfluss von überhängenden Basen auf die Duplexstabilität.<sup>[140]</sup>  $\Delta H$  in kcal mol<sup>-1</sup>; Lösungen: 3.5  $\mu\text{M}$ , 100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, pH = 7.0.

	2'-END	4'-END	2'-END	4'-END	2'-END	4'-END
$T_m$ (3 $\mu\text{M}$ )	66 $\pm$ 1 °C	68 °C	81 °C	68 °C	76 °C	
$\Delta G^{298\text{ K}}$	-4.3	-4.5	-6.3	-4.4	-5.4	
$\Delta H$	-35.9	-35.6	-39.9	-34.9	-36.7	
$T\Delta S^{298\text{ K}}$	-31.6	-31.1	-33.6	-30.5	-31.3	

**Abbildung 44.** Einfluss überhängender Basen auf die Stabilität von p-RNA-Haarnadel-Komplexen.<sup>[140,141]</sup>

letzt deshalb haben wir geprüft, ob die p-RNA in der Lage ist, Haarnadel-Komplexe zu bilden. Trotz der durch die Pyranoseform des Zuckerbausteins im Vergleich zu RNA erhöhten Fixierung des Rückgrats erfolgt die Bildung von Haarnadel-Komplexen selbst bei kurzen Sequenzen überraschend leicht, d.h. vergleichbar leicht wie bei der RNA (Abbildung 44).<sup>[137]</sup>

Wiewohl in der p-RNA-Reihe – in scharfem Gegensatz zur homo-DNA – keine (homochirale) Purin-Purin-Selbstpaarung im reverse-Hoogsteen-Modus beobachtet wurde (vgl. oben), haben eingehende Studien zur Chiroselektivität von p-RNA-Basenpaarungen andere Paarungstypen aufgedeckt, an denen ausschließlich Purine beteiligt sind. Wie bei der homo-DNA (Abbildung 28), so auch hier, bilden Guanin und Isoguanin ein Watson-Crick-Basenpaar, wenn auch nicht ein so starkes wie das kanonische zwi-

	py <sub>n</sub> - PU <sub>n</sub>	PU <sub>n</sub> - py <sub>n</sub>	(py-PU) <sub>n</sub>	(PU-py) <sub>n</sub>
p-RNA				
homo-DNA				

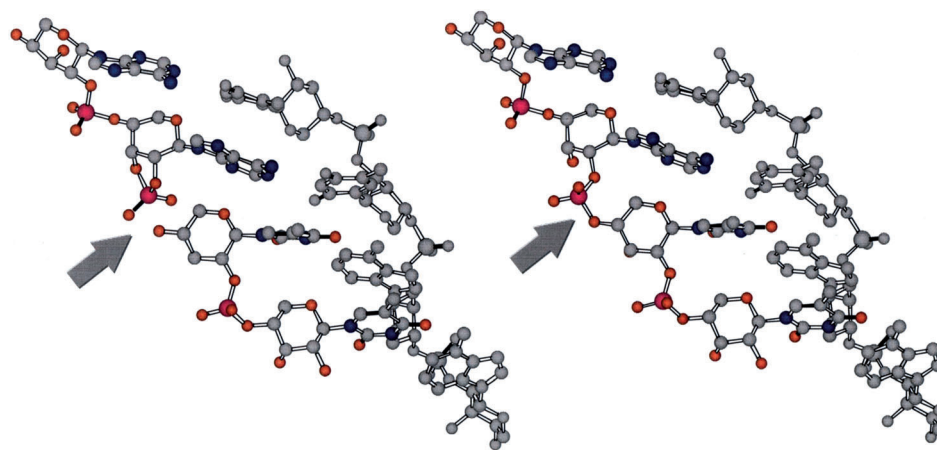
**Abbildung 42.** Schematische Erläuterung des gegensätzlichen Einflusses der umgekehrt orientierten Rückgratneigung von p-RNA und homo-DNA auf die Interstrang-Stapelung (py = Pyrimidin; PU = Purin) und somit die Stabilität von Duplexen gleicher Basensequenz.<sup>[141]</sup>

schen Guanin und Cytosin. Darüber hinaus zeigten Paarungsexperimente mit homobasischen Sequenzen  $G_n$  und  $C_n$  oder  $IsoG_n$  ( $n=6,8$ ) in homochiralen Strängen sowohl gleichen als auch gegensätzlichen Chiralitätsinns (Paarungsexperimente  $D-G_n$  und  $L-G_n$  mit  $D-C_n$  und  $D-IsoG_n$ ), dass bei der p-RNA die Watson-Crick-Paarung strikt enantioselektiv ist.<sup>[135]</sup> Auch heterochirale Purin-Purin- und Purin-Pyrimidin-Paarungen (offenbar nach dem reverse-Hoogsteen-Modus) zwischen Basensequenzen in homochiralen Strängen entgegengesetzten Chiralitätsinns wurden beobachtet. Unter diesen ist vor allem die hohe

Stabilität des Duplexes zwischen  $L-(\text{Isoguanin})_8$  mit  $D-(\text{Cytosin})_8$  bemerkenswert. Zudem bilden homobasische  $L$ -Isoguanin-Sequenzen mit homobasischen  $D$ -Isoguanin-Sequenzen (schwache) Duplexe, wohl nach dem reverse-Watson-Crick Modus zwischen zwei bei dieser Purinbase leicht zugänglichen Tautomeren als Paarungspartner.<sup>[135,141]</sup>

Die im ätiologischen Kontext zentrale Frage nach der Replizierbarkeit eines Oligonukleotidsystems haben wir in der p-RNA-Reihe durch die Replikation von Oligonukleotid-Sequenzen durch templatkontrollierte Ligation<sup>[143]</sup> eingehend studiert.<sup>[134,138,139,141]</sup> Vielversprechend in diesem Zusammenhang war die wichtige Eigenschaft der p-RNA, keine homochirale Hoogsteen-Selbstpaarung von Purinen zu ermöglichen, denn Leslie Orgel<sup>[144]</sup> hatte in seinen Pionierarbeiten über templatkontrollierte Oligomerisierung aktivierter Mononukleotide in der RNA-Reihe festgestellt, dass diese Art der Selbstpaarung von Guanin dadurch ein wesentlicher Störfaktor bei der nicht-enzymatischen Replikation von RNA sein kann, dass sie Guaninsequenzen der Templat-Komplexierung mit Cytosin-Einheiten entzieht. Dieser Störfaktor entfällt bei der p-RNA.

Alle unsere Ergebnisse zur Replikation von p-RNA-Sequenzen stammen aus Experimenten, welche auf der einfachsten und mildest möglichen Aktivierung einer Nukleotid- oder Oligonukleotid-Einheit beruhen, nämlich der Überführung einer 2'-Phosphatgruppe in ein fünfgliedriges (2',3')-Cyclophosphat mittels eines wasserlöslichen Carbodiimids als Dehydratisierungsmittel. Dieser Aktivierungsmodus führt in der p-RNA-Reihe über eine streng regioselektive Ligation zur korrekten (4'→2')-Phosphodiesterverknüpfung; die isomere (4'→3')-Kupplung wird nicht beobachtet. Der Grund hierfür ist eine als „glücklich“ zu bezeichnende Anordnung der Reaktionszentren im Ligationskomplex; in diesem liegt die 2'-Hydroxygruppe der nukleophil agierenden Ligandkomponente colinear zur P-O(3')-Bindung der Cyclophosphat-Komponente, perfekt präorganisiert für eine unter Inversion am Phosphorzentrum erfolgende Substitution der 3'-Sauerstoff-Funktion (Abbildung 45).<sup>[145]</sup> Im Gegensatz hierzu erzeugt in der RNA-Reihe die analoge Ligation über die

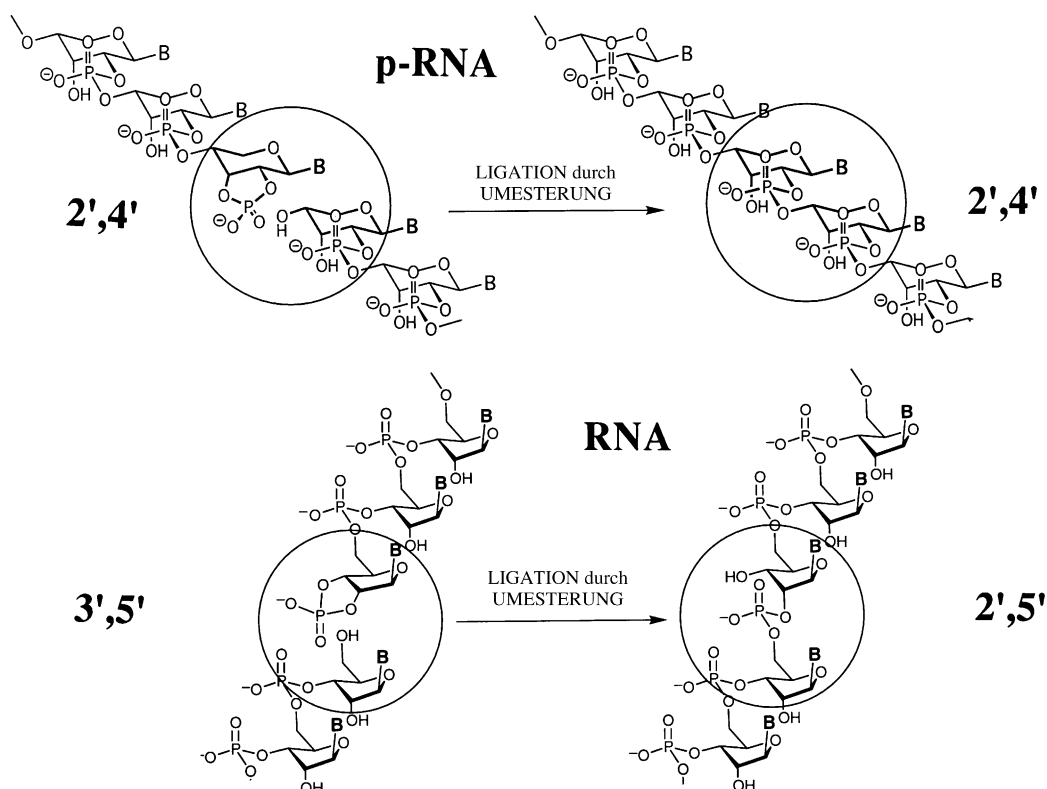


**Abbildung 45.** 2',3'-Cyclophosphat-aktivierte p-RNA-Liganden an antiparallelen komplementären RNA-Templaten sind für die regioselektive Ligation zu 2',4'-verknüpfter Phosphodiester-Verbrückung strukturell präorganisiert.<sup>[145]</sup>

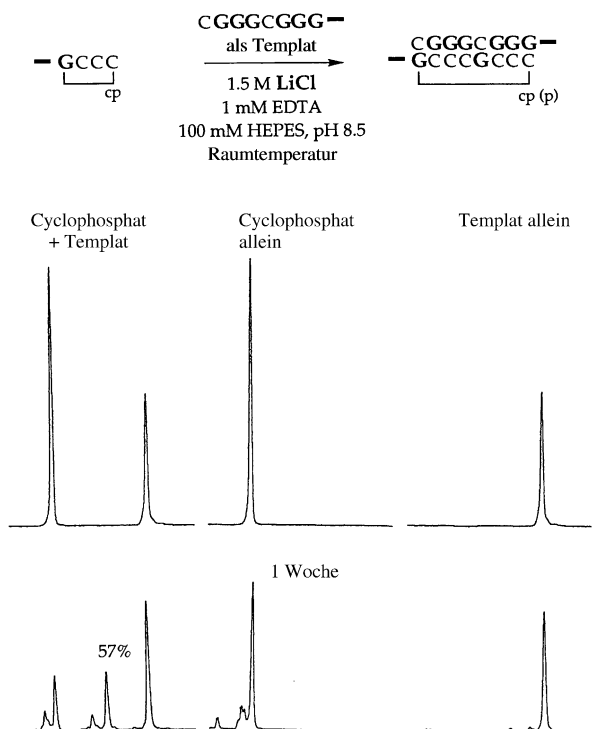
(2',3')-Cyclophosphatgruppe ebenso regioselektiv die nicht-natürliche (5'-2')-Verknüpfung.<sup>[139,146]</sup> Die nicht-enzymatische, templatkontrollierte Ligation über den Cyclophosphat-Aktivierungsmodus führt demnach von der p-RNA wiederum zur p-RNA, nicht aber von der RNA zur RNA (Abbildung 46). Einmal mehr ist diese spezielle Eigenschaft der p-RNA eine Folge der für sie so charakteristischen Rückgratneigung.<sup>[147]</sup>

Das in Abbildung 47 illustrierte Experiment ist repräsentativ für eine größere Zahl von Experimenten mit Octamer-Templaten und aktivierten Tetramer-Liganden, die zur Abklärung der Regioselektivität der Cyclophosphat-Ringöffnung, der Sequenz-Reproduktionsstreuung, Sequenzabhängigkeit, Mediumabhängigkeit und Chiroselektivität der replikativen Ligationsreaktion in der p-RNA-Reihe durchgeführt wurden.<sup>[134,141,139]</sup> Unter den verwendeten Konzentrationsbedingungen (150  $\mu\text{mol}$  Templat, 450  $\mu\text{mol}$  Tetramer-2',3'-cyclophosphat, in Gegenwart von LiCl) verlaufen solche Ligationen binnen Tagen und werden im Wesentlichen einzig (jedoch effizient) durch die hydrolytische Deaktivierung der Cyclophosphatgruppe am Ligand limitiert. Die Ligation ist chiroselektiv, d.h., kombiniert man ein homochirales  $D$ -Templat mit homochiralen Enantiomeren-Liganden, erfolgt unter sonst gleichen Bedingungen keine feststellbare Ligation. Dasselbe gilt für die Gruppe von Diastereomeren-Liganden, in denen nur je eine der vier Nukleotideinheiten die enantiomere Konfiguration aufweist; eine Ausnahme macht das Diastereomere mit der enantiomeren Einheit am 4'-Ende, dieses zeigt eine nur ungefähr 10-mal langsamere Reaktion als das homochirale Isomer. Ligationen mit Liganden, die aus Sequenzen aus ausschließlich Adenin- und Thymin bestehen, verlaufen noch entsprechend langsamer; indessen verlaufen sie sehr effizient mit entsprechenden Hexadecamer-Templaten und aktivierten Octamer-Liganden.

Ligationen erwiesen sich vor allem auch im Falle von Haarnadel-bildenden Templaten und Liganden des in Abbildung 48 wiedergegebenen Typs erfolgreich. Die Suche nach einer „Ligase“, die in der Reihe der Haarnadel-Templat- und doch wohl am ehesten Aussicht auf Erfolg versprechen



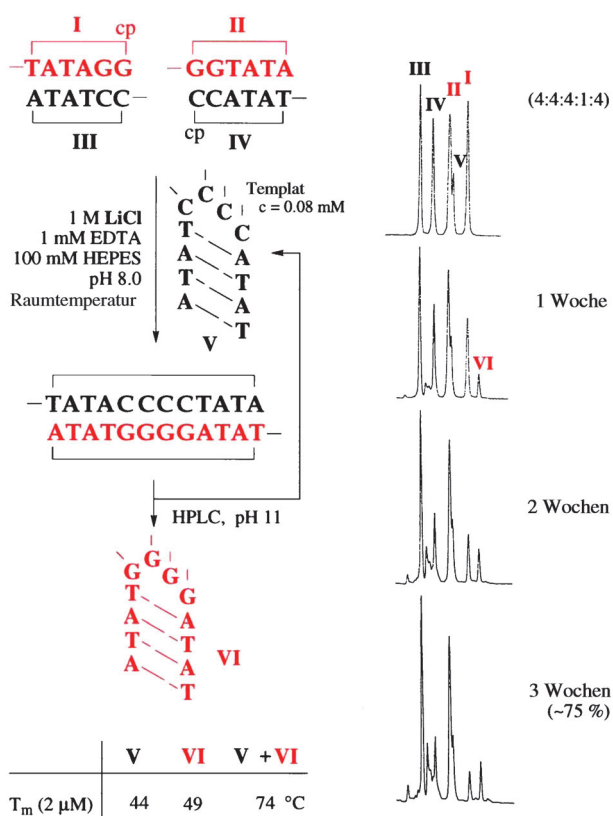
**Abbildung 46.** Die templatkontrollierte Ligation von 2',3'-Cyclophosphat-aktivierten Liganden in der p-RNA-Reihe führt mit hoher Regioselektivität zur 2',4'-Verknüpfung der Liganden, im Unterschied zur RNA, wo die analoge Ligation nicht zur natürlichen 3',5'-Verknüpfung, sondern zur isomeren 2',5'-Verknüpfung führt.<sup>[139]</sup>



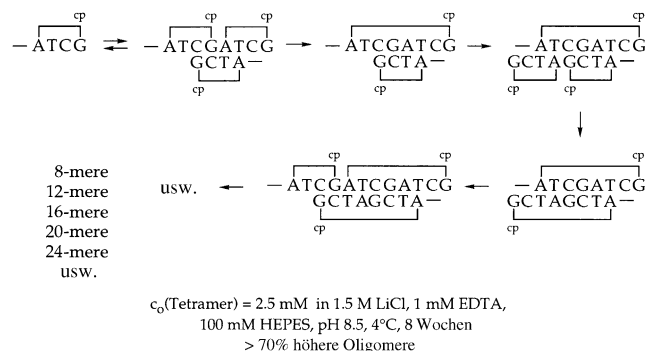
**Abbildung 47.** HPL-chromatographische Verfolgung eines Ligationsexperiments in der p-RNA-Reihe (nebst Testexperimenten). Nebenreaktion ist die Hydrolyse der 2',3'-Cyclophosphat-Gruppierungen in Ligand und Produkt zu entsprechenden Phosphat-Gruppierungen (links der Hauptsignale auftretende Begleitsignale).<sup>[139]</sup>

sollte, blieb erfolglos; trotz eingehender Bemühungen in problemgerechte Richtungen ist uns nicht gelungen, die Replikation einer solchen Haarnadelsequenz katalytisch, d. h. mit einer höheren Turnover-Zahl als 1 zu erreichen.<sup>[141]</sup> Versuche, die „Produkthemmung“ der Freisetzung des Ligationskatalysators (= Templat-Haarnadel) durch periodische Fluktuation der Temperatur des Reaktionsmilieus zu überwinden, scheiterten experimentell an der Komplexität der Gemische, die sich infolge gleichzeitiger Beschleunigung der hydrolytischen Deaktivierung von Cyclophosphat-Gruppierungen ergaben. Ob Ligase-Aktivität jenseits des von uns analytisch beherrschbaren Bereichs an (niederen) Templat- und Ligand-Konzentrationen beobachtbar gewesen wäre, bleibt eine wichtige offene Frage.

Der vielleicht bemerkenswerteste Befund über Ligationsreaktivität in der p-RNA-Reihe betrifft die Selbstkonstituierung von höheren Oligonukleotidsequenzen in Duplexen durch Oligomerisation von (antiparallel) halb-komplementären Tetramer-2',3'-cyclophosphaten.<sup>[138,141]</sup> Solche Oligonukleotidsequenzen sind im allereinfachsten Fall selbstkomplementäre, repetitive Oligomeren einer einzigen halb-selbstkomplementären Tetramersequenz (z. B. 4'-ATCG-cp) (cp = Cyclophosphat) (Abbildung 49). Sie können auch zwei unterschiedliche, zueinander komplementäre repetitive Oligomeren von zwei unterschiedlichen zueinander halb-komplementären Tetrameren sein (z. B. 4'-ACGG-cp im Gemisch mit 4'-GTCC-cp). Im allgemeinsten (experimentell nicht behandelten) Fall sind sie eine Vielzahl von paarweise kom-



**Abbildung 48.** Potentiell replikative Ligation von p-RNA-Hexameren zu Haarnadel-bildenden p-RNA-Dodecameren (Turnoverzahl = 1).<sup>[141]</sup>



**Abbildung 49.** Ligative Selbstkonstituierung von p-RNA-Duplexen ausgehend von halb-selbstkomplementären Tetramer-2',3'-cyclophosphaten am Beispiel des Tetramers pr-ATCG-2',3'-cp.<sup>[138]</sup>

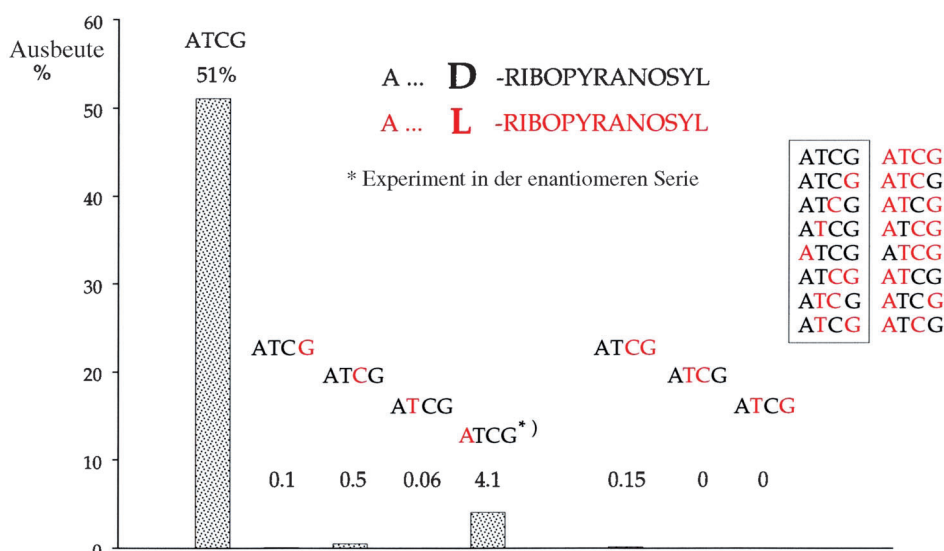
plementären Oligomersequenzen, die grundsätzlich aus einer quasi-stochastischen Cooligomerisation eines Satzes von halb-komplementären, bzw. halb-selbstkomplementären Tetramersequenzen hervorgehen können (z. B. 4'-ATCG-cp im Gemisch mit 4'-GCCG-cp).

Nebst anderen Tetrameren wurde der Prozess vor allem an der Tetramersequenz 4'-ATCG-cp untersucht (Abbildung 49). Mittels (Einzelstränge erfassender) HPL-Chromatographie war das sukzessive Auftreten von Tetramer-Oligomeren zu beobachten, das der Vorstellung von einem langsamen, aber stetigen Anwachsen von Duplexen unterschiedlicher Sequenzlänge entspricht, innerhalb welchen sich kooperativ in beiden Strängen Oligomere des Tetramers von

zunehmendem Oligomerisationsgrad konstituieren. Bemerkenswert ist wiederum die ausgeprägte, in Abbildung 50 wiedergegebene Chiroselektivität dieses Wachstumsprozesses: Von den insgesamt acht möglichen diastereomeren Enantiomeren eines racemischen Gemischs des Tetramers<sup>[148]</sup> reagiert das homochirale Isomer weitaus am raschesten; alle heterochiralen Isomere zeigen hingegen kaum feststellbare Produktbildung, wiederum mit Ausnahme des in der 4'-Endposition heterochiral substituierten Tetramers 4'-LDDD-cp,<sup>[149]</sup> das etwa 1/10 der Reaktivität des homochiralen Tetramers aufweist.<sup>[150]</sup> Lässt man die Oligomerisation des homochiralen Tetramers in Gegenwart der heterochiralen Diastereomeren ablaufen, findet man die Oligomerisationseffizienz im Wesentlichen unbeeinträchtigt. Was auch hier ein stetes Fortschreiten des Ligationprozesses stört, ist die hydrolytische Deaktivierung von Cyclophosphat-Gruppierungen. Wiewohl eine Erwartung wie die folgende von der experimentell erfassten Realität sich entfernt, ist dennoch festhaltenswert, dass aus einem äquimolaren Gemisch der insgesamt acht möglichen diastereomeren Racemate eines halb-selbstkomplementären Tetramer-2',3'-cyclophosphats<sup>[148]</sup> ein racemoides Gemisch von Duplexen aus weitgehend homochiralen Oligomersequenzen hervorgehen würde.

Das Leistungsvermögen der von uns verwendeten HPL-chromatographischen Methode war von vornherein zu begrenzt, als dass wir damit das eigentliche Potential dieses Reaktionstyps hätten ausloten können, nämlich die kombinatorische Selbstkonstituierung von höheren p-RNA-Sequenzen ausgehend von Sätzen unter sich halb-komplementärer Tetramer-2',3'-cyclophosphate.<sup>[151]</sup> Um der Illustration des Prinzips willen zeigt Abbildung 51 einen solchen in sich konsistenten Cooligomerisationssatz von 16 Tetramersequenzen; dieser definiert sich dadurch, dass für jeden unter diesen Tetrameren formal möglichen Ligationsschritt das hierzu erforderliche Templat-Tetramer innerhalb des Satzes enthalten ist. Von den beiden eingerahmten Subsätzen von je vier Tetrameren ist jeder für sich ebenfalls ein solcher in sich konsistenter Cooligomerisationssatz. Bei Hintanstellung all jener Faktoren, die in der Realität das Verhalten solcher Reaktionssysteme aus vielen teils offensichtlichen Gründen äußerst komplex machen würden, lässt sich ermesen, wie Diversität an hochmolekularen Strukturen in einem solchen System sich konstituieren könnte: für einen Cooligomerisationssatz von vier (aktivierten) Tetrameren errechnen sich  $10^6$  verschiedene Sequenzen in Duplexen von 40-meren (10-meren von 4-meren), und für einen 16er Satz wären es formal  $1.8 \times 10^{19}$  Sequenzen in Duplexen von 64-meren. Zwei solcher Sequenzen sind (als Duplex) zur Illustration in Abbildung 51 wiedergegeben.

Es lohnt sich, hier einem gedanklichen Experiment stereochemischer Art Raum zu geben (Abbildung 52): Würde man in radikaler Vereinfachung der Realität einem Gemisch der je 8 Racemate eines Satzes von 16 Tetrameren einen rein stochastischen Verlauf der kombinatorischen Cooligomerisation unterstellen und zudem annehmen, dass diese nicht zu einer Bibliothek von verschiedenen Duplex-Längen, sondern ausschließlich zu Duplexen von 100-meren führte, und würde man ferner der Reaktion *völlige* (und nicht nur, wie oben, „weitgehende“) Chiroselektivität auferlegen, dann dürfte



**Abbildung 50.** Chiroselektivität der ligativen Selbstkonstituierung (vgl. Abbildung 49): Ersatz der D- durch die L-Ribose in je einer der vier Nukleotideinheiten des all-D-Tetramers vermindert die Gesamtausbeute an Oligomeren ca. 100- bis 500fach, ausgenommen des Ersatzes am 4'-Ende, wo die Ausbeute nur um den Faktor von rund 10 geringer ist.<sup>[138]</sup> Angegeben sind die Ausbeuten an höheren Oligomeren; nach 3 Wochen, 0.0025 M, 1.5 M LiCl, 4 °C.

PU - PU - py - PU	— G G C A	PU - py - py - py	— A C C C
	— G G T G		— G T C C
PU - py - PU - PU	— A C G G	py - py - py - PU	— C C C A
	— G T G G		— C C T G
PU - py - py - PU	— A C C A	PU - PU - py - py	— G G C C
	— G T T G	py - py - PU - PU	— C C G G
	— A C T G	py - py - py - py	— C C C C
	— G T C A	PU - PU - PU - PU	— G G G G



**Abbildung 51.** Ligative Selbstkonstituierung von p-RNA-Duplexen ausgehend von Tetrameren, die nicht mit sich selbst, sondern unter sich halb-komplementär wären.<sup>[151]</sup> Oben: Cooligomerisationsatz von 16 Tetrameren, der für jeden formal möglichen Ligationsschritt jedes Tetramers das hierzu benötigte Templat-Tetramer enthalten würde. Unten: Beispiel eines Duplexes aus zwei der  $1.8 \times 10^{19}$  Sequenzen, deren Selbstkonstituierung ausgehend von diesen 16 Tetrameren formal möglich wäre (cp = 2',3'-Cyclophosphat-Ende der Tetrameren).

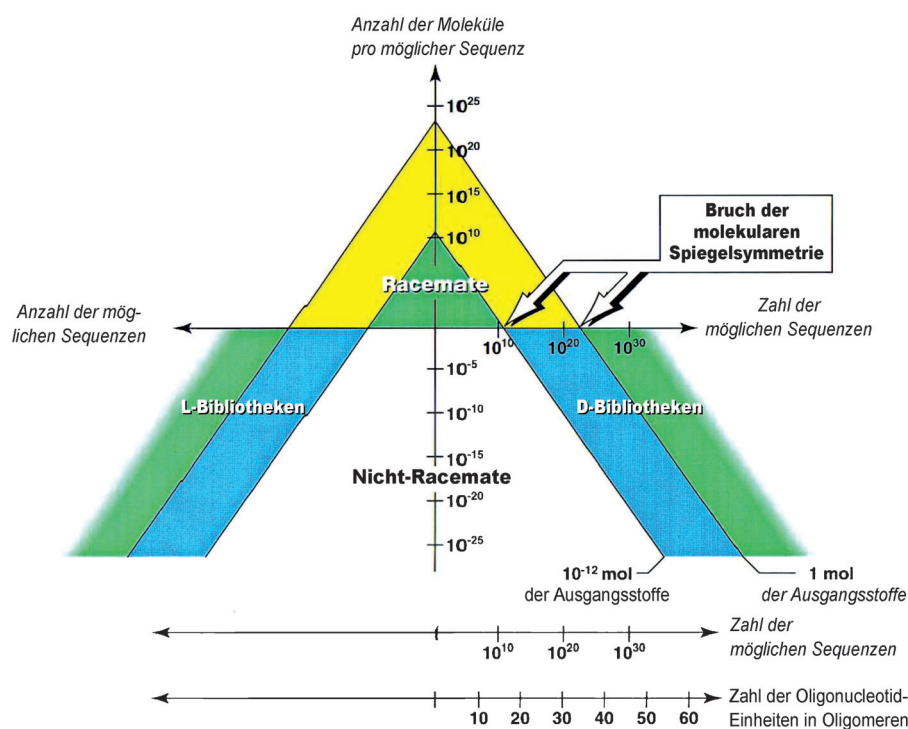
man die ausschließliche Entstehung von zwei Bibliotheken duplexierter 100-mere erwarten, die beide gleiche Stoffmengen umfassten und beide homochiral wären, die eine D, die andere L. *Wiewohl aus Racematen entstanden, wären die beiden Bibliotheken zusammen kein Racemat.* Die Zahl möglicher unterschiedlicher Sequenzen (ca.  $10^{60}$ ) wäre nämlich ungleich viel höher als die Maximalzahl tatsächlich gebildeter Sequenzen (höchstens ca.  $10^{24}$  bei molaren Mengen der Ausgangsstoffe), womit jede der gebildeten Sequenzen statistisch höchstens einmal vorkäme, und zwar nur in einer der Bibliotheken, und nicht in beiden. Die konstitutionelle Zusammensetzung der beiden Bibliotheken wäre verschied-

den, was ausschließt, dass sie Racemate sein könnten. Ein solches Szenario illustriert die Vorstellung, dass ein chemisches System bei stochastischem Anwachsen molekularer Komplexität letztlich nicht umhin kann, den Bruch der molekularen Spiegelsymmetrie herbeizuführen und zwar immer dann, wenn ein kritisches Maß an konstitutioneller Diversität als Folge zunehmender konstitutioneller Komplexität überschritten wird (Abbildung 52).<sup>[138, 152]</sup>

Vergleichsversuche in der RNA-Reihe zeigten, dass die templatkontrollierte Ligation von Tetramer-2',3'-cyclophosphaten fast so effizient ist wie bei der p-RNA (vgl. oben und Abbildung 46). Der Reaktionstyp der Selbstkonstituierung von Tetramer-Oligomeren innerhalb wachsender Duplexe wäre auch hier denkbar; denn da es hier nur um templatkontrolliertes Wachstum und nicht um Replikation ginge, würde die Bildung der alle vier Einheiten sich wiederholenden nicht-natürlichen 2'→5'-Phosphodiester-Verbrückung den Wachstumsprozess vermutlich nicht behindern. Oligomerisationsprozesse über 2',3'-Cyclophosphate sind im Hinblick auf die Entstehung von höheren RNA-Oligomeren ohnehin von Interesse, nicht nur weil 2',3'-Cyclophosphate die wohl einfachste und mildeste Form von Phosphat-Aktivierung darstellen,<sup>[153]</sup> sondern weil das Prinzip der sich selbst unterstützenden Oligomerisation von Liganden

bezüglich der Länge der Ligandsequenzen auf vielfältigste Art variierbar ist.<sup>[154]</sup> Es sind dies Gründe, warum man zögern muss, den oben behandelten Typus der Selbstkonstituierung von struktureller Vielfalt bei Oligonukleotidsystemen als ätiologisch irrelevant abzutun.

Rückblickend nimmt die Studie über die Pyranose-Form der RNA innerhalb unserer Arbeiten über Nukleinsäure-Alternativen eine Sonderstellung ein. Die schiere Existenz eines alternativen informationellen Oligomersystems, das aus den gleichen Bausteinen und vermutlich auf chemisch analogen Wegen wie die RNA sich hätte konstituieren können, und zudem – wenigstens auf Grund seiner chemischen Ei-



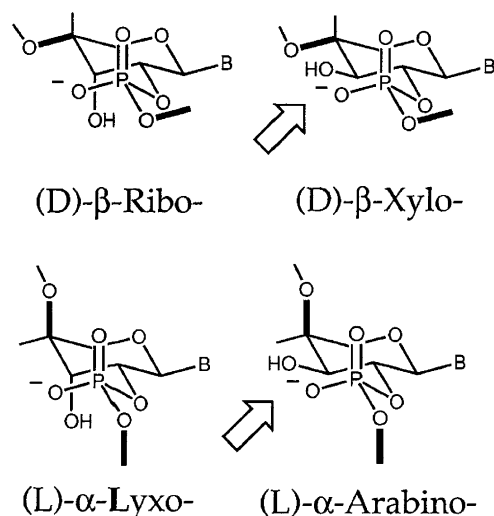
**Abbildung 52.** Übersteigt infolge Wachstums konstitutioneller Komplexität die konstitutionelle Diversität eines an sich racemischen Gemisches von Komponenten (z. B. Oligonukleotidsequenzen) eine kritische Grenze, ist der Bruch der molekularen Spiegelsymmetrie durch Ent-Racemisierung unvermeidlich.<sup>[138]</sup>

enschaften – als genetisches System in Frage gekommen wäre, ist aus ätiologischer Sicht ein an sich provozierendes Faktum. Die Kenntnis der chemischen Eigenschaften dieser potentiellen RNA-Alternative lassen uns solche Eigenschaften der natürlichen RNA-Struktur schärfer erkennen, die für die biologische Selektion der RNA auf chemischer Ebene maßgebend waren (vgl. unten). Für die Chemie informationeller Oligomersysteme haben Struktur und Eigenschaften der p-RNA mehrfache Anregungen zur Folge gehabt; Beispiele sind die Synthese eines konstitutionsanalogen  $\delta$ -peptidischen Oligomers im Laboratorium von Gerhard Quinkert,<sup>[155]</sup> oder die im Anschluss an das p-RNA-Projekt in unserem Laboratorium aufgenommenen und nachfolgend dargestellten Untersuchungen.

#### 4.6. Die Familie der vier diastereomeren Pentopyranosyl-(4'→2')-Oligonukleotide

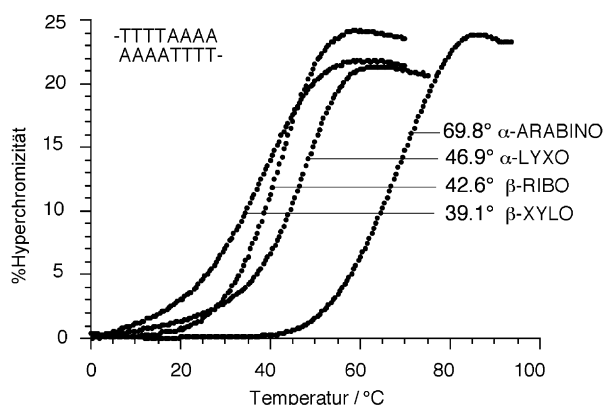
Die bemerkenswerten Eigenschaften der Pyranoseform der RNA mussten im Kontext der Ätiologie der Nukleinsäuren fast zwangsläufig zur Frage führen „Warum eigentlich Ribose, und nicht eine andere Pentose?“ Eine Antwort hierauf wird sich letztlich sowohl auf die Formation der Ribose als auch auf ihre funktionelle Eignung beziehen müssen; die Frage nach der Bildung der Ribose ist oben behandelt worden (Abschnitt 4.1; vgl. auch unten), hier sei der funktionelle Aspekt betrachtet. Wohl wäre es wichtig, die Frage auch mit Bezug auf alternative Pentofuranosen und

nicht nur Pentopyranosen zu stellen,<sup>[156]</sup> doch nach der Studie über p-RNA standen für uns letztere im Vordergrund. Dies auch deshalb, weil die konformationsanalytische Paarungsprognose uns ursprünglich vermuten ließ, dass in der Reihe der vier Pentopyranosesysteme mit äquatorialer Lage der Nukleobasen (Abbildung 53) keines der drei Diastereomere bezüglich Paarungsfähigkeit mit der p-RNA konkurrieren können; träfe dies zu, könnte es Teil einer Deutung der Sonderstellung der Ribose werden. Beim  $\beta$ -Xylo-Isomer ist die der p-RNA entsprechende Paarungskonformation sterisch offensichtlich stark gehindert (Pfeilsymbole in Abbildung 53), und sowohl beim  $\alpha$ -Lyxo- wie auch beim  $\alpha$ -Arabino-Isomer müsste die Paarungskonformation infolge der axialen Anbindung der Phosphodiester-Brücke an C-4' von jener der p-RNA deutlich abweichen.<sup>[133]</sup> Indessen erwies sich die Realität als viel komplexer.<sup>[157–164]</sup> Dabei



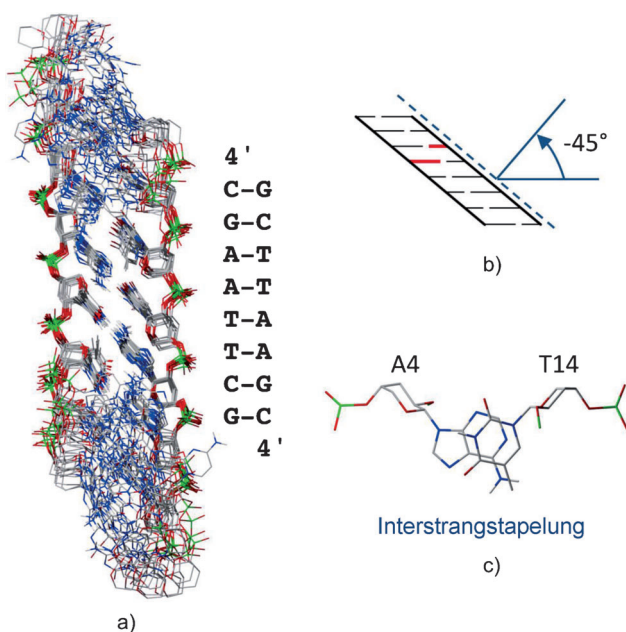
**Abbildung 53.** Die Familie der vier diastereomeren Pentopyranosyl-4',2'-Oligonukleotide (mit äquatorialen Nukleobasen). Pfeile weisen auf sterische Behinderung in der (idealisierten) Konformation hin, die der Paarungskonformation der p-RNA entspräche.

feststellen zu müssen, dass die experimentellen Ergebnisse weitgehend dem Gegenteil der Prognose entsprechen (Abbildung 54), war uns eine harsche, jedoch wichtige Lektion. Ausgerechnet das aus der Sicht idealisierter Paarungskonformationen eindeutig sterisch gehinderte  $\alpha$ -Arabinopyranose-System erwies sich von allen vier Isomeren als das weitaus paarungsstärkste Isomer (Abbildung 54).<sup>[157–159]</sup>



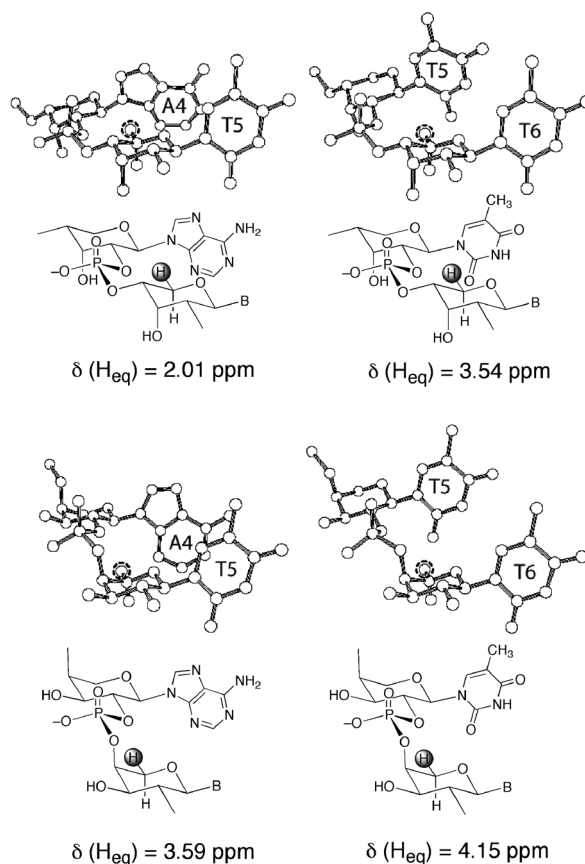
**Abbildung 54.** UV-spektroskopisch bestimmte Schmelztemperaturen der vier isomeren Pentopyranosyl-Oligonukleotid-Duplexe der selbstkomplementären Basensequenz 4'-AAAATTTT.<sup>[84]</sup>  $c = 10 \mu\text{M}$ ;  $0.15 \text{ M NaCl}$ ,  $0.01 \text{ M NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{pH} = 7$ .

Die im Laboratorium von Bernhard Jaun<sup>[158,169]</sup> NMR-spektroskopisch ermittelte Duplex-Struktur der selbstkomplementären Sequenz L-4'-ara-CGAATTCG zeigt eine dem entsprechenden p-RNA-Duplex<sup>[136]</sup> nicht unähnliche, jedoch noch deutlicher lineare und noch etwas stärker geneigte Leiterstruktur (Abbildung 55). Vorab hat uns diese gelehrt, was zur qualitativen Beurteilung der strukturellen Voraussetzungen der Watson-Crick-Basenpaarung ebenfalls gehören muss, nämlich, dass Paarung auch mit sterisch stark gehinderter Paarungskonformation möglich ist, und zwar dann, wenn sämtliche alternativen Konformationen ebenfalls gehindert sind. Die NMR-spektroskopischen Daten enthalten im übrigen einen wichtigen Hinweis darauf, warum der Ara-



**Abbildung 55.** a) NMR-spektroskopische ermittelte Struktur des Duplexes der selbstkomplementären Basensequenz 4'-CGAATTCG der L-α-Arabinopyranose-Reihe;<sup>[158,169]</sup> b) Rückgratneigung; c) Interstrang-Basenstapelung (Strukturbilder zu Verfügung gestellt von Bernhard Jaun, ETH).

bino-Duplex eine höhere Schmelztemperatur aufweist als der entsprechende p-RNA-Duplex (Abbildung 56): In Duplexen der p-RNA und der Xylopyranose-NA tritt infolge der di-



**Abbildung 56.** NMR-spektroskopische Unterschiede in der Abschirmung des äquatorialen 5'-Protons durch benachbarte Nukleobasen in der Ribo- versus Arabino-Reihe korrelieren mit relativer Paarungsstärke in den beiden Reihen.<sup>[159,169]</sup>

äquatorialen Anbindung der Phosphodiesterbrücke eine intrastranguläre Behinderung benachbarter Nukleotideinheiten auf, die in der Arabinopyranose- und Lyxopyranose-NA infolge axial-äquatorialer Anbindung der Brücke entfällt. Diese Interpretation beruht nebst Modellbetrachtungen auf der Beobachtung einer unterschiedlichen Abschirmung der in Abbildung 56 markierten Protonen durch die benachbarten Nukleobasen im NMR-Spektrum.<sup>[158,169]</sup>

Alle vier von uns untersuchten diastereomeren Nukleinsäure-Alternativen der Pentopyranose-Familie haben die auffallende Eigenschaft, unter sich anscheinend ohne irgendwelche Einschränkung interfamiliäre Kreuzpaarung im Watson-Crick-Modus einzugehen (Abbildung 57).<sup>[160]</sup> Keines der vier Isomere paart mit natürlichen Nukleinsäuren, auch nicht mit homo-DNA. Alle vier Systeme stimmen offenbar bezüglich jener strukturellen Parameter überein, welche für die „Paarungs-Sprache“ eines Systems maßgeblich sind; über generelle Rückgrat-Flexibilität hinaus sind dies hauptsächlich Ausmaß und Orientierung der Rückgrat/Basenpaar-Neigung.<sup>[161]</sup> Dass diese beiden Parameter anscheinend innerhalb

$T_m$ -Werte von TTAAAATA  
TATTTTAA Duplexen

Selbst- paarung		-	15	10	23	48	
		RNA <b>r</b>	<b>pr</b>	<b>px</b>	<b>pl</b>	<b>pa</b>	4' TTAAAATA 2'
-	RNA <b>r</b>	<b>17</b>	(-)	(-)	(-)	(-)	
22	<b>pr</b>	(-)	<b>46</b>	<b>46</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	
23	<b>px</b>	(-)	<b>46</b>	<b>44</b>	<b>26</b>	<b>46</b>	
20	<b>pl</b>	(-)	<b>40</b>	<b>37</b>	<b>46</b>	<b>61</b>	
49	<b>pa</b>	(-)	<b>54</b>	<b>53</b>	<b>62</b>	<b>75</b>	
4' TATTTTAA 2'							

**Abbildung 57.** Inter- und Intrasystem-Kreuz- und Selbstbasenpaarung in der Familie der Pentopyranose-Nukleinsäuren (Schmelztemperaturen  $T_m$ ;  $c = 10$  mM in 1.0 M NaCl, 0.01 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.1 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , pH = 7). r = D- $\beta$ -Ribofurano, pr = D- $\beta$ -Ribopyrano, px = D- $\beta$ -Xylopyrano, pl = L- $\alpha$ -Lyxopyrano, pa = L- $\alpha$ -Arapyrano.<sup>[160]</sup>

der Familie weitgehend übereinstimmen, ergibt sich aus der Beobachtung, dass alle vier Diastereomere mit ihren Schmelztemperaturen in gleicher Weise sequenzspezifisch auf die Interstrang-Basenstapelung reagieren (Abbildung 58). Nebst durchwegs hohen Schmelztemperaturen der Selbst- und Kreuzpaarungskomplexe komplementärer Sequenzen fällt unter den in Abbildung 57 enthaltenen Daten besonders auf, dass selbst so kurze, nicht-selbstkomplementäre Sequenzen wie 4'-TTAAAATA und 4'-TATTTTAA in allen vier

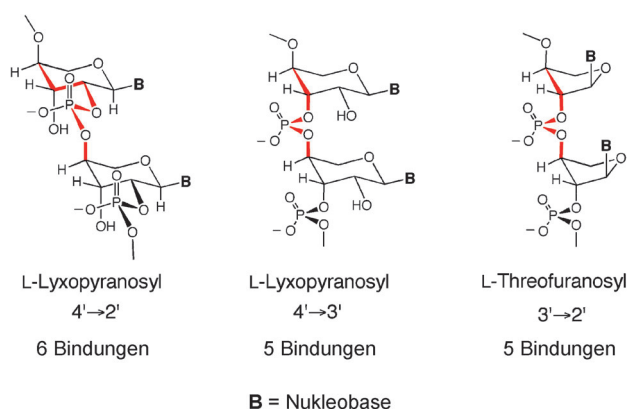
	4'-TTTTAAA-2' AAAATTTT- $T_m$ (10 $\mu\text{M}$ )	4'-AAAATTTT-2' TTTTAAAA- $T_m$ (10 $\mu\text{M}$ )	$\Delta\Delta G$	$\Delta\Delta H$
				kcal/mol
RIBO	40 °C	27 °C	+2.5	+11.8
LYXO	47 °C	38 °C	+2.0	+ 6.3
ARABINO	69 °C	61 °C	+1.0	- 2.3
XYLO	39 °C	16 °C	+1.6	+20.7

**Abbildung 58.** Deutung der innerhalb der Pentopyranose-Reihe konsistent unterschiedlichen Stabilität der Duplexe der selbstkomplementären Basensequenzen 4'-TTTTAAA und 4'-AAAATTTT durch unterschiedlich stabilisierende Interstrang-Basenstapelung. Gemäß den relativen Stabilitäten von Duplexen, die die Sequenzmotive ( $\text{py}_n\text{-pu}_n$ ) versus ( $\text{pu}_n\text{-py}_n$ ) enthalten, haben alle vier Pentopyranosyl-(2'→4')-Oligonukleotidsysteme ähnliche Rückgratneigungen. Bedingungen: 0.15 M NaCl, 0.01 M Tris-HCl, pH 7.0.

Pentopyranosyl-Systemen durchwegs relativ starke Selbstpaarung eingehen, vermutlich als Folge einer Verschiebung des Leserahmens (vgl. Abschnitt 4.8).<sup>[160]</sup>

Selbstkomplementäre Einzelstränge, deren Rückgrate nicht konfigurativ einheitlich, sondern innerhalb eines Strangs aus Einheiten zweier verschiedener Pentose-Diastereomere bestehen [z. B. D-ribo-L-lyxo-(T<sub>4</sub>A<sub>4</sub>)] paaren vergleichbar effizient wie gleiche Einzelstränge gleicher Basensequenz mit jedoch konfigurativ einheitlichem Rückgrat.<sup>[163]</sup> Informationelle Watson-Crick-Paarung innerhalb der Familie der Pentopyranosyl-Nukleinsäuren erfordert anscheinend weder gleiche Rückgrate der Paarungspartner, noch konfigurativ homogene Rückgrate dieser Partner, setzt jedoch deren Homochiralität voraus.

War ursprünglich für den Entwurf des Konstitutionstyps der Pentopyranose-Systeme das Kriterium der für die natürlichen Nukleinsäuren charakteristischen 6-Zentren-Periodizität der Rückgratstruktur maßgebend gewesen, stellte sich im Nachhinein die Frage, wie weit diese nun wirklich für die Paarungsfähigkeit eines Systems erforderlich sei. Deshalb synthetisierten und untersuchten wir das zur p-RNA isomere Oligomersystem, in welchem die (4'→2')-Phosphodiester-Überbrückung durch eine (4'→3')-Brücke ersetzt und damit die konstitutionelle Periodizität von 6 auf 5 Zentren reduziert ist (Abbildung 59).<sup>[161]</sup> Nicht überraschend fanden wir die Prognose, wonach ein solches System schon infolge der ge-



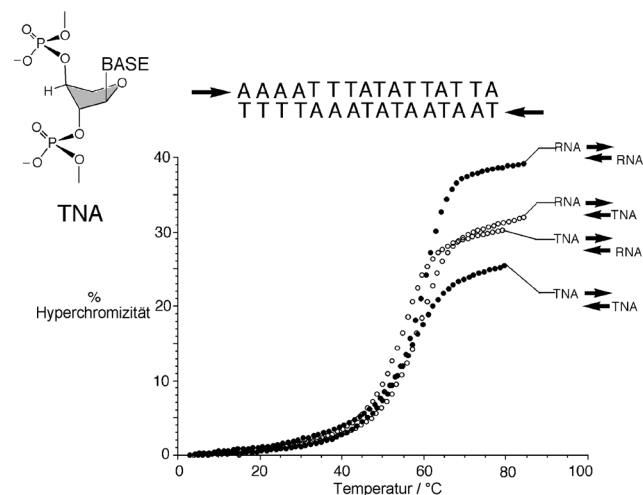
**Abbildung 59.** Die Paarungseigenschaften von L- $\alpha$ -Lyxopyranosyl-4',3'-Oligonukleotiden<sup>[161]</sup> gaben den Anlass zu den Arbeiten über L- $\alpha$ -Threofuranosyl-Oligonukleotide („TNAs“).

gegenseitigen Behinderung der vicinalen Phosphodiester-Gruppen keine Paarung zeigen sollte, durch das Experiment bestätigt. Da indessen eine solche Behinderung in einem entsprechenden Isomer mit diaxialer Phosphodiester-Überbrückung nicht zu erwarten ist, dehnten wir die Untersuchung auf die Lyxopyranose-Reihe aus (Abbildung 59). Das Resultat überraschte: Die L-(4'→3')-Lyxopyranose-NA erwies sich nicht nur als (schwach) paarungsfähig, sondern sogar imstande, mit DNA Kreuzpaarung einzugehen, wenn auch ebenfalls nur schwach und mit variierender Sequenzselektivität.<sup>[161]</sup> Dies war das Signal, eine seit Beginn unserer Arbeiten über Nukleinsäure-Alternativen gehegte Hypothese aufzugeben, wonach es müßig sei, aus einer Tetrose eine

paarungsfähige Nukleinsäure-Alternative konstruieren zu wollen, da es in ihr eine 6-Zentren-Periodizität des Rückgrats nicht geben könne. Dies brachte uns zum Projekt  $\alpha$ -L-Threofuranose-NA („TNA“) (Abbildung 59).

#### 4.7. L- $\alpha$ -Threofuranose-Nukleinsäure („TNA“)

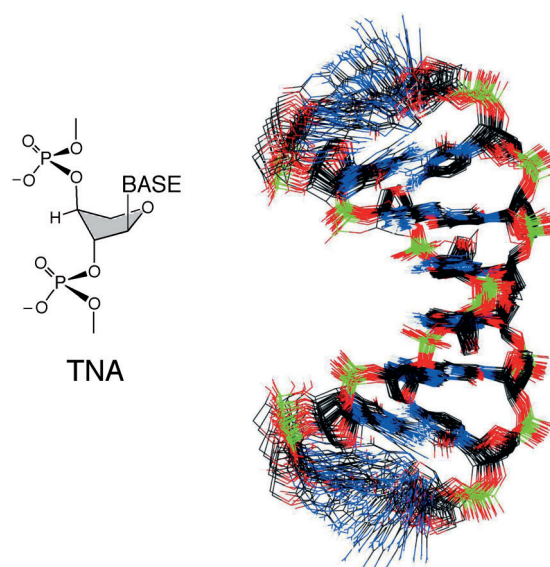
TNA ist ein hervorragendes Watson-Crick-System, das nicht nur mit sich selbst, sondern auch mit den natürlichen Nukleinsäuren informationell paart (Abbildung 60).<sup>[165–167]</sup> Die wiederum im Jaun'schen Laboratorium NMR-spektro-



**Abbildung 60.**  $T_m$ -Kurven der Intra- und Intersystem-Basenpaarung zweier antiparallel-komplementärer Hexadecamer-Sequenzen der TNA- und RNA-Reihe.<sup>[165,166]</sup> UV/ $T_m$ -Kurven, 260 nm, ca. 10  $\mu$ M in 1 M NaCl, 10 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.1 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , pH 7.

skopisch bestimmte Duplexstruktur der selbstkomplementären Standardsequenz 3'-CGAATTCG ist rechtsdrehend helical und gleicht in ihrem Habitus einer natürlichen Doppelhelix, wobei sie in Details dem A-Typ der DNA-Doppelhelix ähnlicher ist als dem B-Typ (Abbildung 61).<sup>[168,169]</sup> Solch struktureller Ähnlichkeit entsprechend geht TNA mit RNA deutlich stärkere Kreuzpaarung ein als mit DNA (Abbildung 62).<sup>[170]</sup> Die Strang-Orientierung in einer TNA-Doppelhelix ist zumindest mit Basensequenzen des im Experiment der Abbildung 63 geprüften Typs obligat antiparallel;<sup>[165]</sup> diesbezüglich übertrifft die Paarungselektivität der TNA jene der DNA. TNA weist gegenüber hydrolytischem Strangabbau eine vergleichbar hohe Resistenz auf wie die DNA (Abbildung 64).<sup>[166]</sup> In einem solchen Vergleichstest ist RNA von allen geprüften Systemen weitaus am empfindlichsten, vor allem auch empfindlicher als p-RNA. Ein Vergleich der Daten der Testreihe illustriert die von der RNA her bekannte Destabilisierung einer Phosphodiester-Gruppierung durch eine vicinale freie Hydroxygruppe (Abbildung 64).

Mit der TNA waren wir in unserer Suche nach potentiell natürlichen Nukleinsäure-Alternativen erstmals auf ein Paarungssystem gestoßen, das mit der RNA zuverlässig<sup>[171]</sup> zu

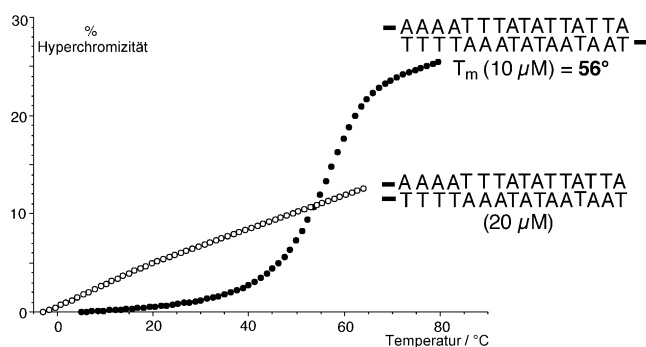


**Abbildung 61.** NMR-spektroskopisch ermittelte Struktur des TNA-Duplexes der antiparallel-selbstkomplementären Sequenz 3'-CGAATTCG (Strukturmodell zur Verfügung gestellt von Bernhard Jaun, ETH).<sup>[168,169]</sup>

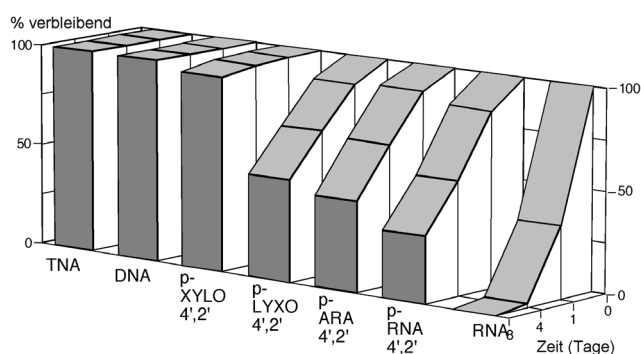
	TNA	RNA	DNA			TNA	RNA	DNA	
TNA	42 56 53 31	28 57 57 39	32 47 43 25	A B C D	TNA	-14.5 -73.7 -59.2	-17.3 -93.9 -76.6	-13.3 -77.3 -64.0	
RNA	76 58 50 41	62 59 57 52	59 44 40 36	A B C D	RNA	-15.8 -95.2 -79.4	-20.0 -131.9 -111.9	-12.3 -73.9 -61.6	
DNA	68 41 36 26	47 43 41 35	55 48 43 36	A B C D	DNA	-11.0 -57.0 -46.0	-13.7 -98.0 -84.3	-16.8 -129.2 -112.4	
<b>DUPLEX</b> <b>A</b> 3' - A <sub>16</sub> - 2' 2' - T <sub>16</sub> - 3' <b>B</b> 3' - A <sub>4</sub> T <sub>3</sub> ATAT <sub>2</sub> AT <sub>2</sub> A - 2' 2' - T <sub>4</sub> A <sub>3</sub> TATA <sub>2</sub> TA <sub>2</sub> T - 3' <b>C</b> 3' - AT <sub>2</sub> AT <sub>2</sub> ATAT <sub>3</sub> A <sub>4</sub> - 2' 2' - TA <sub>2</sub> TA <sub>2</sub> TATA <sub>3</sub> T <sub>4</sub> - 3' <b>D</b> 3' - ATTCAGCG - 2' 2' - TAAGTCGC - 3'					<b>DUPLEX</b> <b>B</b> 3' - A <sub>4</sub> T <sub>3</sub> ATAT <sub>2</sub> AT <sub>2</sub> A - 2' 2' - T <sub>4</sub> A <sub>3</sub> TATA <sub>2</sub> TA <sub>2</sub> T - 3'				
$T_m$ (10 $\mu$ M) 1.0 M NaCl, pH 7.0					$\Delta G$ 25°C $\Delta H$ $T\Delta S$				

**Abbildung 62.** Übersicht über Intra- und Intersystempaarungen ausgewählter Basensequenzen in der TNA-, DNA- und RNA-Reihe;  $T_m$ -Werte (links) und thermodynamische Daten (rechts).<sup>[165,166]</sup>

kommunizieren vermag. Aus ätiologischer Sicht hat dies seinerzeit nicht zuletzt auch deshalb besonderes Interesse erregt, weil der Zuckerbaustein der TNA mit seinen „nur vier Kohlenstoffatomen“ generativ einfacher zu sein scheint als der Baustein der RNA.<sup>[172]</sup> Im Hinblick auf die ätiologische Relevanz, die in einem solchen Zusammenhang der Möglichkeit intersystemischer Kommunikation zwischen Paa-

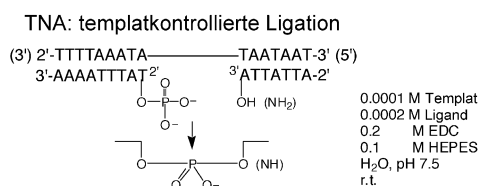


**Abbildung 63.** Vergleich des Paarungsverhaltens einer TNA-Basen-sequenz (L- $\alpha$ -Threofuranosyl-(3'→2')-Oligonukleotid) mit der entsprechenden antiparallel-komplementären und der parallel-komplementären Basensequenz.<sup>[165]</sup>



**Abbildung 64.** Hydrolytische Stabilität von Oligonukleotid-Einzelsträngen (T<sub>8</sub>). TNA ist gegenüber hydrolytischem Zerfall vergleichbar stabil wie DNA.<sup>[166]</sup> Bedingungen: 250 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,0 M NaCl, 100 mM HEPES, pH 8, 35 °C (RNA: U anstelle von T).

rungssystemen zukommt,<sup>[173,174]</sup> haben wir vergleichende Versuche über templatkontrollierte Ligationen von TNA-Liganden an TNA-, RNA- und DNA-Templaten angestellt (Abbildung 65).<sup>[175,176]</sup> Dabei wurde auch von der im Vergleich zu Adenin höheren Paarungseffizienz des 2,6-Diami-



LIGANDEN		TEMPLATE			
TNA-2'-OPO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HO-NH <sub>2</sub> -3'-TNA	TNA (A,T)	TNA (D,T)	RNA (A,U)	DNA (A,T)
(A,T)	HO-	4h 19%	14%	30%	4h -
(D,T)	HO-	1h 57% 4h >95%	51% 5h >95%	53% 4h >95%	4h -
(A,T)	H <sub>2</sub> N-	10 min. 59% 30 min. 97%	52% 33 min. 95%	43% 50 min. 95%	10min. 2% 4h 37%
(D,T)	H <sub>2</sub> N-	10 min. 94% 13 min. >95%	80% 20 min. >95%	60% 45 min. >95%	10min. 11% 5 h >95%

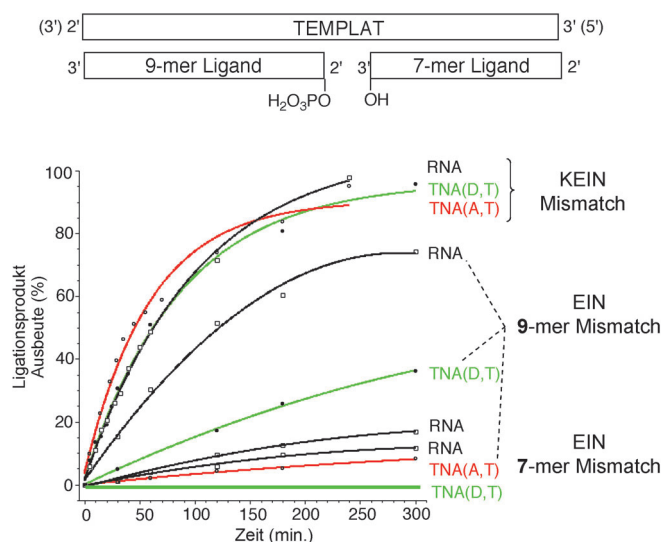
**Abbildung 65.** Übersicht auf Ergebnisse von Ligationsexperimenten in der TNA-Reihe (D = 2,6-Diaminopurin).<sup>[175]</sup>

nopurins<sup>[177,135]</sup> sowie der im Vergleich zur Hydroxygruppe höheren Nukleophilie der Aminogruppe bei solchen Ligationsexperimenten<sup>[178,179]</sup> Gebrauch gemacht.

Die Ligationsexperimente der Abbildung 65 (EDC = wasserlösliches Carbodiimid) offenbaren eine drastische Beschleunigung der Ligation bei Ersatz von Adenin durch 2,6-Diaminopurin in den beiden TNA-Liganden mit sowohl dem TNA- als auch dem RNA-Templat; nur mit dem unter den gewählten Reaktionsbedingungen „toten“ DNA-Templat bleibt der Ersatz ohne Wirkung. Die Effizienz der Ligationen erreicht hohe Werte bei Ersatz der Hydroxygruppe am 3'-Ende des (als Nukleophil agierenden) TNA-Liganden durch eine Aminogruppe; in geradezu extremem Ausmaß ist dies dann der Fall, wenn dabei in den beiden TNA-Liganden gleichzeitig auch Adenin durch 2,6-Diaminopurin ersetzt ist.<sup>[175]</sup> Ohne diese beschleunigenden Maßnahmen ist die Ligation der TNA-Liganden durch sowohl ein TNA- als auch ein RNA-Templat eine langsame Reaktion, zumindest wenn Ligand- und Templat-Sequenzen nur Adenin- und Thymin- (bzw. Uracil)-Basen aufweisen. Der Versuch, den umgekehrten Weg der Informationsübertragung zu gehen, nämlich die durch das TNA-Templat zu vermittelnde Ligation zweier entsprechender RNA-Liganden unter sonst gleichen Bedingungen zu erreichen, schlug fehl. Dies ist in der Perspektive des Befundes zu sehen, wonach die Ligation von zwei entsprechenden RNA-Sequenzen unter sonst gleichen Bedingungen, jedoch mit dem RNA-Templat, gleichfalls misslingt; auch die chemische Ligation von RNA-Sequenzen an DNA-Templaten ist als ineffizient bekannt.<sup>[180]</sup> RNA ist für die Ligation von TNA-Sequenzen ein eher effizienteres Templat als TNA selbst. Dies geht auch aus Experimenten hervor, welche den Einfluss von Mismatches in den beiden Liganden auf die Sequenzspezifität der Ligation zeigen (Abbildung 66).<sup>[175]</sup>

In Arbeiten insbesondere der Forschungsgruppe von Jack Szostak,<sup>[181–183]</sup> aber auch jener von Piet Herdewijn,<sup>[184]</sup> ist gezeigt worden, dass TNA-Sequenzen auch als Substrate enzymatischer Katalyse agieren können. Mittels ausgewählter (toleranter) Polymerasen konnte sowohl die Möglichkeit einer enzymatischen Translation von DNA-Sequenzen in komplementäre TNA-Sequenzen<sup>[181]</sup> als auch umgekehrt von TNA- in komplementäre DNA-Sequenzen<sup>[182]</sup> nachgewiesen werden; somit besteht zumindest grundsätzlich die Möglichkeit einer experimentellen In-vitro-Evolution zu katalytisch aktiven TNA-Sequenzen.<sup>[183]</sup> Dass Guanin- und Cytosin-haltige TNA-Sequenzen anscheinend im Unterschied zu nur Adenin- und Uracil-haltigen (vgl. oben) als Templat nicht-enzymatischer Transkription zu RNA-Sequenzen dienen können, ist von Christopher Switzer beobachtet worden.<sup>[185]</sup>

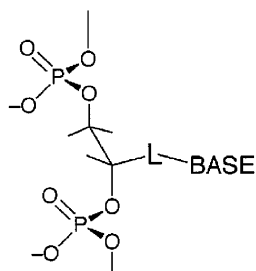
Durch ihre Eigenschaften hat die TNA nachdrücklich belegt, dass der Suche nach alternativen Watson-Crick-Systemen vom Strukturtyp der Oligonukleotide ein strukturell größerer Spielraum zur Verfügung steht als ursprünglich angenommen. Den an sich nächstliegenden Schritt auf dem Wege der strukturellen Vereinfachung von Nukleinsäure-Alternativen, d. h. den Schritt zu einem System mit Rückgrat-Bausteinen von nur noch drei Kohlenstoffen (Abbildung 67), haben wir zwar konzeptuell,<sup>[161]</sup> aber nicht mehr experimentell getan, weil die uns selbst auferlegte Forderung, wonach eine Alternativstruktur dann als eine „potentiell natürliche“



Template: TNA(A,T) (3'-OH)-TAATAATATAAATTTT-(2'-OH)  
 TNA(D,T) (3'-OH)-TDDTDDTDDTDDTTT-(2'-OH)  
 RNA(A,U) (5'-OH)-UAAUAAUAAUAAUUU-(3'-OH)

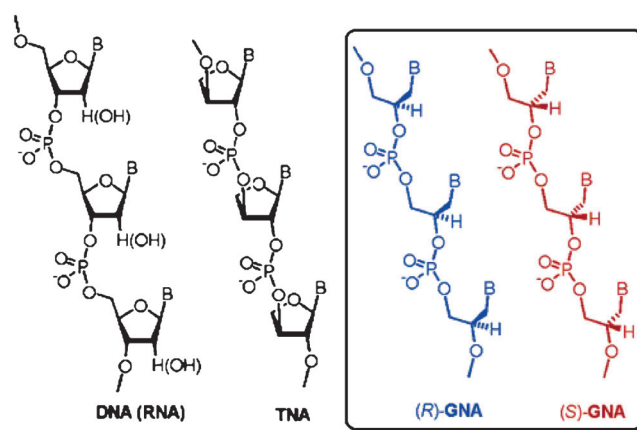
Liganden: L-9 (3'-OH)-DDDDTTTDT-(2'-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)  
 L-9(M) (3'-OH)-DDDITTTDT-(2'-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)  
 L-7 (3'-OH)-DTTDTTDT-(2'-OH)  
 L-7(M<sub>1</sub>) (3'-OH)-DTTITTTDT-(2'-OH)  
 L-7(M<sub>2</sub>) (3'-OH)-DTTDDTTDT-(2'-OH)

**Abbildung 66.** Übersicht auf den Einfluss von „Mismatch“-Basen auf templatkontrollierte Ligationen in der TNA-Reihe.<sup>[175]</sup>



**Abbildung 67.** Extrapolation des beobachteten Paarungsverhaltens der TNA auf hypothetisches Paarungsverhalten von TNA-analogen aliphatischen Oligonukleotid-Systemen.<sup>[161]</sup> L = Linker, z. B. CH<sub>2</sub>.

einzuordnen sei, wenn sie aus einer Chemie gleichen Typs wie die RNA hätte hervorgehen können, durch ein z.B. von Glycerin abgeleitetes System nicht erfüllt werden kann. Glücklicherweise hat Eric Meggers<sup>[186,187]</sup> mit anderer Zielsetzung den Schritt getan und dabei gezeigt, dass das von ihm „Glycol-NA“ („GNA“) (Abbildung 68) genannte Oligomer-System trotz acyclischer Konstitution der Rückgrateinheit ein hervorragendes Paarungssystem darstellt, und zudem eines, das mit natürlicher DNA exzellent zu kommunizieren vermag. Nach Peter Nielsens „PNA“<sup>[188–191]</sup> wurde Meggers „GNA“ zu einem weiteren Repräsentanten von Watson-Crick-Paarungssystemen, die ohne cyclische Strukturelemente im Rückgrat auskommen und trotzdem zu effizienter Paarung mit sich selbst und mit natürlichen Systemen fähig sind. Beide haben unser Verständnis der strukturellen Voraussetzungen der Watson-Crick-Basenpaarung entscheidend bereichert.<sup>[192]</sup>



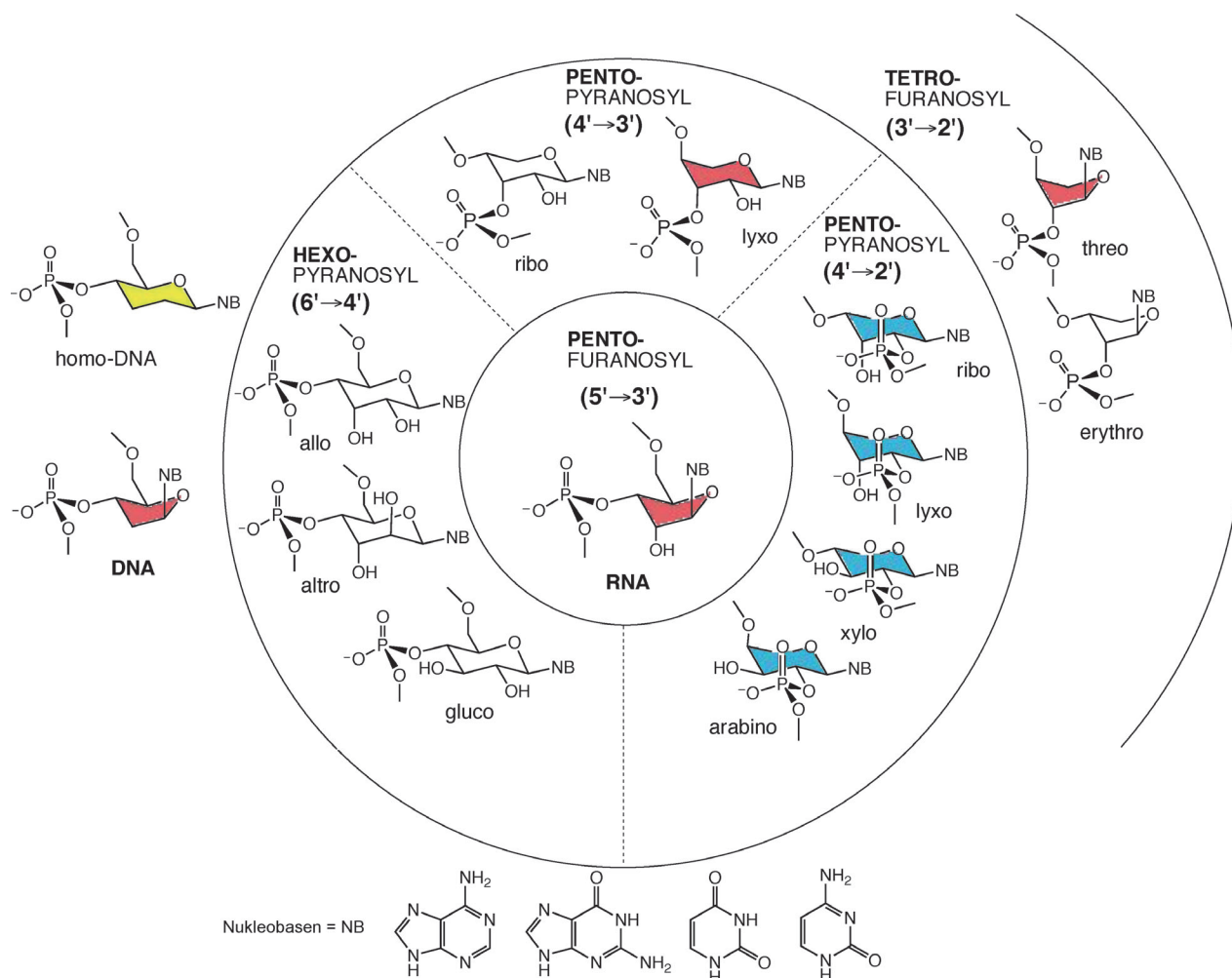
**Abbildung 68.** Erich Meggers erste Beschreibung einer „Glycol-NA“ (GNA), eines nicht-cyclischen „C<sub>3</sub>-Analogons“ der TNA, das zu Paarung mit sich selbst und zu Kreuzpaarung mit DNA und RNA befähigt ist.<sup>[186]</sup>

PNA und GNA interessieren als molekulare Instrumente der informationellen Chemie und Biologie unabhängig von der Frage nach ihrer Relevanz für die Ätiologie der RNA. Sowohl für die PNA als auch für die GNA wurde indessen von ihren Entdeckern die Auffassung geäußert,<sup>[187,189,190]</sup> dass sich solche Oligomere unter präbiotischen Bedingungen bilden können und in der Lage gewesen sein könnten, als genetische Systeme primordialen Lebens zu agieren. Vorschläge solcher Art berühren den Kern der Problematik der Ätiologie der natürlichen Nukleinsäuren und werden sich deshalb im Rahmen der hier geführten Diskussion analogen Beurteilungskriterien zu stellen haben, wie wir in der Einschätzung entsprechender Fragen z. B. im Zusammenhang mit der TNA glauben anwenden zu müssen (vgl. unten).

Im nachstehenden Abschnitt soll vorab ein Fazit aus den oben beschriebenen, auf die Funktion ausgerichteten Arbeiten über Nukleinsäure-Alternativen gezogen und dann umfassender die Frage nach der Herkunft und Stellung der RNA im Geschehen der Biogenese erörtert werden. In diesem Zusammenhang und auch im Hinblick auf die eben erwähnten acyclischen Paarungssysteme stellt sich die Frage nach Vorläufern der RNA. Diese hatte uns seinerzeit zu einer Thematik geführt, deren Zielsetzung weit über jene hinausgeht, welche unseren bisher erörterten Arbeiten zugrunde lag. Dabei gemachte Beobachtungen und Folgerungen bilden den Abschluss des Abschnitts über Nukleinsäuren.

#### 4.8. Warum RNA?

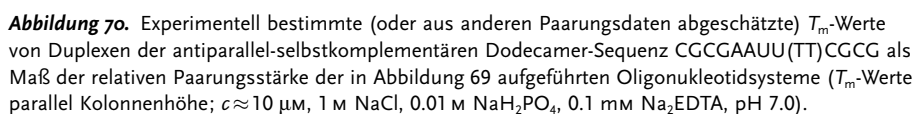
Ein Fazit aus dem Vergleich der Paarungseigenschaften potentiell natürlicher Nukleinsäure-Alternativen mit jenen der RNA zu ziehen, ist teils einfach, teils schwierig (Abbildung 69 und 70). Schwierig vor allem deshalb, weil wir nicht wissen, ob der Strukturtyp der RNA-Struktur biotischen oder abiotischen Ursprungs ist. Ist er biotisch, muss offen bleiben, in welcher Evolutionsphase und aufgrund welcher Kriterien die Selektion der Struktur erfolgte. Die Wahl könnte aufgrund solcher erfolgt sein, die sich auf die Emergenz und die



**Abbildung 69.** Überblick auf die experimentell untersuchten, mit Ausnahme des Modellsystems homo-DNA potentiell natürlichen Nukleinsäure-Alternativsystemen aus der strukturellen Nachbarschaft von RNA. Formeln der repetitiven Einheiten in idealisierten Konformationen. Farbige Watson-Crick-Paarungssysteme; farblos: keine Paarungssysteme; rot, blau und gelb: zueinander orthogonale „Paarungssprachen“.

Effizienz phänotypischer Funktionen eines Genotyps beziehen, eine Möglichkeit, welche auf chemischer Ebene zu kommentieren beim heutigen Wissensstand kaum möglich ist. Einfach hingegen ist das experimentell Offengelegte; hieraus ließ sich Folgendes schließen:

1. Die Fähigkeit zu informationeller Watson-Crick-Basenpaarung ist nicht eine exklusive Eigenschaft der natürlichen Doppelhelix-Struktur; im Gegenteil, diese Fähigkeit ist in Oligomerstrukturen aus Bausteinen der unmittelbaren strukturellen Nachbarschaft der Ribose weit verbreitet (Abbildung 69 und 70).
2. Der Watson-Crick-Paarungsmodus vermag informationelle Kommunikation zwischen komplementären Basensequenzen in verschiedenen, zueinander orthogonalen „Sprachen“ zu vermitteln (Abbildung 69, 70). An „sprachbestimmenden“ strukturellen Faktoren sind neben intrinsischer Rückgrat-Flexibilität der Oligomersysteme am wichtigsten Stärke und Orientierung der Neigung zwischen Rückgrat- und Basenpaar-„Achsen“ (Abbildung 42, 46, 55).
3. RNA-analoge Oligomeren der Hexose-Reihe – zumindest die aus Allo-, Altro- und Glucopyranose abgeleiteten – konnten keine Konkurrenten der RNA bei der natürlichen Selektion eines genetischen Systems sein, denn hierzu fehlt diesen Oligomersystemen die Fähigkeit zur informationellen Basenpaarung als entscheidende Voraussetzung (Abbildung 30., 31, 36).
4. Die Natur hat den Strukturtyp ihres genetischen Systems nicht nach dem Kriterium der Maximierung der Paarungsstärke ausgewählt, ansonsten hätte sie z.B. einen Vertreter aus der Familie der Pentopyranose-Nukleinsäuren wählen müssen (Abbildung 54 und 57).
5. Die Paarungskonformation, die die RNA in Duplexen einnimmt, ist ihr nicht einfach durch die strukturellen Anforderungen der Watson-Crick-Paarung auferlegt; dieser spezielle Konformationstyp gehört zum Ensemble der sterisch am wenigsten gespannten Konformationen des RNA-Einzelstrangs. Insofern ist der RNA-Einzelstrang auf die Struktur hin, die er in Duplexen einnimmt, präorgansiert (Abbildung 23–25).



Die nachstehende Argumentation soll nochmals verdeutlichen, dass der Versuch einer Rationalisierung der RNA-Struktur auf chemischer Ebene eine Vergleichsper-

Von den Eigenschaften der p-RNA, welche im Falle einer Selektion der Furanose-Form der RNA aufgrund funktioneller Kriterien zum Nachsehen der Pyranose-Form beigetragen haben könnten, ist die im Vergleich zur RNA durchgehend höhere Stabilität von Duplexen die vielleicht wichtigste. Ein Übermaß an Duplexstabilität müsste eine im Vergleich zur RNA geringere Bereitschaft der p-RNA bedingen, den Ansprüchen informationeller Paarung zu genügen; die Daten der Selbstpaarung nicht-selbstkomplementärer Sequenzen in Abbildung 57 können als Hinweis darauf

Da diese beiden Systeme sich aus den gleichen Bausteinen zusammensetzen, entfällt bei dieser

gelten. Ein solches Übermaß würde diametral der höheren Paarungselektivität entgegenwirken, welche man aufgrund anderer Verhaltensmuster der p-RNA von dieser an sich erwartete; diese anderen Verhaltensmuster sind der Ausschluss von Purin-Purin-Paarung im reverse-Hoogsteen-Modus oder der Ausschluss von paralleler Strangorientierung in Duplexen. Doch das wohl wichtigste Hemmnis, das mit einem Übermaß an Duplexstabilität in einem Paarungssystem einherginge, betrifft die Weitergabe genetischer Information durch Replikation der Informationsträger. Hierfür ist ein Optimum (und nicht ein Maximum) an Paarungsstärke kritisch. Suboptimale, d.h. im vorliegenden Fall potentiell zu hohe Paarungsstärke im intermediären Produkt-Duplex würde den Turnover einer Replikations-Autokatalyse hemmen, im Extremfall verunmöglichen. Ob gegebenenfalls eine molekularbiologische Evolution einer „p-RNA-Replikase“ mit einer gegenüber RNA deutlich höheren Paarungsstärke überhaupt zu Rande gekommen wäre, ist eine interessante, doch deshalb kaum zu beantwortende Frage, weil sich Erfolgchancen hypothetischer Evolutionsprozesse auf chemischer Ebene schwerlich beurteilen lassen.

Auch wenn, wie schon erwähnt, die p-RNA gewisse Eigenschaften aufweist, die sehr wohl zugunsten einer Eignung der p-RNA als genetisches System ins Feld geführt werden könnten – die im Gegensatz zur RNA korrekte Bildung der p-RNA-Struktur bei der nicht-enzymatischen Replikation über 2',3'-Cyclophosphate (vgl. Abbildung 46) ist hierfür ein weiteres Beispiel –, so scheinen doch jene Eigenschaften der RNA wichtiger, die der p-RNA fehlen. Hierzu gehört vor allem die höhere konformationelle Flexibilität der RNA (auch wenn dies experimentell im einzelnen unbelegt bleibt; vgl. Diskussion zu Abbildung 44). Von den insgesamt sechs Einfachbindungen der repetitiven Rückgrat-Einheit der RNA ist nur eine einzige Bindung Teil eines Ringes und als solche in ihrer Rotation eingeschränkt, gegenüber zwei von insgesamt ebenfalls sechs Bindungen in der p-RNA (vgl. Abbildung 38). Dieser Unterschied in der Rückgrat-Flexibilität mag für den Unterschied in der Paarungsstärke der beiden Systeme mitverantwortlich sein (vgl. oben), doch vor allem dürfte er auch eine im Vergleich zur p-RNA höhere konformationelle Diversität der RNA bedingen. Eine solche kann für die chemische Diversität des katalytischen Potentials eines informationellen Oligomersystems (vgl. unten) von entscheidender Bedeutung sein, entscheidend vor allem in einem Ursprungsszenario, in welchem die Festlegung auf RNA sich erst auf biotischer Ebene vollzog. Auf solcher Ebene konnte eine gegenüber Konkurrenten höhere Effizienz in der Hervorbringung katalytischer Funktionen, die auf die Synthese des Systems positiv rückzukoppeln imstande waren, ein alles bestimmender Selektionsfaktor darstellen. Ein Szenario dieses Typs erscheint heute keineswegs aus der Luft gegriffen, entspricht es doch – unabhängig davon, ob RNA durch präbiotische oder biotische Prozesse erstmals entstand – der Idee von einer „RNA-Welt“, die unserer heutigen „RNA-DNA-Protein-Welt“ vorangegangen sei.<sup>[196]</sup>

#### 4.9. „RNA-Welt“

Die Ideen und Entdeckungen, die in den letzten Jahrzehnten zum Konzept der „RNA-Welt“ und dessen wissenschaftlicher Verankerung führten, sind ein bedeutender Teil unserer heutigen Vorstellungen über die Frühzeit des Lebens. Ausgelöst wurde die Diskussion um die „RNA-Welt“ durch die molekularbiologische Entdeckung der Ribozyme,<sup>[197]</sup> wonach in heutigen Organismen nicht nur Proteine (Enzyme) katalytische Funktionen erfüllen, sondern auch gewisse natürlich vorkommende Vertreter des Strukturtyps der RNA (Ribozyme). An sich hätte das „Dogma“ der Biologie, das nach der Auffassung von Biologen durch diese Entdeckung „gebrochen“ wurde, weder aus chemischer, noch molekularbiologischer Sicht ein solches sein müssen, war doch bereits in den 60er Jahren des vergangenen Jahrhunderts von Pionieren der Molekularbiologie die Idee ausgesprochen worden, dass RNA-Moleküle in der kritischen Anfangsphase des Lebens nicht nur genotypische, sondern auch phänotypische Funktionen erfüllt haben könnten.<sup>[198]</sup> Diese Vorstellung war als mögliche Lösung eines konzeptuellen Dilemmas gedacht: Der um jene Zeit erkannte Kernprozess biologischen Geschehens, die codierte Translation der konstitutionellen Vielfalt eines Molekültyps (der RNA als Genotyp) in die entsprechende Vielfalt eines völlig anders konstituierten Molekültyps (der Proteine als Phänotyp), sei ein chemisch und biologisch derart komplexer Vorgang, dass er unmöglich Teil des Beginn des Lebens gewesen sein könne. Aus chemischer Sicht entspricht der Kern der Idee von einer sowohl genetisch als auch phänetisch agierenden RNA der einfachsten möglichen Lösung des Codierungsproblems: *Die Konstitution einer RNA-Sequenz „codiert“ deren Konformation.* Damit erzeugt die konstitutionelle Vielfalt der RNA deren konformationelle Vielfalt und somit die chemische Vielfalt ihres katalytischen Potentials. Man könnte diese Art der Codierung eine „physikalische“ nennen, im Gegensatz zur „chemischen“, wie sie sich uns im komplexen molekularen Geschehen eines agierenden Ribosoms darbietet. Es bedurfte der Entdeckung der tatsächlichen Existenz von Ribozymen, um den ursprünglich aus ätiologischer Fragestellung hervorgegangenen kühnen Ideen eines Carl Woese, Francis Crick und Leslie Orgel<sup>[198]</sup> aus dem Jahren 1967/68 schlussendlich zum Durchbruch zu verhelfen.<sup>[199]</sup>

Angesichts des Status, den die Idee von der „RNA-Welt“ in unseren heutigen Vorstellungen über die Ätiologie des Lebens genießt, ist die Frage nach ihrer experimentellen Verankerung wichtig. Der wohl wichtigste Stützpfeiler ist die eigentliche Offenbarung „einer“ Röntgenstrukturanalyse: *Das Ribosom ist ein Ribozym.*<sup>[200]</sup> Ein anderer Pfeiler funktioneller Natur ist das Ergebnis einer systematischen Forschung über In-vitro-Evolution von RNA: die Entdeckung paarweise sich nachhaltig selbstreplizierender Ligase-Ribozyme.<sup>[201]</sup> Zu diesen beiden Eckfakten kommen eine beträchtliche und stetig wachsende Zahl experimenteller Ergebnisse, die auf dem Wege der In-vitro-Evolution von RNA gewonnen wurden und die Fähigkeit der RNA bezeugen, organisch-chemische Reaktionen unterschiedlichsten Typs (Aldolisierungen, Amidbildungen usw.) in vitro katalysieren zu können.<sup>[201–205]</sup> Dass eine primordiale RNA wenigstens

grundsätzlich nebst genetischen auch phenetische Funktionen hätte ausüben können, ist aus chemischer Sicht aufgrund solcher Erfahrungen nicht mehr zu bezweifeln. Gefordert ist indessen nach wie vor ein experimentell begründetes Szenario der Entstehung und des Agierens einer solcherart funktionellen RNA und vor allem auch eine überzeugende Vorstellung von ihrer strukturellen und funktionellen Einbettung in ein unter ihrer „Leitung“ evolvierendes chemisches System.

#### 4.10. Prä-RNA-Welt(en)?

Die Möglichkeit, wonach „Leben“ nicht de novo in dem uns heute vertrauten chemischen Habitus entstand, sondern aus einem chemisch andersartig konstituierten „Leben“ hervorging, ist grundsätzlich nicht von der Hand zu weisen. Der wohl extremste und von seinem Autor nicht als Science Fiction gedachte Vorschlag solcher Art ist Cairns-Smiths in der Literatur beharrlich fortlebendes Szenario eines rein anorganischen, mineralischen „Lebens“, das sich schlussendlich durch einen Prozess, in welchem ein vom Autor als „genetic takeover“ benannter Vorgang eine entscheidende Rolle spielte, in unser „organisches“ Leben transformiert haben soll.<sup>[206]</sup> Der wichtigen Begriffsbildung „genetic takeover“ liegt eine Vorstellung zugrunde, die unabhängig vom ursprünglichen Zusammenhang auch für die Diskussion näherliegender Denkmöglichkeiten Bedeutung hat. Dies gilt vor allem für die Möglichkeit,<sup>[207,208]</sup> dass die RNA ein oder mehrere Vorläufer hatte, die strukturell und generativ zwar einfacher, aber dennoch fähig waren, als genetische Systeme zu agieren; in anderen Worten, der RNA-Welt wären „Prä-RNA-Welten“ vorangegangen, die durch Entwicklungen vom Typus eines „genetic takeover“ miteinander verbunden waren.

Ein Szenario für eine solche „Übernahme“ ist nicht unbedingt unvorstellbar: Innerhalb des chemischen Einflussbereichs eines evolvierenden genetischen Systems, dessen stofflicher Bestand und Katalysepotential sich sukzessive diversifizieren, hätte eine Oligomervariante hervorzugehen, die gleichfalls zu informationeller Replikation fähig ist. Die Variante hätte vorab das katalytische Instrumentarium des Gesamtsystems zu ergänzen,<sup>[209]</sup> seinen eigenen Einflussbereich auszuweiten und sich schließlich kraft höherer Effizienz als dominantes genetisches System durchzusetzen. Ein solches Bild ist wenigstens dann einigermaßen durchschaubar, wenn es konstitutionelle Identität von Genotyp und Phänotyp impliziert, wie es die Idee von der RNA-Welt u. a. vorsieht. Entweder würden überlappende genetische Systeme durch Kreuzpaarung miteinander kommunizieren, wodurch ein Vorgängersystem befähigt wäre, die Bildung des Nachfolgesystems auf direktem Wege zu katalysieren, oder dies wäre nicht der Fall, und die für die Bildung des Nachfolgesystems erforderliche Katalyse müsste auf dem Umweg phänotypischer Katalyse durch das Vorläufersystems erfolgen. Direktübertragung von Sequenzinformation würde zwar einen „genetic takeover“ erleichtern, doch wäre solche „genetische Kontinuität“ nur eine scheinbare, denn grundsätzlich müsste der strukturelle Unterschied der beiden genetischen Systeme

zur Folge haben, dass Direktübertragung der konstitutionellen Information des Genotyps nicht gleichzeitig auch dessen „Code“ für den Phänotyp übertrüge, denn dieser Code wäre spezifisch für die jeweilige molekulare Rückgratstruktur des Genotyps. Das Nachfolgesystem müsste, ungeachtet seiner direkten Kommunikation mit dem Vorläufersystem, seinen Phänotyp de novo evollieren.<sup>[174,210]</sup>

Der erste explizite Vorschlag einer „prä-RNA-Welt“ kam seinerzeit von Pionieren der klassischen präbiotischen Chemie<sup>[207]</sup> und entsprang wohl hauptsächlich aus experimentellen Erfahrungen der Orgel'schen Schule zur Bildung von Ribonukleotiden aus ihren Bausteinen<sup>[211,212]</sup> und der Oligomerisation von Monomeren zu Oligonukleotiden.<sup>[213]</sup> Auch spätere Arbeiten über die Replikation von Oligoribonukleotiden<sup>[214,215]</sup> sowie Untersuchungen zur Stabilität von Bausteinen und Zwischenprodukten<sup>[62,216,217]</sup> entsprachen diesem Vorschlag. Dass jedoch aus solchen Erfahrungen auch gegensätzliche Schlussfolgerungen gezogen werden können, zeigen u. a. Publikationen von Jim Ferris<sup>[218,219]</sup> über die Bildung von Oligoribonukleotiden an Montmorillonit-Festphasen ausgehend von aktivierten Mononukleotiden: Die Ergebnisse dieser Arbeiten werden durch ihren Autor unbeirrt als experimentelle Stütze der Vorstellung eines präbiotischen Ursprungs der RNA-Struktur eingeschätzt.<sup>[219]</sup> In neuerer Zeit hat John Sutherland die Frage nach dem präbiotischen Ursprung der RNA im Sinne eines Imperativs für die synthetische organische Chemie aufgegriffen: Diese sei herausgefordert, experimentell aufzuzeigen, dass und wie der Strukturtyp der RNA unter präbiotischen Bedingungen sich habe bilden können.<sup>[220]</sup> So hat denn auch neulich eine Arbeit aus dem Sutherland'schen Laboratorium<sup>[221]</sup> nicht nur unter „RNA-first“-Anhängern, sondern auch in der Sekundär- bis Populärliteratur Furore gemacht, weil experimentell gezeigt wurde, wie ein anscheinend einfacher, von ausgefahrenen Wegen abweichender und chemisch belangvoller Syntheseweg zum (aktivierten) Ribonukleotid-2,3-cyclophosphat des Cytosins führen kann, und all dies ausgehend von Materialien (Cyanamid, Cyanacetylen, Glycolaldehyd, Glycerinaldehyd und Phosphat), die allesamt aus der Sicht der präbiotischen Chemie Miller'scher Prägung als „präbiotische“ Moleküle gelten.

Beim heutigen Stand der Dinge müssen nach wie vor solche Ergebnisse der präbiotischen Chemie – so „überzeugend“ sie auch erscheinen mögen – bezüglich ihrer ätiologischen Relevanz u. a. anhand des Kriteriums „das Einfachere ist der Feind des Einfachen“ mitbeurteilt werden. Dies gilt sowohl für die Struktur primordialer Moleküle, denen eine biotische Funktion zugeordnet wird, als auch für Wege, die zu ihnen geführt haben sollen. Es stipuliert eine möglichst flächendeckende Suche nach Alternativen, die als Vergleichsobjekte bzw. Vergleichssynthesen in Frage kommen. So ist die Kenntnis eines möglichst breiten Vergleichssatzes von potentiell präbiotischen RNA-Synthesen für Anhänger des „RNA-first“-Postulats ebenso wichtig, wie für Befürworter einer prä-RNA-Welt die Aufdeckung und funktionelle Überprüfung von „sämtlichen“ aus präbiotischer Sicht in Frage kommenden RNA-Vorläufern. Die potentielle Vielfalt an Strukturen und Synthesewegen ist kaum je auf Anhieb absehbar; dies lehrt die Geschichte der organischen Chemie.

In der präbiotischen Chemie sind nach wie vor Stimmen der Zuversicht<sup>[219,221]</sup> ebenso kritisch wahr und ernst zu nehmen, wie Unkenrufe grundsätzlicher Kritik.<sup>[62,222]</sup>

Unseren Arbeiten über Nukleinsäure-Alternativen waren in chemischer Hinsicht auf eine Erkennung von Zusammenhängen zwischen Struktur und Funktion, in ätiologischer Hinsicht auf die Entdeckung von Kriterien für ein Verständnis der von der Natur getroffenen Wahl des Strukturtyps der natürlichen Nukleinsäuren ausgerichtet, aber nicht auf die Möglichkeit, unter alternativen Systemen aus der strukturellen Nachbarschaft der RNA solche zu finden, die das Potential zu einer im Vergleich zur RNA einfacheren Entstehungsweise – in welchem Umfeld auch immer – gehabt haben könnten. Für jede der zur Bearbeitung gelangten Alternativstrukturen galt die Forderung, dass sie eine mögliche Produkt-Alternative jener (hypothetischen) chemischen Prozesse sein sollte, welche die RNA hervorgebracht hätten. Unter allen von uns untersuchten Alternativsystemen hat die TNA bei Biologen am meisten Beachtung gefunden, weitaus mehr als z.B. die sowohl aus chemischer wie auch ätiologischer Sicht lehrreichere p-RNA. Dies hat damit zu tun, dass die TNA im Gegensatz zur p-RNA mit den natürlichen Nukleinsäuren informationell zu kommunizieren vermag, aber auch weil ihr Phosphodiester-Rückgrat aus einem „einfacheren“ Zuckerbaustein aufgebaut ist als das Rückgrat der RNA. So wurde denn auch die Frage aufgeworfen, ob die „einfachere Nukleinsäure TNA“ ein Vorläufer der RNA hätte sein können.<sup>[172]</sup> Damit war unser Projekt über Nukleinsäure-Alternativen schlussendlich dort angelangt, wohin vorerst *nicht* zu gelangen unsere ursprüngliche Absicht gewesen war, nämlich sich mit der Frage nach der Bildung alternativer Systeme unter primordialen Bedingungen befassen zu müssen.

Die höhere generative Einfachheit der TNA- gegenüber der RNA-Struktur dürfte letztlich trügerisch sein, ebenso die Chance der TNA, als Vorläufer der RNA in Frage zu kommen. Zwar ist ihr Zuckerbaustein einfacher in dem Sinne, dass seine Entstehung nur einen einzigen (unmittelbaren) Zwei-Kohlenstoff-Vorläufer (Glycolaldehyd) benötigt, während die Konstituierung der Ribose (im einfachsten Fall) zusätzlich eine C<sub>1</sub>-Komponente erfordert, doch weisen alle neueren Untersuchungen über die Bildung der Ribose unter (modifizierten) Bedingungen der Formose-Reaktion (vgl. oben) darauf hin, dass ihre Zugänglichkeit derjenigen der Threose keineswegs hintansteht.<sup>[60,67,68]</sup> Zudem gibt es keinerlei Gründe für die Annahme, dass auf dem Wege von der Threose zur TNA irgendeine der Reaktionsstufen – auch nicht die notorische Stufe der Nukleotidierung – einfacher wäre als die entsprechende Reaktionsstufe von der Ribose zur RNA, eher im Gegenteil.

Könnten die in letzter Zeit wieder akut gewordenen,<sup>[187,223,224]</sup> von einem C<sub>3</sub>-Zucker abgeleiteten und somit im Vergleich zur TNA formal noch einfacheren Paarungssysteme Kandidaten für eine Prä-RNA Welt sein? Die Auffassung, wonach die formale Einfachheit von C<sub>3</sub>-Zuckern abgeleiteter Paarungssysteme einer im Vergleich zur RNA entsprechend einfacheren Bildungsmöglichkeit unter primordialen Bedingungen entspreche, könnte noch trügerischer sein als die entsprechende Annahme für die TNA. So ist bei der GNA die

Verknüpfung der Nukleobase mit einer nicht nur reduzierten, sondern auch noch für eine Reaktion des S<sub>N</sub>2-Typs aktivierten C<sub>3</sub>-Zuckereinheit synthetisch-chemisch zwar einfach, jedoch aus der Sicht der bisherigen präbiotischen Chemie noch problematischer als die notorische Nukleotidierungsstufe bei der RNA und TNA.<sup>[225–227]</sup> Zudem lehrt uns die Konstitution der RNA durch die *trans*-Anordnung der beiden Phosphodiester-Brückenpfeiler an den Furanose-Ringen eine wichtige Lektion: Diese *trans*-Anordnung verhindert, dass bei einer schutzgruppenfreien, nicht-enzymatischen Oligokondensation aktivierte Monoribonukleotide sich durch intramolekulare Cyclisierung deaktivieren und sich dadurch der templatkontrollierten intermolekularen Kondensation entziehen; bei entsprechender *cis*-Anordnung der beiden Pfeiler – vgl. die Xylofuranose-NA<sup>[156]</sup> – wäre dies zweifellos der Fall.<sup>[227]</sup> Aktivierten Monomeren *acyclischer* Oligomersysteme fehlt ein entsprechender Schutz vor Selbst-Deaktivierung durch Cyclisierung.

Letztlich krankt die derzeitige Diskussion über die Möglichkeit eines präbiotischen Ursprungs der RNA daran, dass nach wie vor offen bleibt, nach welchem Typus von Ursprungsszenario die hierfür relevanten chemischen Prozesse zu beurteilen sind: nach dem Modell einer heterotrophen oder einer autotrophen Biogenese, eines abiotischen oder biotischen Ursprungs der RNA (vgl. unten)? Schon die als verfügbar zu betrachtenden Ausgangsprodukte würden ganz unterschiedlich sein; so wäre für eine Erstkonstituierung der RNA in einem heterotrophen Szenario ein hochreaktives Molekül wie Cyanacetylen<sup>[221]</sup> wohl zuzulassen, aber kaum für ein Szenario des autotrophen Typs, und für eine biotische Erstkonstituierung der RNA schon gar nicht. Dennoch ist jedes Projekt experimenteller Forschung, das sich die Demonstration einer „präbiotischen“ Bildungsweise der RNA oder eines potentiellen Vorläufers als Ziel setzt, ein Beitrag zum Projekt der Erstellung einer Datei experimenteller Fakten, deren Kenntnis für einen entscheidenden Fortschritt in der Suche nach der Chemie der Entstehung des Lebens eine der Voraussetzungen sein wird. Es ist dies der Grund, warum die Sutherland'sche „präbiotische“ Synthese von aktivierten Ribonukleotiden<sup>[221]</sup> wichtig ist, letztlich unabhängig von der Frage nach der „Halbwertszeit“ ihrer ätiologischen Relevanz. Kritischen Fragen dieser Art nachzugehen ist nicht zuletzt deshalb wichtig, weil allzu optimistische Antworten auf diesem Gebiet sowohl in der wissenschaftlichen als auch nicht-wissenschaftlichen Öffentlichkeit Illusionen über den Stand unseres Wissens über die Entstehung des Lebens aufkommen lassen.

#### 4.11. Vermessung der Landschaft potentiell primordialer, informationeller Oligomersysteme

Wie schon angedeutet, reicht die strukturelle Palette der Watson-Crick-Systeme weit über den Strukturtyp der oligomeren Phosphodiester hinaus; dies haben vor allem Untersuchungen gezeigt, die im Laufe der letzten beiden Jahrzehnte in medizinischchemisch orientierten Laboratorien im Hinblick auf die medizinischen Perspektiven des Antisense-Konzepts<sup>[228]</sup> durchgeführt wurden.<sup>[104,107,113,189]</sup> Entscheidend

war die Entdeckung der Eigenschaften der bereits erwähnten „PNA“ durch Peter Nielsen.<sup>[188]</sup> Über eine möglichst umfassende Übersicht auf die Strukturtypen informationeller Oligomersysteme zu verfügen, wäre aus medizinisch-chemischen, rein chemischen und schließlich vor allem auch ätiologischen Beweggründen wünschenswert. Im Hinblick auf die Ätiologie des Strukturtyps der RNA müsste davon nur eine Teilmenge interessieren, nämlich solche Systeme, die aufgrund problemgerechter Kriterien für die Einstufung als potentiell primordiale Informationssysteme in Frage kämen. In einer Suche nach solchen Kandidaten wäre im Gegensatz zu den bisherigen Arbeiten zur Ätiologie der RNA *jegliche Struktur sowohl des Rückgrats als auch der Erkennungselemente* zuzulassen, solange von Kandidaten angenommen werden kann, dass sie sich unter präbiotischen Bedingungen hätten bilden können. Ungeachtet der notorischen Problematik der Frage nach der Präbiotizität von Strukturen, Reaktionen und Bedingungen wird man um den Versuch einer Kartierung einer solchen Landschaft von potentiell primordialen informationellen Oligomersystemen nicht herum kommen, will man die Vorstellung von einer der RNA-Welt vorangegangenen Prä-RNA-Welt und damit letztlich auch der Frage nach dem Ursprung der RNA experimentell wirklich umfassend angehen.

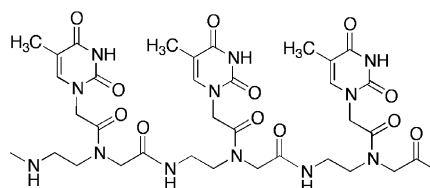
Konnte die Vergleichsperspektive unserer bisherigen Arbeiten auf die *Funktion* ausgerichtet sein, so stand im Projekt der Kartierung der Landschaft potentiell primordialer Informationssysteme die *Formation* von solchen im Vordergrund. Dies mit all den zusätzlichen Ungewissheiten, die ein Abrücken vom einfacheren Fragen nach der Funktion zur Folge hat. Noch vielmehr als dort braucht es auch hier Auswahlkriterien, welche aus einer Vielzahl von Möglichkeiten die Erkennung meistversprechender, experimentell zu verfolgender Richtungen erleichtern. Es geht hier um eine breit angelegte Suche nach einer Chemie, die unter präbiotischen Bedingungen auf einfachsten Wegen strukturell einfachste informationelle Systeme hätte hervorbringen können. Im allerbesten Fall entsprächen solche Systeme in ihren Eigenschaften dem, was man den „einfachsten gemeinsamen Nenner“ der Vorstellungen von „Genitizisten“ und „Metabolisten“ zur Biogenese nennen könnte (vgl. unten). Dem naheliegenden Einwand, dass wir nicht eigentlich wissen, was letztlich als „präbiotisch“ gelten darf und was nicht, ist im Grunde nichts entgegenzuhalten, es sei denn die Hoffnung auf die rückkoppelnde Wirkung zunehmender experimenteller Erfahrung auf das Ausmaß dieses Unvermögens, einer Erfahrung eben, die sich nur daraus ergeben kann, dass man den besagten Einwand vorderhand ignoriert.

Der kürzlich in den „Nachrichten aus der Chemie“ posthum gewürdigte, legendäre Chemiker Siegfried Hoffmann<sup>[229]</sup> veröffentlichte 1979 einen bemerkenswerten, mit „Nukleinsäuremodelle“ betitelten Essay,<sup>[230]</sup> in welchem er eine umfassende Übersicht gibt über ältere Arbeiten, die aus heutiger, wenn auch nur rein chemischer Perspektive als Vorläuferprojekte des hier gemeinten Projekts erscheinen. Es waren dies vorwiegend in polymerchemischen Laboratorien durchgeführte Versuche, durch Verknüpfung von Nukleobasen mit verschiedensten Rückgrattypen der damaligen Polymerchemie eine Simulation der intermolekularen Kommunikation

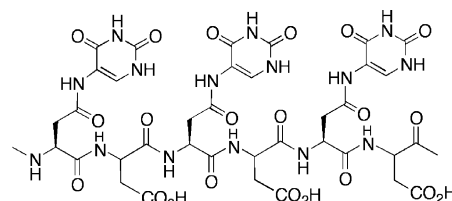
der DNA zu erzielen.<sup>[231,232]</sup> In seinem Essay hat Hoffmann der Summa dieser Versuche eine „evolutionären“ Bezug unterlegt, an den im vorliegenden Zusammenhang sich zu erinnern es sich gehört.<sup>[233]</sup>

Einige jener älteren Arbeiten waren Versuche, DNA-Paarung durch Ersatz des Phosphodiester-Rückgrats durch oligo-amidische Rückgrate zu simulieren.<sup>[232,234]</sup> Den wohl ersten Erfolg in dieser Richtung erzielte eine medizinisch motivierte Arbeit vor rund zwei Jahrzehnten durch Umbau der Ringstruktur der Ribofuranose der RNA in einen Morpholin-Ring.<sup>[235]</sup> Den Durchbruch für amidische Rückgrate brachte indessen die Nielsen'sche „Peptid“-Nukleinsäure PNA<sup>[188]</sup> (Abbildung 71), in deren Nachfolge in der

### PNA



### Nukleo-oligodipeptid



**Abbildung 71.** Strukturtyp der Nielsen'schen „PNA“ und Beispiel eines echt peptidischen bzw. dipeptidischen Nukleo-Oligomers mit 5-Aminouracil als alternative Nukleobase.

Antisense-Literatur zahlreiche Paarungssysteme mit PNA-ähnlichen Rückgraten beschrieben wurden.<sup>[189,236,237]</sup> Auch Nukleo-Oligomeren mit echt oligopeptidischer Rückgratstruktur sind untersucht worden,<sup>[238,239]</sup> worunter aus ätiologischer Sicht besonders von Ulf Diederichsen<sup>[240]</sup> beschriebene, alternierend aus L- und D-Nukleo-Aminosäuren bestehende, heterochirale Nukleo-oligopeptide interessieren. Als Folge zu geringer konstitutioneller Distanz zwischen den Erkennungselementen zeigen diese keine Kreuzpaarung mit natürlichen Nukleinsäuren, jedoch starke Paarung unter sich selbst. Ähnliches gilt für ebenfalls von Diederichsen<sup>[241]</sup> beschriebene Nukleo- $\beta$ -Oligopeptide.

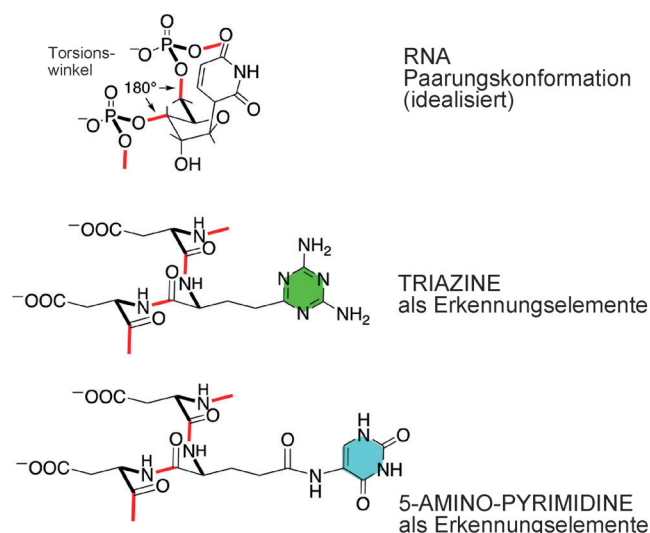
Stanley Miller hat eine seiner Veröffentlichungen mit „*Peptide Nucleic Acids Rather Than RNA May Have Been the First Genetic Molecule*“ betitelt und darin experimentelle Ergebnisse beschrieben, welche aus seiner Sicht die Präbiotizität der Nielsen'schen PNA plausibel machen (sollen).<sup>[242]</sup> Einmal mehr ist auch hier als Beurteilungskriterium der Vergleich mit Alternativen gefordert. Als Alternativen drängen sich Systeme auf, deren Rückgrat nicht eine Peptiden verwandte, sondern eine echt peptidische Konstitution aufweisen würden. Im Hinblick auf die Konstitution der Bau-

steine und Reaktionstypen, die für eine Entstehung von PNA im Vergleich zu Nukleo-oligodipeptiden beispielsweise des in Abbildung 71 (unten) formulierten Typs notwendig wären.<sup>[243]</sup> erscheint der peptidische Strukturtyp als der einfachere, dies ungeachtet der Tatsache, dass man sich in Anbetracht der Vielzahl von Möglichkeiten nach wie vor weder festlegen will noch kann, wie Oligopeptide unter präbiotischen Bedingungen entstanden sein sollen.<sup>[244]</sup> Die Bildung von Peptiden aus  $\alpha$ -Aminosäuren gehört indessen zu den wenigen chemischen Umwandlungen, deren Zugehörigkeit zur Palette präbiotischer Prozesse in keinem der derzeitigen biogenetischen Denkmodelle bezweifelt wird.

Zugunsten einer eingehenden Erkundung des Strukturtyps der Nukleo-oligodipeptide spricht deren verkappte strukturelle Entsprechung zum Strukturtyp der RNA, wie sie sich aus qualitativen konformationsanalytischen Betrachtungen ergibt.<sup>[245,246]</sup> Abbildung 72 illustriert diese Entsprechung sowie die konformationsanalytischen Kriterien, die die Paarungsfähigkeit von Nukleo-oligodipeptiden qualitativ vorauszusagen und zu deuten erlauben. Nach solchen Überlegungen sollten nicht nur Oligodipeptide, die konformationsgerecht mit Erkennungselementen bestückt sind, die Eigenschaft informationeller Basenpaarung aufweisen, sondern z. B. auch Oligomere mit teilweise oder ganz gesättigten Rückgraten, die repetitiv an den markierten Stellen elektronegative Zentren aufweisen.<sup>[247]</sup> Der Konstitutionstyp der PNA liegt „zwischen“ den beiden Varianten.

Die nachstehend zusammengefassten Arbeiten über Nukleo-oligodipeptide waren eines der letzten Projekte, die gemeinsam mit meinem jüngeren Kollegen Ramanarayanan Krishnamurthy in unserer Arbeitsgruppe am Scripps Institute in La Jolla durchgeführt wurden. Dass diese Untersuchungen experimentell zu den nachstehend dargestellten Ergebnissen führen konnten, ist nicht zuletzt in hohem Maße sein Verdienst.

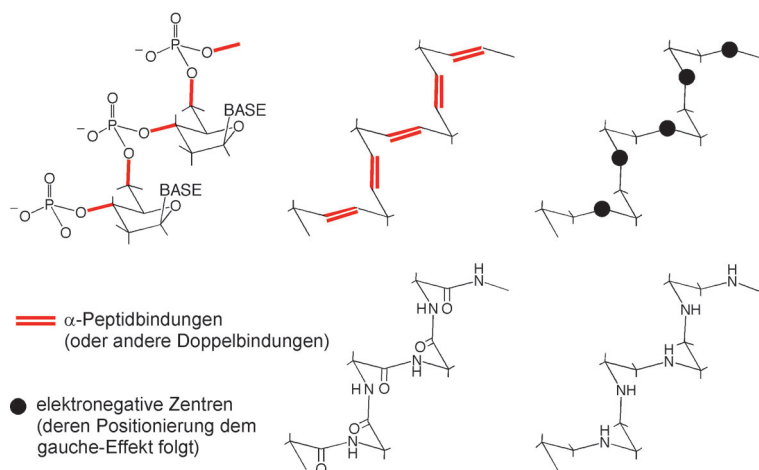
Abbildung 73 zeigt den Strukturtyp der hauptsächlich bearbeiteten Nukleo-oligodipeptide in ihrer hypothetischen



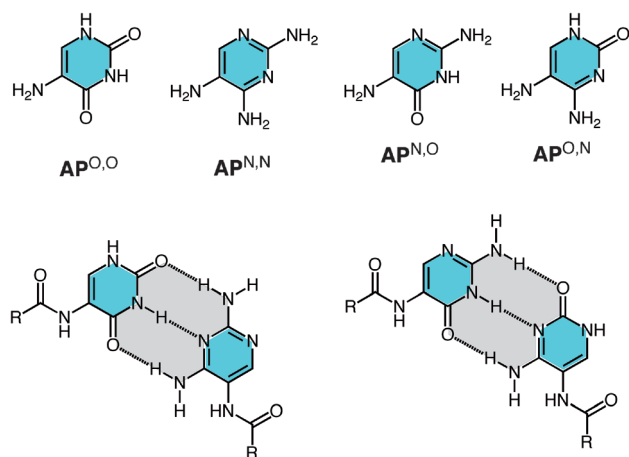
**Abbildung 73.** Nukleo-oligodipeptide mit L-Glutaminsäure-Einheiten als Träger alternativer Nukleobasen und L-Asparaginsäure-Einheiten als Abstandhalter.

(idealisierten) Paarungskonformation: Die in der Seitenkette mit einem Erkennungselement bestückte L-Glutaminsäure, peptidisch verknüpft mit L-Asparaginsäure, bildet die dipeptidische Monomer-Einheit, wobei die in Oligomeren frei bleibenden Carboxylfunktionen der Asparaginsäure-Einheiten die Löslichkeit der Oligomere in wässrigem Medium gewährleistet. Wir haben die Arbeiten über Nukleo-oligodipeptide mit der Frage nach potentiell präbiotischen, alternativen Nukleobasen kombiniert und uns in der Wahl der Erkennungselemente auf solche Basen beschränkt. Da der Einbau von sowohl alternativen als auch kanonischen Erkennungselementen in Oligodipeptid-Einheiten auf einfache Art erfolgen kann, entfällt mit diesen Systemen das für die präbiotische Chemie der natürlichen Nukleinsäuren notorische Nucleotidierungsproblem.<sup>[67,199,211,248]</sup> Vielfalt und

Leichtigkeit der Verknüpfung von Rückgrat und Erkennungselement ist eine der Richtlinien, entlang welcher die Erkundung der Landschaft potentiell primordialer Alternativen genetischer Systeme zu erfolgen hat. Sie umfasst die Suche nach sowohl alternativen Rückgraten als auch alternativen Erkennungselementen. Als solche haben wir anfänglich den aus einer Carboxylfunktion sich herleitenden *sym*-Triazinring in Form des 2,6-Diamino- bzw. 2,6-Dioxoderivats eingesetzt, uns in der Folge dann aber vor allem auf die in Abbildung 74 formulierten Derivate des 5-Aminopyrimidins konzentriert.<sup>[249]</sup> Diese Pyrimidinfamilie zeichnet sich dadurch aus, dass in allen vier Varianten die 5-ständige Aminogruppe selektiv acyclierbar ist, wodurch sich eine einfache und variationsträchtige Art der Verknüpfung zwischen Erkennungselement und einer Carboxylfunktion des Oligomer-Rückgrats ergibt. Solchen 5-Aminopyrimidinen ist präbiotische Verfügbarkeit ebenso – wenn nicht gar eher – zuzugestehen, als den kanonischen Pyrimidinen. Ein kürzlich publiziertes,

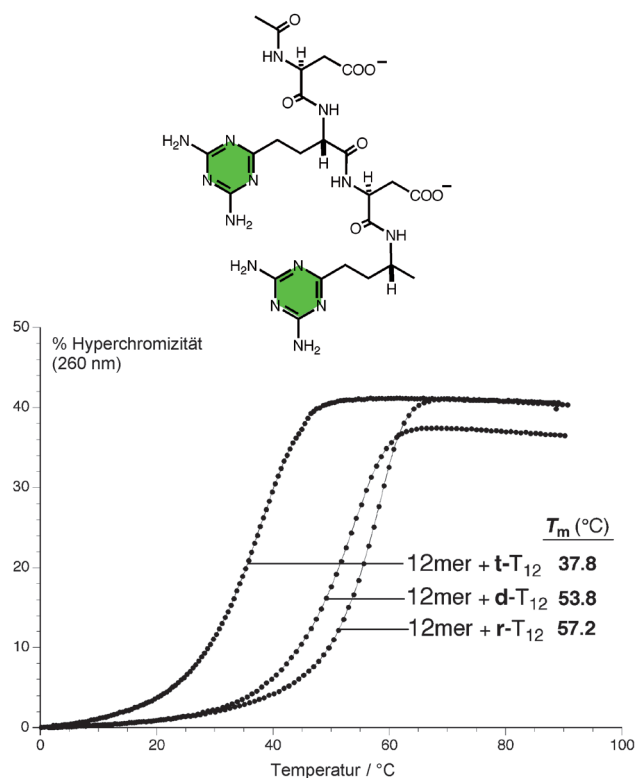


**Abbildung 72.** Extrapolation des (+g/-g)-Phosphodiester-Rückgrats (A-DNA) auf  $\alpha$ -Oligopeptid- oder (z. B.) Ethylenediamin-Rückgrate. Konformationelle Entsprechung der (idealisierten) Paarungskonformation von RNA mit einer solchen von Nukleo-Oligodipeptiden: Bindungen mit 180° Torsionswinkel in ersterer (rot) entsprechen peptidischen Bindungen in letzterer.<sup>[246,247]</sup>



**Abbildung 74.** Familie der 5-Amino-pyrimidine als alternative Nukleobasen/Erkennungselemente in Nukleo-oligodipeptiden.

im Miller'schen Umkreis durchgeführtes Langzeitexperiment der Umwandlung von Ammoniumcyanid in Nukleobasen<sup>[250]</sup> hat (nach Hydrolyse des Reaktionsguts) neben kanonischen Purinen mehr 5-Aminouracil erzeugt als Uracil, was durchaus der Erwartung aufgrund einer mechanistischen Analyse eines vom HCN-Tetrameren ausgehenden Reaktionsbaums entspricht.<sup>[251,252]</sup> Aus der Perspektive der Chemie von HCN ist

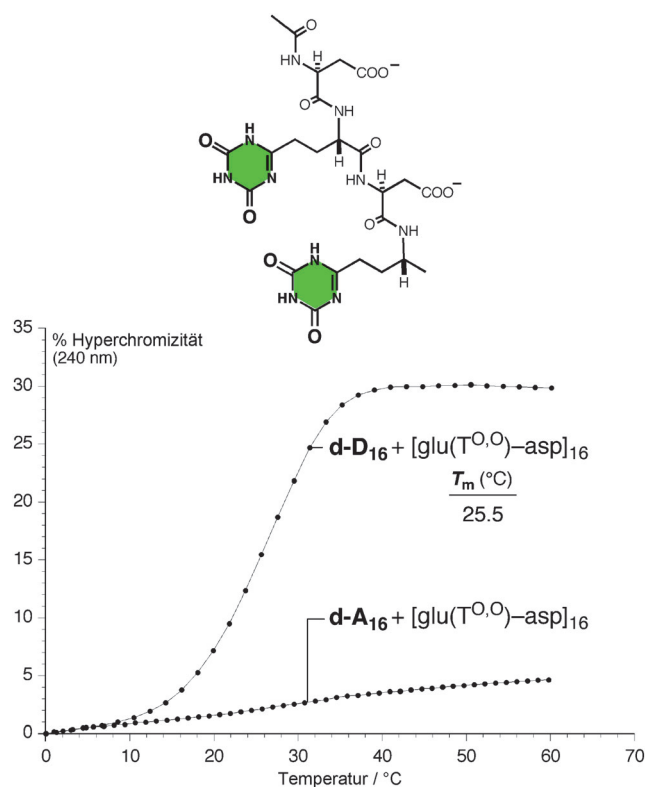


**Abbildung 75.** Starke Kreuzpaarungen von Nukleo-oligodipeptiden mit 2,4-Diaminotriazin als Erkennungselement (mit DNA, RNA und TNA in wässrigerem Medium).<sup>[253]</sup> Kreuzpaarung des Nukleo-peptid-Dodecamers  $[\text{glu}(\text{T}^{\text{N,N}})\text{-asp}]_{12}$  mit TNA ( $\text{t-T}_{12}$ ), DNA ( $\text{d-T}_{12}$ ) und RNA ( $\text{r-T}_{12}$ ) (UV/ $T_m$ -Kurven, ca.  $5+5 \mu\text{M}$  in  $1.0 \text{ M NaCl}$ ,  $10 \text{ mM NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $0.1 \text{ mM Na}_2\text{EDTA}$ , pH 7).

die Struktur des 5-Aminouracils generativ einfacher als jene des (strukturell einfacheren) Uracils.

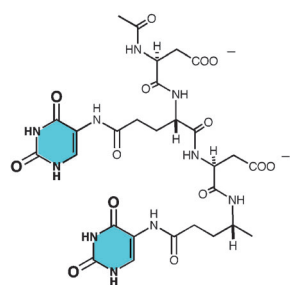
Von mehreren nukleo-oligodipeptidischen Systemen<sup>[253]</sup> hat das in Abbildung 73 formulierte, aus Oligomeren des Dipeptids  $\text{NH}_2\text{-L-Glu-L-Asp-COOH}$  sich ableitende am ehesten kohärentes Paarungsverhalten gezeigt. Die in Abbildung 75 wiedergegebenen Schmelzkurven vermitteln einen Eindruck von der starken Kreuzpaarung zwischen Oligo- $(\text{T}_n)$ s der RNA-, DNA- und TNA-Reihe und entsprechenden homobasischen Oligo- $(\text{T}^{\text{N,N}})$ s der (Glu-Asp)-Reihe mit dem 2,4-Diaminotriazin-Kern als alternative Nukleobase. UV-spektroskopisch ermittelte Schmelztemperaturen entsprechen CD-spektroskopisch bestimmten Werten, und für das 16-mer ist nachgewiesen, dass die Stöchiometrie von dessen Komplexierung mit einer Duplexbildung vereinbar ist. Überraschend und (vorerst) enttäuschend erwies sich das Kreuzpaarungsverhalten entsprechender Oligomeren, welche die 2,4-Dioxo-Form des Triazinkerns als Erkennungselement tragen: Der Vergleich von Abbildung 75 mit Abbildung 76 illustriert, wie auffallend schwächer die entsprechende (isostere) Paarung der 2,4-Dioxo-Form mit DNA und RNA ausfällt.<sup>[253]</sup>

Das auffallende Phänomen der deutlich geringeren Paarungsstärke des 2,5-Dioxotriazin/2,6-Diaminopurin-Basenpaares im Vergleich zum 2,5-Diaminotriazin/Thymin-Paar hat sein „antisymmetrisches“ Gegenstück im gleichermaßen auffallenden Befund, dass mit den entsprechenden Basen der



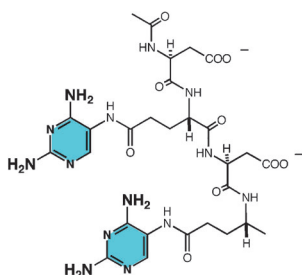
**Abbildung 76.** Schwache Kreuzpaarungen von Nukleo-oligodipeptiden mit 2,4-Dioxotriazin als Erkennungselement (mit DNA in wässrigem Medium).<sup>[253]</sup> Nukleo-dipeptid-Hexadecamer  $[\text{glu}(\text{T}^{\text{O,O}})\text{-asp}]_{16}$  paart mit DNA- $\text{D}_{16}$ , aber nicht mit DNA- $\text{A}_{16}$  (UV/ $T_m$ -Kurven, ca.  $5+5 \mu\text{M}$  in  $1.0 \text{ M NaCl}$ ,  $10 \text{ mM NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $0.1 \text{ mM Na}_2\text{EDTA}$ , pH 7).

5-Aminopyrimidin-Reihe in analoger Rückgratkombination die Paarungsstärken ebenso deutlich unterschiedlich sind, jedoch nunmehr in umgekehrter Richtung: Hier ist es die Dioxo-Form der nicht-kanonischen Nukleobase, die mit entsprechend komplementären DNA- und RNA-Strängen stärker paart als es die Diamino-Form tut (Abbildung 77 und 78).<sup>[254]</sup> Kombinierte man Oligomere mit zueinander komplementären nicht-kanonischen Basen aus der *sym*-Triazin- und der 5-Aminopyrimidin-Reihe zu zweifach oligodipeptidischen



**Abbildung 77.** Starke Kreuzpaarungen von Nukleo-oligodipeptiden [glu(AP<sup>O,O</sup>)-asp]<sub>n</sub> mit 2,4-Dioxo-5-aminopyrimidin als Erkennungselement (mit DNA und RNA in wässrigem Medium; ca. 5+5  $\mu$ M in 1.0 M NaCl, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH 7, 255 nm).<sup>[254]</sup>

(°C)	12-mer	16-mer
	UV- <i>T</i> <sub>m</sub>	UV- <i>T</i> <sub>m</sub>
poly-d(A)	61.1	64.7
poly-r(A)	40.8	44.0
d(A <sub>12</sub> )	51.4	54.7 d(A <sub>16</sub> )
r(A <sub>12</sub> )	35.5	41.0 r(A <sub>16</sub> )
t(D <sub>12</sub> )	54.3	—

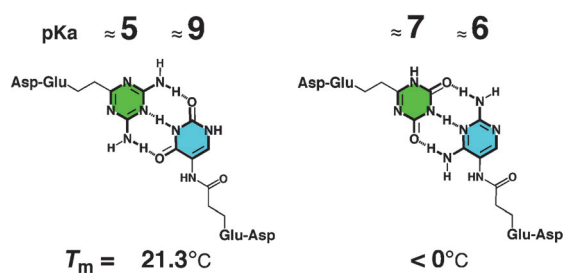


**Abbildung 78.** Schwache Kreuzpaarungen von Nukleo-oligodipeptiden [glu(AP<sup>N,N</sup>)-asp]<sub>n</sub> mit 2,4-Diamino-5-aminopyrimidin als Erkennungselement (mit DNA und RNA in wässrigem Medium; ca. 5+5  $\mu$ M in 1.0 M NaCl, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH 7, 250 nm).<sup>[254]</sup>

(°C)	12-mer
	UV- <i>T</i> <sub>m</sub>
d(T <sub>12</sub> )	<10
poly-r(U)	<10
poly-d(T)	23.3

Komplexen, so findet man bei Raumtemperatur Duplexbildung nur zwischen Oligomeren, welche die beiden (mit DNA) stärker paarenden Basen tragen, nämlich 2,4-Diamino-*sym*-triazin und 2,4-Dioxo-5-(acyl)aminopyrimidin. Bei den entsprechenden, formal ebenfalls zueinander komplementären Oligomeren mit 2,4-Dioxo-*sym*-triazin und 2,4-Diamino-5-(acyl)aminopyrimidin beobachtet man oberhalb 0°C keine Paarung (Abbildung 79).<sup>[255]</sup>

Ein Schlüssel für ein qualitatives Verständnis all dieser Beobachtungen liegt im Vergleich der *pK*<sub>a</sub>-Werte der vier nicht-kanonischen und der vier kanonischen Basen. Die Stärke entsprechender Paarungen in neutralem wässrigem Medium korreliert mit dem Unterschied zwischen den *pK*<sub>a</sub>-Werten der Paarungspartner in dem Sinne, dass je geringer dieser Unterschied, umso schwächer – *ceteris paribus* – die Paarung (Abbildung 80 und 81). Ram Krishnamurthy, der diese Zusammenhänge im Laufe der Arbeiten in La Jolla als erster erkannte, hat in der Folge in einem selbständigen



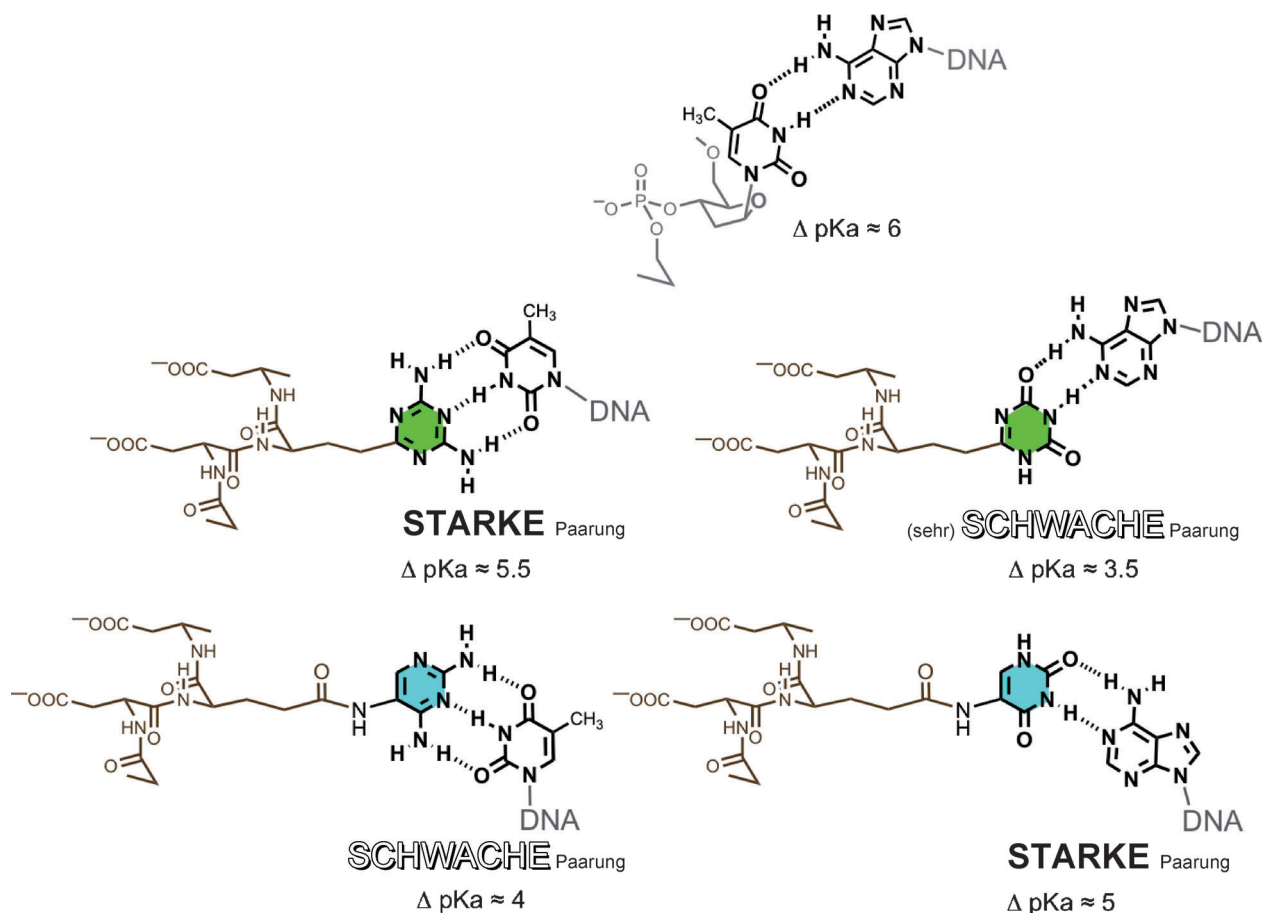
**Abbildung 79.** Relative Paarungsstärken – Korrelation mit *pK*<sub>a</sub>-Werten (12-mere, 5+5  $\mu$ M, 1.0 M NaCl, Phosphatpuffer, pH 7). Mit homobasischen Nukleo-oligodipeptid Dodecamer-Sequenzen, die Erkennungselemente der Triazin- und 5-Aminopyrimidin-Reihe aufweisen, wurde Paarung zwischen 2,4-Diamino-triazin und 2,4-Dioxo-5-amino-pyrimidin, nicht aber zwischen 2,4-Dioxo-triazin und 2,4-Diamino-5-amino-pyrimidin beobachtet.<sup>[254]</sup>

Projekt die Untersuchungen auf Derivate der Orotsäure als nicht-kanonische Nukleobasen und ein entsprechend modifiziertes oligodipeptidisches Rückgrat ausgedehnt, in welchem diese Strukturelemente nunmehr amidisch über die Carboxylfunktion des Pyrimidinpartners miteinander verknüpft sind.<sup>[256]</sup> Der Einfluss der Carboxamid-Gruppe in Stellung 6 des Pyrimidinrings auf die *pK*<sub>a</sub>-Werte von dessen 2,4-Dioxo- und 2,4-Diamino-Derivat ist umgekehrt zum entsprechenden Einfluss der Acylamino-Gruppe in Stellung 5; in der Tat verhalten sich die beiden Oligomere mit den von der Orotsäure sich ableitenden Basen in ihrem Paarungsverhalten gegenüber DNA umgekehrt wie das von 5-Aminopyrimidin sich ableitende Paar, jedoch analog wie das vom *sym*-Triazin sich ableitende.<sup>[256]</sup>

Eine Deutung des Zusammenhangs zwischen der Stärke der Paarung von konstitutionell komplementären Nukleobasen und dem Abstand ihrer *pK*<sub>a</sub>-Werte voneinander dürfte in Richtung entsprechender Unterschiede in den Hydratationsenergien von ungepaarten gegenüber gepaarten Basen zu suchen sein: Je näher die *pK*<sub>a</sub>-Werte von konstitutionell analogen Paarungspartnern dem neutralen pH-Wert des wässrigen Mediums liegen, umso stärker sollte die Hydratation ungepaarter Partner relativ zu jener gepaarter Partner ins Gewicht fallen und der damit einhergehende Unterschied in den Hydratationsenergien einer Paarung der Partner entgegenwirken.<sup>[257,258]</sup>

Von der an Kandidaten reichen Palette an Oligomersystemen, von denen man aufgrund qualitativer Kriterien vermuten kann, dass sie der Landschaft potentiell primordialer informationeller Systeme angehören könnten, wurde nebst den eben besprochenen Systemen das Paarungsverhalten eines Oligomers geprüft, das sich aus D-Glycerinsäure und 2,4-Dioxo-5-aminopyrimidin ableitet (Abbildung 82).<sup>[259]</sup> Angesichts der Kürze der Basensequenz ist die Paarung mit DNA auffallend stark. Leider misslang die Synthese des entsprechenden 2,4-Diamino-oligomers, mit dem vorab die oben erwähnte  $\delta$ -*pK*<sub>a</sub>-Korrelation hätte überprüft werden können. Einer der Gründe für dieses Misslingen liegt in der Tendenz des Rückgrats solcher Oligomere, allzu leicht über  $\beta$ -Eliminierungen zu zerfallen.<sup>[259]</sup>

Im Rückblick hat die Beurteilung der Erfahrungen aus unseren Untersuchungen über das Paarungsverhalten mit

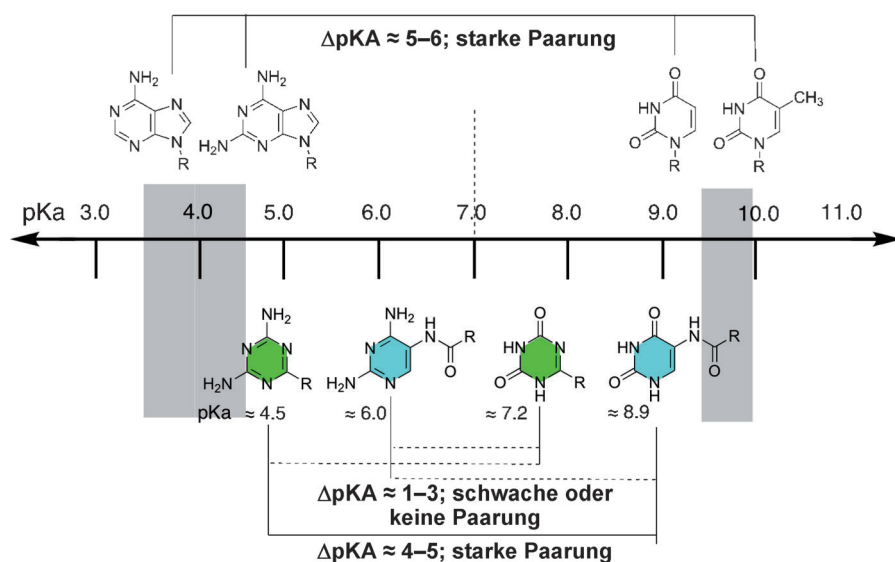


**Abbildung 80.** Zusammenfassung der in Abbildung 75–78 wiedergegebenen Beobachtungen: „Antisymmetrie“ im Paarungsverhalten von Triazin- und 5-Aminopyrimidinen und Abhängigkeit der Paarungsstärke vom Unterschied in den  $pK_a$ -Werten der Paarungspartner.<sup>[254]</sup>

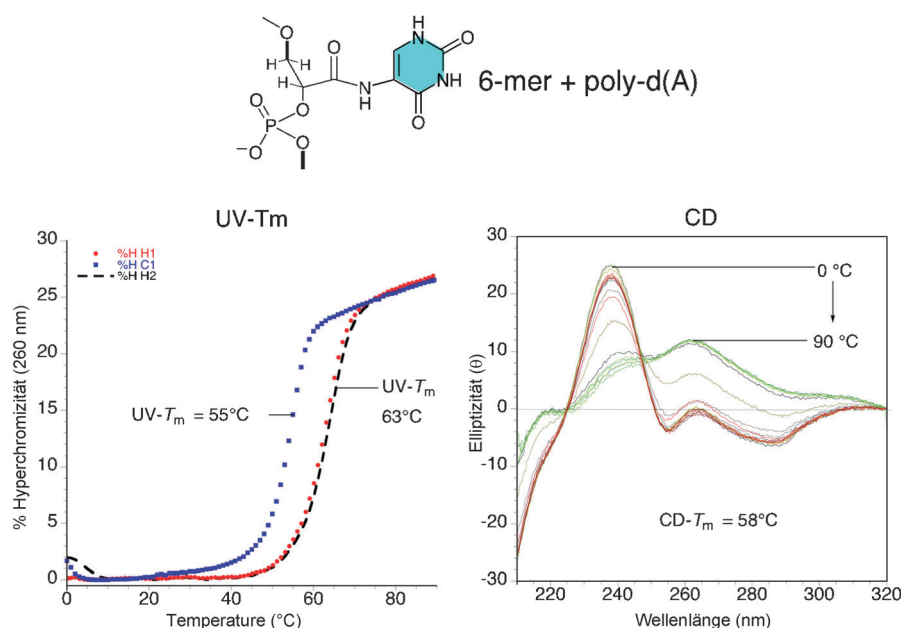
alternativen Erkennungselementen bestückter Nukleo-oligo-dipeptide einen unvorhergesehenen Schwerpunkt erhalten:

das Paarungsverhalten der eingesetzten *nicht-kanonischen* Basen weist mit Nachdruck auf eine Eigenschaft der *kanonischen* Nukleobasen hin, welche

letztere in besonderer Weise vor anderen auszeichnet und offenbar zu den für die Ätiologie des Strukturtyps der Nukleinsäuren relevanten Einsichten gehört: es ist dies die Schlussfolgerung, dass die beiden *kanonischen Basenpaare nicht nur konstitutionell in höchst spezifischer Weise ihrer biologischen Funktion entsprechen, sondern dass zudem die  $pK_a$ -Werte ihrer Paarungspartner in kritischer Weise für diese Funktion einem Optimum gleichkommen* (Abbildung 81).<sup>[253,254,256]</sup> Einmal mehr ist es der experimentelle Vergleich mit potentiellen Alternativsystemen, der erkennen lässt, wie ein Bauelement der natürlichen Nukleinsäurestruktur die besondere Eignung dieses Strukturtyps für die biologische Funktion bedingt. Will man die beiden Eigenschaften in der Perspektive sehen, die den vier kanonischen Nukleobasen



**Abbildung 81.** Korrelation zwischen Paarungsstärke und  $\Delta pK_a$ -Werten von Paaren komplementärer Basen in wässriger Lösung bei neutralem pH. Je geringer der Unterschied der  $pK_a$ -Werte der Paarungspartner, umso schwächer die Paarung in wässrigem Medium. Die kanonischen Nukleobasen entsprechen diesbezüglich einem Optimum.<sup>[254,256]</sup>



**Abbildung 82.** Bemerkenswert starke Kreuzpaarung von DNA mit der homobasischen Hexamersequenz eines aus D-Glycerinsäure abgeleiteten Oligonukleotids mit 5-Amino-2,4-dioxypyrimidin als Erkennungselement (ca. 5+5  $\mu\text{M}$ , 10 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.1 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 1 M NaCl).<sup>[259]</sup>

gemäß ist, so hat man sich an eines der wichtigsten Ergebnisse der klassischen präbiotischen Chemie zu erinnern,<sup>[5]</sup> nämlich dass aus chemischer Sicht diese Basen Abkömmlinge sind von HCN, einem elementaren molekularen Speicher freier Energie und wohl einem der häufigsten organischen Moleküle im interstellaren Raum.

Wohl keinem der in obigen Arbeiten über Nukleo-oligopeptide eingesetzten Basenpaare würde man das Potential eines wirklich funktionstüchtigen, alternativen Basenpaars zugestehen wollen. Es wäre aber verfehlt, in der Suche nach potentiell primordialen informationellen Oligomersystemen die Forderung zu erheben, solche Systeme sollten sowohl in ihrer konstitutionellen Robustheit als auch in ihrer Paarungseffizienz und Paarungselektivität den heutigen Nukleinsäuren nahekommen. Wie weit man mit solchen Forderungen nun aber tatsächlich gehen müsste, bleibt ungewiss, zu sehr sind wir im Ungewissen über die chemischen Voraussetzungen primordialer Evolutionsschritte auf molekularer Ebene (vgl. unten). Experimentell nachzuweisen, dass ein Oligomersystem zu informationeller Basenpaarung fähig ist und deshalb (wenigstens grundsätzlich) sich zu replizieren vermag, ist aus der Gesamtsicht nur ein erster Schritt auf einem sehr langen Weg.

Jeder Versuch, als Chemiker sich im Detail vorzustellen, wie viele spezifische Umstände in einem präbiotischen Umfeld zusammenwirken müssten, damit ein informationelles Oligomersystem mit Oligophosphodiesterstruktur vom Typ der RNA oder aber z.B. auch der Nukleo-oligodipeptidstruktur des oben beschriebenen Typs ohne Assistenz von Enzymen sich konstituieren könnte, muss zur Infragestellung jeglicher Szenarien solcher Art führen. Zu hinterfragen in diesem Zusammenhang ist vor allem auch das „Robustheitspostulat“ der klassischen präbiotischen Chemie.

#### 4.12. Konstitutionell labile („nicht-robuste“) Basenpaarungssysteme?

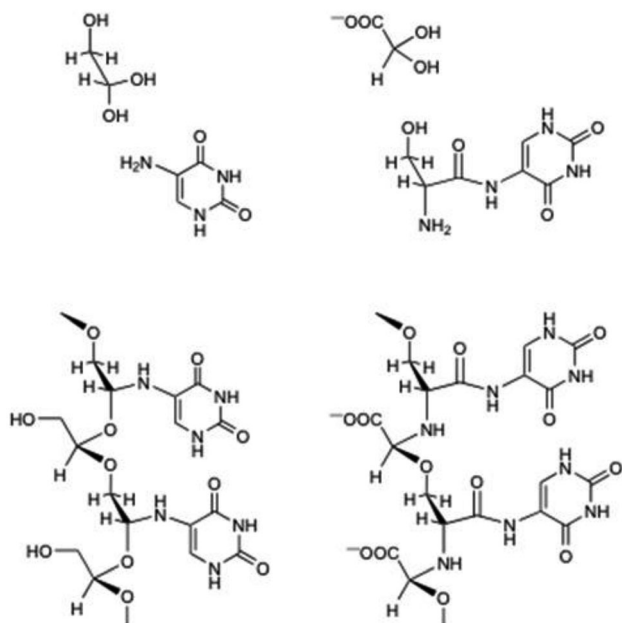
Nach einem der klassischen präbiotischen Chemie impliziten Postulat hätten präbiotische Moleküle und Reaktionen, denen man eine Rolle bei der Selbstorganisation der Materie zuschreiben gedenke, *robust* zu sein, ansonsten entfallte die Möglichkeit, dass sie Teil eines solchen Prozesses hätten sein können.<sup>[62, 216, 217, 222, 260, 261]</sup> Der Stand unseres Unwissens über die Chemie der Biogenese mahnt uns, nebst Robustheit von Ausgangs- und Zwischenprodukten und Reaktionen auch das Gegenteil in Betracht zu ziehen. Damit distanziert man sich aber von vornherein von Vorstellungen, wonach die entscheidenden Prozesse sich in einem Umfeld und bei Temperaturen abgespielt hätten, die dem Postulat einer Biogenese unter hydrothermalen Bedingungen

entsprechen.<sup>[262]</sup> Vielmehr hat man hierin der Vorstellung eines „kalten Lebensursprungs“ zu folgen,<sup>[263]</sup> einer Alternative, von dem der Autor meint, dass sie aus chemischer Sicht ohnehin vorzuziehen sei.

Die Frage ist aufzuwerfen, ob nicht auch nicht-robuste, d.h. in einem kritischen Umfeld hochgradig empfindliche Strukturen und Strukturumwandlungen das Potential besitzen, in kritischen Anfangsphasen präbiotischer Selbstorganisationsprozesse eine entscheidende Rolle gespielt zu haben. Nicht-robuste Systeme vermöchten empfindlicher auf beschleunigende und hemmende Faktoren zu reagieren und durch kontingente oder im System emergente Katalyse leichter assistiert, sukzessive gelenkt und letztlich kontrolliert zu werden. Im Bild einer „Generationsfolge“ von nicht-robusten Reaktionsmustern hätte man mit Halbwertszeiten zu rechnen, die um vieles kürzer wären als entsprechende „Generationsfolgen“ robuster Systeme. Allerdings wäre von solch einem Szenario zu fordern, dass in ihm Systeme letztendlich doch Robustheit erlangen müssten, was eine zusätzliche und aus chemischer Sicht besonders hohe Herausforderung bedeutet.

Die Hinterfragung der Forderung nach Robustheit hat im Zusammenhang mit dem im vorangehenden Abschnitt besprochenen Problemkreis einen praktischen Grund: Sollten zu den Zielobjekten einer experimentellen Suche nach potentiell primordialen informationellen Oligomersystemen nicht nur konstitutionell robuste, sondern auch nicht-robuste Systeme gehören? Bei ersteren, so hat man es sich vorzustellen, würden sowohl die Formation aus aktivierten Monomeren als auch die Replikation von Basensequenzen unter Bedingungen *kinetischer* Reaktionskontrolle erfolgen, nicht-robuste Oligomersysteme dagegen entstünden gemäß der alternativen Vorstellung einer unter (partiell) *thermodyna-*

mischer Kontrolle erfolgenden Selbstkonstituierung. Alternativ ist eine solche Vorstellung allerdings nur bedingt, denn grundsätzlich ist sie auf jegliche durch Dehydratisierungsschritte zustande kommende Oligomerstruktur anwendbar; je nach Umfeld kann im Grunde zwischen Bildung und Zerfall, d.h. zwischen Kondensation und deren Umkehrung durch Hydrolyse, immer ein Gleichgewicht zustande kommen.<sup>[264]</sup> Was indessen hier gemeint ist, sollen die Formeln von Oligomersystemen des in Abbildung 83 formulier-

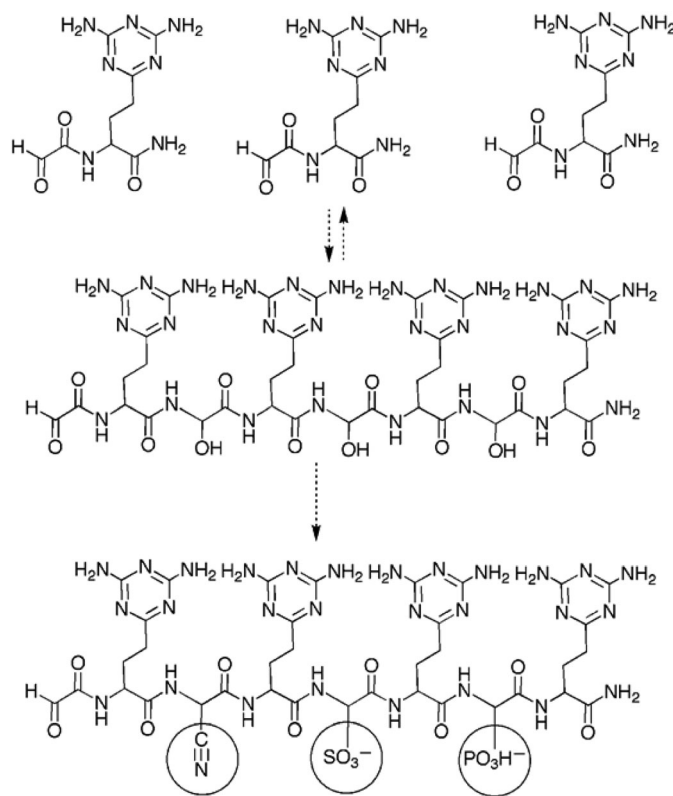


**Abbildung 83.** Hypothetische Beispiele nicht-robuster (potentieller) Paarungssysteme.

ten Typs andeuten. Es sind dies völlig hypothetische Beispiele nicht-robuster Oligomertypen – stellvertretend für viele andere –, deren Konstituierung ohne besondere Aktivierung der Bausteine denkbar ist und gegebenenfalls unter Reaktionsbedingungen erfolgen kann, unter welchen alle Oligomerisationsschritte reversibel sind. Triebkräfte ihrer Konstituierung hätten Dehydratisierung sowie die Paarungsenergie selektiv sich bildender Duplexe zu sein. Dies entspricht dem Denkmodell eines dynamischen Gleichgewichtsgemisches von Monomeren und Oligomeren, in welchem Watson-Crick-Basenpaarung als Selektionsfaktor agiert, d.h. selektiv die Konstituierung eines zu einem entsprechenden Templat komplementären Oligomers herbeiführt.<sup>[265,266]</sup> Sinnvoll ist ein solches Denkmodell hochlabiler Informationssysteme indessen nur in Kombination mit der zusätzlichen Vorstellung, dass in solchen dynamischen Gleichgewichtssystemen Organokatalysatoren entstünden, die auf die Konstituierung von relevanten Komponenten des Systems Einfluss zu nehmen imstande sind. „Organokatalyse“, in welche Kategorie phänotypische Katalyse informationeller Oligomeren der in Betracht gezogenen Art letztendlich fallen würde, braucht grundsätzlich nicht Oligomersequenzen einer Länge zu erfordern, wie man sie aufgrund der Erfahrungen mit Biokatalysatoren glaubt annehmen zu müssen. Die struktu-

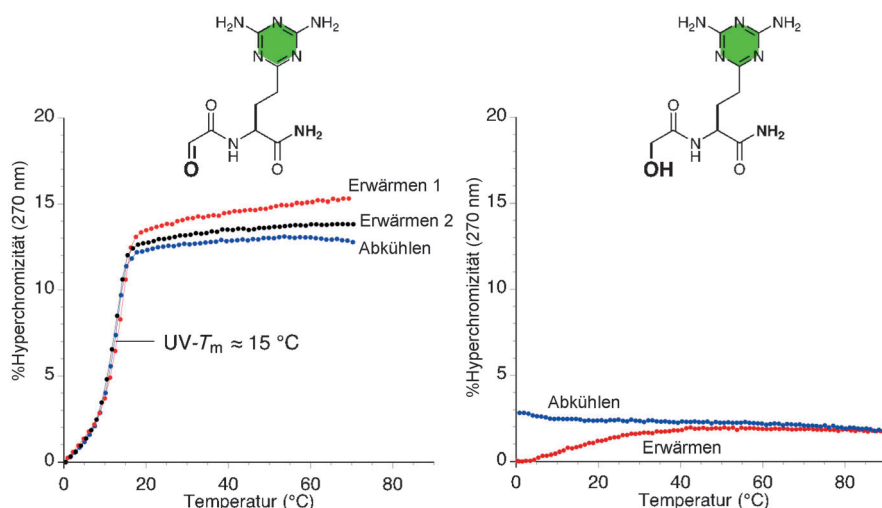
relle und funktionelle Vielfalt, wie sie heute für die Organokatalyse durch die jüngst erfolgte Renaissance ihrer Erforschung in der organischen Chemie in einem überraschenden Ausmaß offenbar wird, gibt einer solchen Denkrichtung Impulse und legt uns nahe, dass die Suche nach potentiell primordialen, informationellen Oligomersystemen auch nicht-robuste Vertreter mit einschließen sollte.

Die Möglichkeit einer Voraussage der Paarungsfähigkeit von hypothetischen nicht-robusten Oligomersystemen dürfte noch wichtiger sein als bei robusten Systemen und eine experimentelle Erkundung von deren Bildung und Eigenschaften bedeutend schwieriger. Paarungsprognosen könnten sich immerhin auf die Summe der Erfahrung stützen, die durch Vergleich von Voraussage und experimentellem Ergebnis bei robusten Systemen gemacht worden sind. Wir haben im Rahmen unserer Arbeiten über Nukleo-oligodipeptide wenigstens explorativ versucht, ein Beispiel einer unter Gleichgewichtsbedingungen verlaufenden, durch ein (robustes) Templat unterstützten Oligomerisation eines nicht-aktivierten Monomers zu nicht-robusten Oligomeren experimentell nachzuweisen (Abbildung 84), mussten aber



**Abbildung 84.** Ein experimentell exploratorisch untersuchtes, nicht-robustes (potentielles) Paarungssystem (vgl. hierzu Abbildung 75).

vor den (nicht unerwarteten) analytischen Schwierigkeiten schließlich kapitulieren und die Interpretation vielversprechender Beobachtungen vorläufigen Charakters offenlassen (Abbildung 85).<sup>[267]</sup> Erfolg beschieden war indessen kürzlich von Reza Ghadiri<sup>[268]</sup> realisierten Experimenten, in welchen eine durch Oligonukleotid-Templete informationell kontrol-



**Abbildung 85.** Beobachtungen aus Versuchen zum Nachweis einer Oligomerisation des Monomers aus Abbildung 84, Glyoxyl-(T<sup>N,N</sup>)Glu, zu einem nicht-robusten Oligomer-Komplementärstrang, Hydroxyacetyl-Glu(T<sup>N,N</sup>), an einem RNA-Templat, r(U<sub>16</sub>).<sup>[267]</sup> 10 mM Trisborat, pH 9.0, 1 M NaCl, 0.1 mM Na<sub>2</sub>EDTA; RNA (10 μM), Monomer (2 mM); gemessen 30 min nach Probenbereitung; UV/T<sub>m</sub>-Kurven bleiben über 6 Tage unverändert.

lierte Selbstkonstituierung von oligopeptidischen Basensequenzen über reversible Thioestergruppenübertragungen unter thermodynamischer Kontrolle demonstriert wurde. Dieses Modellsystem dürfte dem dargelegten Szenario einer Konstituierung von nicht-robusten informationellen Oligomersystemen bislang am nächsten kommen.<sup>[265]</sup>

## 5. Versuch eines Ausblicks

Die Strategie einer Vermessung der Landschaft potentiell primordialer informationeller Oligomersysteme ist letztlich inspiriert durch das „genetizistische“ Postulat, wonach die Emergenz eines primitiven, aber letztlich unseren heutigen Vorstellungen von einem genetischen Oligomer entsprechenden Systems der entscheidende Schritt der Biogenese war.<sup>[14a–e, 198]</sup> Diesem Postulat widerspricht das „metabolistische“ Denkmodell,<sup>[10, 14f, 269, 270]</sup> das im Aufkommen eines genetischen Systems des uns heute bekannten Typs nicht den Evolutionsbeginn, sondern eine Errungenschaft der Evolution vorangegangenen „Lebens“ sieht. Letzteres sei von autokatalytisch und damit intrinsisch replikativ agierenden, „proto-metabolischen“ Reaktionszyklen ausgegangen. Der Hinweis auf diese Dichotomie der Denkmodelle soll hier nicht einfach formaler Ausgewogenheit in der Erwähnung gegensätzlicher Vorstellungen dienen, vielmehr glaubt der Autor, dass eine umfassende und zielgerecht voranschreitende experimentelle Suche nach potentiell primordialen informationellen Oligomer- und Reaktionssystemen ein Weg ist, um schlussendlich auf ein chemisches Territorium zu gelangen, wo „Genetizisten“ und „Metabolisten“ sich treffen. Wie weit dabei auftauchende informationelle Replikationssysteme strukturell und funktionell sich von den uns heute geläufigen unterscheiden werden, ist ebenso wenig abzuschätzen, wie vorauszusehen ist, wie nahe man mit solchen

Systemen den hypothetischen autokatalytischen Zyklen metabolistischer Denkmodelle kommen wird.

Würde man nach einem *einfachsten gemeinsamen Nenner* des genetizistischen und des metabolistischen Credo fragen, so könnte ein solcher in der Forderung nach Replizierbarkeit *von Katalysatoren* (nicht nur Konstituenten) bestehen, und zwar obligat von solchen, die unter sich funktionell vernetzt und durch ihr Wirken ihre eigene strukturelle und funktionelle Vielfalt auszuweiten imstande sind.<sup>[271]</sup> Danach läge der Kern des Unterschieds in den beiden Auffassungen nicht darin, ob ein System einer genetischen Kontrolle unterliege oder nicht, sondern er läge im *Ausmaß* der konstitutionellen und funktionellen Diversität eines (de facto „genetischen“) Leitsystems. Mit dem Ziel, nicht so sehr das Trennende, denn das Gemeinsame der beiden Denkmodelle

zu erkennen, meint die hier unterstellte Bedeutung des Begriffs „genetisch“ *jedliche Form einer Systemkontrolle durch letztlich autokatalytisch sich reproduzierende Träger katalytischer Funktionen, die durch ihr Wirken Katalysatorstruktur und Katalysatorfunktion zu diversifizieren vermögen und damit einem System das Potential der Evolvierbarkeit verleihen.*<sup>[272]</sup> Selbst wenn ein System Struktur und Funktion solcher Katalysatoren auch nur in beschränktem Ausmaß zu diversifizieren vermöchte, entspräche ein solches Potential der einfachsten und zugleich kargsten „Definition von Leben“ auf elementarster Ebene.<sup>[273]</sup> Für ein metabolistisches Szenario ist die Diversifikation des katalytischen Potentials das zentrale Problem, im Gegensatz zum (konventionell) genetizistischen, wo Vielfalt wenigstens grundsätzlich als praktisch unbegrenzt erreichbar zu denken ist. Ursprüngliches „Leben“ im Sinne des genetizistischen Denkmodells hatte ein unvergleichlich höheres Evolutionspotential als jeglicher Typ von „Leben“ eines metabolistischen Modells. Hierin liegt die Wurzel des genetizistischen Credos.

Fragt man im Sinne des erwähnten „einfachsten gemeinsamen Nenners“ nach Äquivalenten des „Genotyps“ und „Phänotyps“ in einem (konventionell) metabolistischen Szenario, bzw. nach den molekularen Trägern „genetischer“ Information und den chemischen Wegen, auf welchen sich diese diversifizieren soll, so könnte man vorerst versucht sein, die Frage als deplatziert abzutun. Doch eigentlich trifft sie den Kern der Problematik des metabolistischen Denkmodells. Ihre Wahrnehmung ist geradezu eine konzeptuelle Voraussetzung für den Entwurf und gegebenenfalls eine experimentelle Simulation von metabolistischen Szenarien. Während für ein (konventionell) genetizistisches Szenario die Vorstellung eines Zusammenspiels von genotypischen und phänotypischen Funktionen Fragen des Details, jedoch nicht eigentlich solche grundsätzlicher Art aufwirft – die Vorstellung von der „RNA-Welt“ (vgl. oben) ist hierfür ein Beleg –,

ist der Versuch einer Ortung von Äquivalenten dieser beiden Funktionen in einem metabolistischen Szenario problematisch; er dient jedoch der Durchsicht auf Gemeinsamkeiten und Unterschiede der beiden Vorstellungen. Geignet für eine formale Exemplifizierung einer solchen Suche nach Durchsicht ist ein Szenario des Morowitz-Wächtershäuser'schen Typs,<sup>[10b,269c]</sup> indem in dessen Zentrum ebenfalls ein „Replikator“ steht. Im Morowitz'schen Vorschlag<sup>[269c]</sup> ist dieser ein ohne Enzyme agierendes Äquivalent des reduktiven ( $\text{CO}_2$ -fixierenden) Zitronensäure-Zyklus. In diesem ist jeder Konstituent Katalysator seiner eigenen Replikation und zugleich Katalysator der Replikation aller anderen Konstituenten des Zyklus.<sup>[271]</sup> Eine Diversifikation des katalytischen Potentials eines solchen Systems würde im einfachsten Fall dadurch zustande kommen können, dass umfeldbedingt von Zyklus-Konstituenten ausgehende extra-zyklische Reaktionswege zu Reaktionsprodukten führen, unter welchen sich (Organo)-Katalysatoren befinden. Wäre so ein Katalysator imstande, auf direktem oder indirektem Wege rückkoppelnd die Konstituierung oder Funktion des Ausgangszyklus zu erleichtern, implizierte dies die Emergenz eines neuen, mit dem Mutterzyklus verschränkten katalytischen Zyklus.

Während formalen Vorstellungen über die Selbstkonstituierung dergestalt (oder andersartig) sich diversifizierender autokatalytischer Reaktionsnetzwerke kaum Grenzen gesetzt sind (vgl. z. B. Lit. [270]), sind aus der Sicht des Chemikers der „Wenns und Abers“ Legion, und dies schon für einfachste Varianten solcher Szenarien, für den Mutterzyklus allem voran. Dennoch ist Vorsicht im Urteil angebracht. Bislang hat innerhalb der organischen Chemie eine systematische Suche nach potentiell *primordialen* autokatalytischen Zyklen und Netzwerken noch gar nicht wirklich begonnen.<sup>[274]</sup> Dagegen verfügt heute die (metall)organische Chemie in der zu Recht berühmten Soai-Reaktion<sup>[275]</sup> eine dramatische experimentelle Illustration des ganz und gar außerordentlichen Selektionspotentials, das Autokatalyse in der chemischen Realität entfalten kann. Zudem ist innerhalb der reinen organischen Chemie die Renaissance der Erforschung der Organokatalyse im Begriff, Ergebnisse und Einsichten zu zeitigen, die früher oder später unsere Sicht auf die Chemie der Biogenese nachhaltig befruchten werden.<sup>[276]</sup>

Experimentelle Versuche, vereinzelte Reaktionsstufen des reduktiven Zitronensäure-Zyklus nicht-enzymatisch zu simulieren, haben zu Ergebnissen geführt, die näher einer Schwächung, denn einer Stützung der diesen Versuchen zugrunde liegenden Hypothese sind.<sup>[269b,277]</sup> Die bereits erwähnte Formose-Reaktion,<sup>[61]</sup> von der seit langem bekannt ist, dass sie als autokatalytischer Prozess ablaufen kann,<sup>[278]</sup> steht seit längerer Zeit im Fokus einer in ihrer Konsistenz bemerkenswerten Serie experimenteller Arbeiten von Weber,<sup>[279]</sup> in welcher unter der Bezeichnung „The Sugar Model“ das Potential des Strukturtyps der Substanzklasse der Zucker für eine Chemie der Biogenese experimentell zu demonstrieren versucht wird.<sup>[280,281]</sup> Kürzlich am TSRI aufgenommene experimentelle Untersuchungen zur Frage, ob eine von den Aquo-Oligomeren des Kohlenmonoxids (Glyoxylat und 2,3-Dihydroxyfumarat)<sup>[282]</sup> ausgehende Chemie ein Komplement zur Formose-Chemie bieten und in ihrem Fundus einen bisher nicht bekannten Typ autokatalytischer

Zyklen bergen könnte,<sup>[252]</sup> sind noch im Gange; bisherige Ergebnisse stützen die erste, anscheinend jedoch nicht die zweite der beiden Fragestellungen.<sup>[283]</sup> Seit der Frühzeit der präbiotischen Chemie gibt es die Vorstellung, dass am Anfang des Weges zur Biogenese eine Chemie von  $\alpha$ -Aminosäuren und Oligopeptiden gestanden habe.<sup>[284]</sup> Den vorläufigen Höhepunkt experimenteller Untersuchungen, die dadurch angeregt wurden, markieren wohl die Arbeiten von Ghadiri über Modellnetzwerke auto- und kreuzkatalytisch sich replizierender (synthetischer) Polypeptide.<sup>[16c,d,285]</sup> Bedeutungsvoll sind in diesem Zusammenhang im Rahmen der Forschung über Organokatalyse durchgeführte Arbeiten, die das Katalysepotential von Aminosäure und Oligopeptiden erkunden, auch wenn sie meist mit rein chemischer Zielsetzung geplant und verfolgt werden.<sup>[286]</sup> So bezieht die Renaissance auf dem Gebiet der Organokatalyse ihren Antrieb zur Hauptsache aus der theoretischen und auch praktischen Bedeutung der Thematik „Enantioselektivität“; nicht zuletzt deshalb sind in letzter Zeit immer zahlreicher Veröffentlichungen erschienen, die die Frage nach dem Ursprung der „Homochiralität“ der biologischen Bausteine und Biopolymere betreffen<sup>[287,288]</sup> bzw. manchmal zu betreffen vermeinen. Wiewohl als Folge dieser Arbeiten unsere heutige Sicht auf mögliche chemische Quellen der biologischen „Homochiralität“ um wichtige Optionen reicher erscheint, ist deren ätiologische Gewichtung solange verfrüht, als wir bezüglich der konstitutionellen Natur eines eigentlichen primordialen „take-off“-Replikationssystems im Dunkeln sind.<sup>[289]</sup>

Die Frage nach dem Ursprung der Homochiralität ist nur eine von zahlreichen Fragen, auf die hier nicht eingegangen werden kann.<sup>[290]</sup> Eine andere ist die nach chemischen (und gegebenenfalls geochemischen) Optionen für die Kompartimentalisierung<sup>[14b]</sup> chemischen Geschehens auf dem Wege zur Biogenese; räumliche Individualisierung primordialer Funktionseinheiten wird generell als Voraussetzung von Evolvierbarkeit erachtet. Hierzu gehören Fragen nach der Rolle von mineralischen Oberflächen und Schichtmineralien oder von Schnittzonen zwischen lipidischen und wässrigen Reaktionsräumen. Alles Leben auf unserer Erde ist zellulär; die „biologischste“ aller Definitionsversuche des Lebensursprungs setzt diesen deshalb mit der Emergenz der Zelle gleich.<sup>[291]</sup> Die zentralen Fragen insbesondere von Denkmodellen eines autotrophen Ursprungs betreffen Ortung und Natur der geochemischen Stoff- und Energiequellen primordialen chemischen Geschehens und Szenarien der Assimilation des Kohlenstoffs, die letztlich in eine solche der reduktiven Fixierung von Kohlendioxid einzumünden hat.

Bislang offenbar unbeachtet scheint die Möglichkeit, dass ursprünglich die Erdkruste selbst ein Reservoir von Vorläufern reaktiver Kohlenstoff- und Heteroatom-haltiger Verbindungen hätte sein können, Vorläufern, die in energiespeichernder Form im Erstarrungsprozess der Erdkruste gebildet und konserviert gewesen wären und in der Folge an „hotspots“ durch partielle Hydrolyse sukzessive hoch reaktive Verbindungen wie HCN und Cyanamid freigesetzt hätten.<sup>[292]</sup>

Unerwähnt zu bleiben haben hier auch Fragen über Randbedingungen der Biogenese, die weit über Probleme der genannten Art hinaus reichen zu den Fragen über den Wandel

unseres Planeten und seines geochemischen Umfelds bis hin zu den „habitable zones“ in extrasolaren Planetensystemen. Im Gesamtspektrum solcher Fragen kommt die naturwissenschaftliche Dimension des Problems der Lebenstentstehung zum Ausdruck und auch die Dimension der Herausforderung an jenen Zweig der Wissenschaft, der letztlich für die Frage nach dem Kern biogenetischen Geschehens zuständig ist, die Chemie.

Was sind die Chancen für nachhaltige Antworten? Sie dürften davon abhängen, ob das Denkmodell eines heterotrophen Ursprungs oder das eines autotrophen Beginns der Realität näher liegt (wobei zu erwähnen fast müßig ist, dass die Realität zwischen den beiden Extremen liegen konnte). Modelle eines autotrophen Ursprungs lehnen sich an die Auffassung an, dass die Anfänge eines primitiven Metabolismus leichter aus einem chemisch einfachen, denn aus einem chemisch komplexen Umfeld sich hätten ergeben können.<sup>[10]</sup> Aus chemischer Sicht wird die konzeptuelle Dekonstruktion und experimentelle Rekonstruktion eines konstitutionell und räumlich kompakten autotrophen Ursprungs – sollte es denn einen solchen gegeben haben – viel eher möglich sein, als dies je für einen heterotrophen Beginn aus der legendären „prebiotic soup“ denkbar scheint.

Für die Suche nach der Chemie der Entstehung des Typus von Leben, dem wir angehören, wird man sich an die molekularen Wegweiser zu halten haben, die alle „eine Botschaft enthalten“, die es zu entziffern gilt. Nebst den Nukleinsäuren und Proteinen sind solche Wegweiser vor allem die archaischen Cofaktoren: Lebensnotwendig in allen Metabolismen heute lebender Natur enthalten sie Strukturteile, die für uns Vitamine sind, wobei es gute Gründe dafür gibt, dass sie oder ihre Vorläufer dies schon in der kritischen Phase der Biogenese waren, nämlich „Vitamine“ des Lebensbeginns im eigentlichen Sinne des Wortes. Die Vorstellung von ihrer vorbiologischen Herkunft hat vor allem für das Riboflavin eine chemisch eindruckliche Stütze; bislang konnte – vielleicht mit Ausnahme der Porphinoide – für keinen der strukturell komplexen Cofaktoren die „chemomimetische“ Natur der Biosynthese ihrer Kernstruktur durch nicht-enzymatische Simulation chemisch komplexer Biosyntheseschritte experimentell unter potentiell präbiotischen Bedingungen derart eindrucklich illustriert werden wie für Riboflavin.<sup>[293,294]</sup> Eine umfassende Abklärung der Frage nach der Elementarität der archaischen Cofaktorstrukturen durch experimentell-synthetische Analyse ihrer Generierbarkeit unter problemgerechten Reaktionsbedingungen könnte sehr wohl eine Bresche in die vorderste Front der chemischen Biogeneseforschung schlagen.

„Wir werden es nie wissen können“ ist ein Truismus, der zu Resignation gegenüber jeglicher experimenteller Investition in eine Suche nach der Chemie der Entstehung des Lebens verführt. Doch widerspricht solche Resignation radikal der Herausforderung, die der Chemie als Naturwissenschaft auferlegt ist. Ungeachtet der Prognose, wonach der kürzeste Weg zum Verständnis der Metamorphose des Chemischen ins Biologische über die experimentelle Modellierung „künstlichen chemischen Lebens“ führt, wird die naturwissenschaftliche Suche nach dem von der Natur begangenen Weg der Entstehung des Lebens, das wir kennen, wohl

nie wirklich enden. Denn sie ist Teil der Suche nach unserem eigenen Ursprung.

## Nachwort und Danksagung

*Die im vorstehenden Rückblick erwähnten Arbeiten zur Ätiologie der Struktur des Vitamins B<sub>12</sub> und des Strukturtyps der Nukleinsäuren erstreckten sich über einen Zeitraum von mehr als drei Jahrzehnten. Anerkennung und Dank gehen an alle meine ehemaligen Doktoranden und Postdoktoranden, die vor oder nach meiner Emeritierung im organisch-chemischen Laboratorium der ETH, am Institut für Pharmazie an der Universität Frankfurt und am Scripps Research Institute die hier erwähnten Forschungsergebnisse erarbeitet und mitverantwortet haben. Dass in Anbetracht der schiereren Zahl meiner ehemaligen Mitarbeiter ich sie hier nicht namentlich aufzähle, mögen sie mir verzeihen; dies erbitte ich insbesondere von jenen unter den Ehemaligen, deren Name in keinem der Literaturzitate vorkommt, wiewohl sie keineswegs mit geringerem Einsatz mitgearbeitet haben. Wenn immer in der Lehr- und Lern-Gemeinschaft, wie es unsere Forschungsgruppe war, ein Forschungsziel verfehlt wurde, war es letztlich nicht die Schuld des Lernenden, sondern desjenigen, der solche Ziele setzte. Je mehr die Jahre fortschreiten, umso klarer erkenne ich, welch ein Privileg es war, mit einer solchen Gemeinschaft sich rein wissenschaftlicher Arbeit widmen zu dürfen und den Fragen nachgehen zu können, die Gegenstand dieses Rückblicks sind.*

*Die Arbeiten, die noch vor meiner Emeritierung im Jahre 1992 durchgeführt wurden, waren organisatorisch und finanziell unterstützt durch die Schulleitung der ETH Zürich, den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung in Bern, die (vormalige) CIBA Aktiengesellschaft in Basel sowie die Firma Firmenich & Co. in Genf. Nach 1992 wurde die Fortführung einer kleinen Arbeitsgruppe an der ETH während mehr als eines Jahrzehnts dank organisatorischen Entgegenkommens der Kollegen des organisch-chemischen Laboratoriums und der finanziellen Unterstützung durch die Schulleitung der ETH, der Firmen CIBA und Firmenich sowie der neu erstandenen Novartis AG ermöglicht. In den Jahren 1994–1997 genoss ein Teil meiner Forschungsgruppe Gastrecht am Pharmazeutischen Institut der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt, und ab 1996 verschob sich der Schwerpunkt meiner Forschungstätigkeit in die gemeinsam mit Ram Krishnamurthy betreute Arbeitsgruppe im Skaggs Institute for Chemical Biology am Scripps Research Institute (TSRI) in La Jolla. Unsere dortige Arbeit wurde durch die Skaggs Foundation, die Direktion des TSRI sowie durch die NASA finanziell unterstützt. Seit 2009 bin ich – diesmal freiwillig – zum zweiten Mal emeritiert.*

*Hinter diesem Gang der Dinge standen Persönlichkeiten, denen ich zu Dank verpflichtet bin. Vorab meinen nunmehr ebenfalls emeritierten Kollegen Duilio Arigoni und Andrea Vasella, in deren Arbeitsgruppe am organisch-chemischen Laboratorium der ETH ich nach 1992 administrativ zu Gast war. Die magistral-unkonventionelle Hilfe, die mir in jenen Jahren durch Ralf Hütter, damals Vizepräsident für Forschung an der ETH Zürich, zu Teil wurde, bleibt mir unvergessen. Ende der 80er Jahre hatte der Übergang von der B<sub>12</sub> zur homo-*

DNA-Chemie von unserer damals bereits bejahrten Arbeitsgruppe eine arbeitstechnische Umorientierung abverlangt, die uns ohne die Hilfe von Christian Leumann vielleicht nicht gelungen wäre. Ihm gebührt deshalb meine besondere Anerkennung. Die schöne Zeit der gemeinsamen Arbeit mit einer Postdoktorandengruppe im neu erstellten Institutsgebäude für die Naturwissenschaften an der Universität in Frankfurt verdanke ich zwei Freunden, Gerhard Quinkert und Christian Noe. Schließlich geht mein ganz besonderer Dank an den Präsidenten des TSRI, Richard Lerner; seinem Entschluss verdanken wir, meine Frau Elisabeth und ich, die kostbaren und unvergesslichen Jahre, die wir in Kalifornien erleben und genießen durften. In dankbarer Erinnerung bleiben mir auch all meine jüngeren Freunde und Kollegen am Scripps Institute, mit denen ich während all den Jahren regen persönlichen und wissenschaftlichen Kontakt pflegen durfte, eine Beziehung, die für mich Zugehörigkeit bedeutete, mich bereicherte und verjüngte.

Hohe Anerkennung und nachhaltiger Dank gebührt meinem jüngeren Kollegen am TSRI, Ramanarayanan Krishnamurthy. „Ram“ kam 1992 nach seinem Doktorat an der Ohio State University (Prof. David Hart) als Postdoktorand in meine eben gestartete Nach-Emeritierungs-Forschungsgruppe an der ETH, anschließend verbrachte er einen Forschungsaufenthalt am SIO in La Jolla als wissenschaftlicher Mitarbeiter von Gustaf Arrhenius, und 1996 wurde er zum ersten Mitglied, Mitbegründer und Mitorganisator meiner Forschungsgruppe am TSRI. Vom Research Associate zum Associate Professor am TSRI aufsteigend, hat er während dreizehn Jahren, wenn immer ich mich in der Schweiz und nicht in La Jolla aufhielt, an meiner statt unsere dortige Postdoktoranden-Gruppe wissenschaftlich und administrativ betreut.

Dass mir im Herbst meines beruflichen Lebens die Mitarbeit und Loyalität eines menschlich so gewinnenden, fachlich so kompetenten und intellektuell so brillanten jungen Forschers in der Person von Ram Krishnamurthy zu Teil wurde, betrachte ich als ein außerordentliches Geschenk. Alles was unserer Forschungsgruppe am TSRI über die Jahre hinweg gelang, trägt das Siegel seines Mitdenkens und Mitmachens, seines Organisierens, seiner aktiven und steten Sorge um alles, was hohe Qualität experimenteller Arbeit von einer Forschungsgruppe in einem chemischen Laboratorium erfordert. Im Laufe unserer Zusammenarbeit wurde Ram immer mehr vom Lernenden zum Lehrenden und zur Quelle von Können und Wissen, aus welcher die Mitarbeiter schöpften. Seit 2009 arbeitet Ram mit seiner selbstständigen Forschungsgruppe am TSRI.



Ram Krishnamurthy

Eingegangen am 30. Mai 2011

Online veröffentlicht am 7. Dezember 2011

- [1] V. Prelog, *Naturwiss. Rundsch.* **1985**, 38, 259–2662.
- [2] Webster, *Unabridged Dictionary*, 2. Aufl., **1979**.
- [3] „Aitiology“ in *Oxford Dictionary*, 2. Aufl., Oxford University Press, Oxford, **2002**.
- [4] „Toward a Chemical Etiology of the Natural Nucleic Acid's Structure“: A. Eschenmoser in *Proceedings of the Robert A. Welch Foundation 37th Conference on Chemical Research „40 Years of the DNA Double Helix“*, Houston, **1993**, S. 201.
- [5] a) S. L. Miller, *Science* **1953**, 117, 528; S. L. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 2351; b) J. Oró, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1960**, 2, 407; J. Oró, A. P. Kimball, *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, 94, 217.
- [6] Molière, „Le Bourgeois Gentilhomme“, 2. Akt, IV. Szene.
- [7] S. L. Miller, L. E. Orgel, *The Origins of Life on Earth*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, **1974**; C. Will, J. Bada, *The Spark of Life*, Perseus, Cambridge, **2000**.
- [8] a) A. I. Oparin, *Origin of Life*, 2nd ed., Dover, New York, **1952**, S. 153; vgl. auch die in Lit. [9] (S. 199–234) wiedergegebene englische Version der in Russisch erschienenen ersten Ausgabe aus dem Jahre 1924; b) J. B. S. Haldane, *Ration. Annu.* **1929**, 148, 3; abgedruckt in Lit. [9] (S. 242–249).
- [9] a) J. D. Bernal, *The Origin of Life*, Weidenfeld & Nicolson, London, **1967**; b) Kapitel „Postscript“ in Lit. [9a], S. 194.
- [10] a) G. Wächtershäuser, *Microbiol. Rev.* **1988**, 452; b) G. Wächtershäuser, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, 87, 200; c) G. Wächtershäuser, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2006**, 361, 1787; d) H. Hartman, *J. Mol. Evol.* **1975**, 4, 359.
- [11] Y. Wolman, W. J. Haverland, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1972**, 69, 809; J. R. Cronin, S. Pizzarello, *Science* **1997**, 275, 951; M. P. Callahan, K. E. Smith, H. J. Cleaves, J. Ruzicka, J. C. Stern, D. P. Glavin, C. H. House, J. P. Dworkin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, 108, 13995.
- [12] W. M. Irvine, *Origins Life Evol. Biosphere* **1998**, 28, 365; M. C. McCarthy, P. Thaddeus, *Chem. Soc. Rev.* **2001**, 30, 177.
- [13] a) C. De Duve, *Vital Dust: Life as a Cosmic Imperativ*, Basic Books, Harper Collins, New York, **1995**; b) C. De Duve, *Blueprint for a Cell: The Nature and Origin of Life*, Patterson, Burlington, **1991**.
- [14] a) M. Eigen, *Naturwissenschaften* **1971**, 58, 465; b) H. Kuhn, *Angew. Chem.* **1972**, 84, 838; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1972**, 11, 798; c) M. Eigen, M. Schuster, *Naturwissenschaften* **1978**, 65, 341; d) H. Kuhn, J. Waser, *Angew. Chem.* **1981**, 93, 495; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, 20, 500–520; e) S. Lifson, *J. Mol. Evol.* **1997**, 44, 1; f) S. A. Kauffmann, *J. Theor. Biol.* **1986**, 119, 1; g) D. Segré, D. Ben-Eli, D. Deamer, D. Lancet, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, 31, 119; h) P. Decker, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2006**, 316, 236; i) E. Szathmari, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2006**, 361, 1761; j) H. Morowitz, E. Smith, *Complexity* **2007**, 13, 51; k) A. Pross, *J. Phys. Org. Chem.* **2008**, 21, 724.
- [15] A. Eschenmoser, *Origins Life Evol. Biosphere* **1994**, 24, 389.
- [16] a) M. Kindermann, I. Stahl, M. Reimold, W. M. Pankau, G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 6908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 6750; b) E. J. Hayden, G. von Kiedrowski, N. Lehman, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 8552; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8424; c) D. H. Lee, K. Severin, Y. Yokobayashi, M. R. Ghadiri, *Nature* **1997**, 390, 591; d) G. Ashkenasy, R. Jagasia, M. Yadav, M. R. Ghadiri, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 10872.
- [17] A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 5; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 5.
- [18] Y. Yamada, D. Miljkovic, P. Wehrli, B. Golding, P. Löliger, R. Keese, K. Müller, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1969**, 81, 301; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, 8, 343; A. Eschenmoser, *Pure Appl. Chem.* **1969**, 20, 1. Über die röntgenstrukturanalytische Charakterisierung von A/D-Secocorrin- und Corrin-

- Komplexen beider Corrin synthese-Modellreihen vgl. J. D. Dunitz, E. F. Meyer, Jr., *Proc. R. Soc. A* **1965**, 288, 324; J. D. Dunitz, E. F. Meyer, Jr., *Helv. Chim. Acta* **1971**, 54, 77; M. Dobler, J. D. Dunitz, *Helv. Chim. Acta* **1971**, 54, 90; M. Currie, J. D. Dunitz, *Helv. Chim. Acta* **1971**, 54, 98.
- [19] a) „Roads to Corrin“, A. Eschenmoser, *Quart. Revs.* **1970**, 24, 366; b) „Studies on Organic Synthesis“: A. Eschenmoser in *23rd Int. Congress of Pure and Applied Chemistry, IUPAC, Supplement Vol. 2*, Butterworths, London, **1971**, S. 69; c) „Chemical Synthesis of Corrinoids: Current Problems and Recent Advances“: A. Eschenmoser in *Vitamin B<sub>12</sub>* (Hrsg.: B. Zagalak, W. Friedrich), Walter de Gruyter, Berlin, **1979**, S. 89–117; d) „Über organische Naturstoffsynthese: Von der Synthese des Vitamins B<sub>12</sub> zur Frage nach dem Ursprung der Corrinstruktur“: A. Eschenmoser, *Nova Acta Leopold.* **1982**, 55, 5.
- [20] a) W. Fuhrer, P. Schneider, W. Schilling, H. Wild, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Chimia* **1972**, 26, 320; H. Maag, N. Obata, A. Holmes, P. Schneider, W. Schilling, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Chimia* **1972**, 26, 320; b) A. Eschenmoser, *Naturwissenschaften* **1974**, 61, 513; c) A. Eschenmoser, C. Wintner, *Science* **1977**, 196, 1410. In der letztgenannten Publikation sind im Zusammenhang mit der dort in Abbildung 16 gegebenen Zusammenfassung der photochemischen Variante der Synthese von Vitamin B<sub>12</sub> sämtliche (im Druck erschienenen) Dissertationen aufgeführt, welche die von der ETH-Gruppe im Zusammenhang mit der Synthese von Vitamin B<sub>12</sub> durchgeführten Experimente beschreiben. Alle Dissertationen sind unter dem Namen des jeweiligen Autors im Internet unter <http://www.e-collection.ethbib.ethz.ch> als Volltext (in Deutsch) abrufbar. Es sind dies die Dissertationen von Jost Wild (Diss. ETH Nr. 3492; **1964**), Urs Locher (Nr. 3611; **1964**), Alexander Wick (Nr. 3617; **1964**), Peter Löliger (Nr. 4074; **1968**), René Wiederkehr (Nr. 4239; **1968**), Paul Dubs (Nr. 4297; **1969**), Peter Schneider (Nr. 4819; **1972**), Hans Maag (Nr. 5173; **1973**), Walter Fuhrer (Nr. 5158; **1973**) und Werner Schilling (Nr. 5352; **1974**). Sie enthalten die detaillierte Beschreibung der experimentellen Durchführung der in Abbildung 16 von Lit. [20c] formulierten Reaktionsstufen unter Einschluss der experimentellen Beiträge von Dr. Jakob Schreiber sowie folgender, an diesem Teil des Vitamin-B<sub>12</sub>-Projekts beteiligter Mitarbeiter: Dr. Bernard Golding, Dr. Andrew Holmes, Prof. Dr. Naruyoshi Obata, Dr. Naoto Hashimoto, Dr. Heinz Gschwend, Dr. Fritz Karrer, Dr. Dan Becker, Dr. Walter Hunkeler, Dr. John Gleason und Dr. Brian Place.
- [21] W. Fuhrer, „Totalsynthese von Vitamin B<sub>12</sub>: Der photochemische Weg“, Diss. ETH Zürich, Nr. 5158, **1973**, (312 S.).
- [22] a) R. Neier, „Ueber den Mechanismus der photochemischen A/D-Secocorrin-Corrin-Cycloisomerisierung“, Diss. ETH Zürich, Nr. 6178, **1978**, (179 S.). b) H.-J. Wild, „Die Synthese von Corrin-Komplexen durch photochemische A/D-Cycloisomerisierung“, Diss. ETH Zürich, Nr. 4848, **1972**, (142 S.).
- [23] M. Gardiner, A. J. Thomson, *J. Chem. Soc. Dalton* **1974**, 820.
- [24] A. Eschenmoser, *Chem. Soc. Rev.* **1976**, 5, 377.
- [25] a) A. Pfaltz, B. Hardegger, P. M. Müller, S. Farooq, B. Kräutler, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1975**, 58, 1444; b) B. Kräutler, A. Pfaltz, R. Nordmann, K. O. Hodgson, J. D. Dunitz, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1976**, 59, 924; c) A. Pfaltz, N. Bühler, R. Neier, K. Hirai, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1977**, 60, 2653.
- [26] a) V. Rasetti, A. Pfaltz, C. Kratky, A. Eschenmoser, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, 78, 16; b) V. Rasetti, K. Hilpert, A. Fässler, A. Pfaltz, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1981**, 93, 1108; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, 20, 1058.
- [27] R. B. Woodward, *Pure Appl. Chem.* **1968**, 17, 519; R. B. Woodward, *Pure Appl. Chem.* **1971**, 25, 283; R. B. Woodward, *Pure Appl. Chem.* **1973**, 33, 145; „Synthetic Vitamin B<sub>12</sub>“: R. B. Woodward in *Vitamin B<sub>12</sub>* (Hrsg.: B. Zagalak, W. Friedrich), Walter de Gruyter, Berlin, **1979**, S. 37–87.
- [28] G. H. Cookson, C. Rimington, *Biochem. J.* **1954**, 57, 476; D. Mauzerall, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 2601.
- [29] G. Ksander, G. Bold, R. Lattmann, C. Lehmann, T. Fröh, Y.-B. Xiang, K. Inomata, H. P. Buser, J. Schreiber, E. Zass, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1987**, 70, 1115.
- [30] J. E. Johansen, V. Piermattie, C. Angst, E. Diener, C. Kratky, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1981**, 93, 273; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, 20, 261; R. Waditschatka, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1983**, 95, 639; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, 22, 630.
- [31] „Chemistry of Corphinoids“: A. Eschenmoser, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1986**, 471, 108.
- [32] A. P. Johnson, P. Wehrli, R. Fletcher, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1968**, 80, 622; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 623; P. M. Müller, S. Farooq, B. Hardegger, W. S. Salmond, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1973**, 85, 914; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1973**, 85, 954.
- [33] C. Kratky, R. Waditschatka, C. Angst, J. E. Johansen, J. C. Plaquevent, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1985**, 68, 1312.
- [34] F. Kreppelt, „Regioselektive Rekonstituierung von Vitamin B<sub>12</sub> durch Nukleotidierung von Cobyrinsäure-heptakis(cyanmethyl)ester“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9458, **1991**. In diese Dissertation eingebaut sind die experimentellen Beiträge von Günter Bartels (Postdoktorat 1980–1981) und Rolf Nussberger (Doktorand, gest. 21.7.1985).
- [35] Bernhard Kräutler, damals Habilitand an der ETH, hat im Anschluss an diese Arbeiten die Stabilitätsunterschiede durch regioselektive Synthesen der drei alternativen Nukleotid-Loops und Bestimmung der entsprechenden „base-on/base-off“-Gleichgewichte experimentell untersucht (unpubliziert; persönliche Mitteilung Prof. Kräutler, Innsbruck). Von Belang für die Ätiologie des B<sub>12</sub>-Nukleotid-Loops ist auch die Kräutler'sche Entdeckung des „Nor-Pseudovitamins B<sub>12</sub>“ aus *Sulfurospirillum multivorans*, welchem – abgesehen von der unterschiedlichen Nukleobase – die C-Methylgruppe am Nukleotid-Loop fehlt. Vgl. auch die in diesem Zusammenhang durchgeführten Untersuchungen über den Einfluss dieser Methylgruppe auf das „base-on/base-off“-Gleichgewicht im Vitamin B<sub>12</sub> (P. Butler, M.-O. Ebert, A. Lyskowski, K. Gruber, C. Kratky, B. Kräutler, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1004; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 989), ferner die Arbeit von Felix Zelder über B<sub>12</sub>-Mimetika (K. Zhou, F. Felder, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 5305; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 5178), sowie die Beobachtungen von Kräutler über das kürzlich von ihm synthetisierte „Iso-Vitamin B<sub>12</sub>“ (S. Murtaza, M. Ruetz, K. Gruber, B. Kräutler, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 10984).
- [36] A. R. Battersby, *Science* **1994**, 264, 1551; F. Blanche, B. Cameron, J. Crouzet, L. Debussche, D. Thibaut, M. Vuilhorgne, F. J. Leeer, A. R. Battersby, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 421; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 383.
- [37] A. I. Scott, *Acc. Chem. Res.* **1990**, 23, 308; A. I. Scott, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1281; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1223; A. I. Scott, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 2529.
- [38] A. Fässler, „Synthese und Eigenschaften von Modellkomplexen des Coenzym F-430“, Diss. ETH Zürich, Nr. 7799, **1985** (S. 81–84; 201–207).
- [39] K. Hilpert, „Synthetische Untersuchungen zur Biosynthese des Corrin systems“, Diss. ETH Zürich, Nr. 7390, **1983**.
- [40] G. L. Holliday, J. M. Thorton, A. Marquet, A. G. Smith, F. Rébeillé, R. Mendel, H. L. Schubert, A. D. Lawrence, M. J. Warren, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, 24, 972.
- [41] R. Waditschatka, E. Diener, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1983**, 95, 641; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, 22, 631; C.

- Leumann, K. Hilpert, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, 1401.
- [42] R. E. Eakin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1963**, *49*, 360; „Polynucleotide Replication and the Origin of Life“: L. E. Orgel, J. E. Sulston in *Prebiotic and Biochemical Evolution* (Hrsg.: A. P. Kimball, J. Oro), North-Holland, Amsterdam, **1971**, S. 89–94; B. White, *J. Mol. Evol.* **1976**, *7*, 101.
- [43] H. von Döbeneck, B. Hansen, E. Vollmann, *Z. Naturforsch. B* **1972**, *27*, 922.
- [44] J. J. Scott, *Biochem. J.* **1956**, *62*, 6P; S. Granick, D. Mauzerall, *J. Biol. Chem.* **1958**, *232*, 1119; A. I. Scott, A. Townsend, K. Okada, M. Kajiura, *Trans. N. Y. Acad. Sci.* **1973**, *35*, 72; B. Franck, H. Stratmann, *Heterocycles* **1981**, *15*, 919; A. R. Butler, S. D. George, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 7879; R. Neier, *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, *37*, 487; J. S. Lindsey, V. Chandrasekhar, M. Taniguchi, M. Ptasek, *New J. Chem.* **2011**, *35*, 65.
- [45] S. I. Beale, M. H. Gold, S. Granick, *Phytochemistry* **1979**, *18*, 441.
- [46] T. Fröh, „Zur Chemie der Uroporphyrinogen-octanitrile“, Diss. ETH Zürich, Nr. 8054, **1986**.
- [47] C. Lehmann, „Untersuchungen über Uroporphyrinogen-octanitrile“, Diss. ETH Zürich, Nr. 8215, **1987**; C. Lehmann, B. Schweizer, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1412.
- [48] T. Oberhauser, „Untersuchungen über Pyrrocorphine“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9741, **1992**.
- [49] P. M. Müller, „Corphin: ein neuartiges porphyrinoid-corrinoides Ligandensystem“, Diss. ETH Zürich, Nr. 5135, **1973**.
- [50] K. Zimmermann, „Vergleichende Untersuchungen an Cobaltcorphin- und Cobaltcorrin-komplexen“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9038, **1989**.
- [51] J. Halpern, *Science* **1985**, *227*, 869; vgl. auch Halpern's Arbeit „Why does Nature not use the Porphyrin Ligand in Vitamin B<sub>12</sub>?“ (M. K. Geno, J. Halpern, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1238).
- [52] B. P. Hay, R. G. Finke, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4820; B. P. Hay, R. G. Finke, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 8012.
- [53] R. P. Gunsalus, R. S. Wolfe, *FEMS Microbiol. Lett.* **1978**, *3*, 191; P. Schönheit, J. Moll, R. K. Thauer, *Arch. Microbiol.* **1979**, *123*, 105; G. Diekert, B. Klee, R. K. Thauer, *Arch. Microbiol.* **1980**, *124*, 103.
- [54] A. Pfaltz, B. Jaun, A. Fässler, A. Eschenmoser, R. Jaenchen, H. H. Gilles, G. Diekert, R. K. Thauer, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 828; D. A. Livingston, A. Pfaltz, J. Schreiber, A. Eschenmoser, D. Ankel-Fuchs, J. Moll, R. Jaenchen, R. K. Thauer, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 334; A. Fässler, A. Kobelt, A. Pfaltz, A. Eschenmoser, C. Bladon, A. R. Battersby, R. K. Thauer, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 2287.
- [55] G. Färber, W. Keller, C. Kratky, B. Jaun, S. Spinner, A. Kobelt, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 697.
- [56] A. Fässler, A. Pfaltz, B. Kräutler, A. Eschenmoser, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1365; C. Kratky, A. Fässler, A. Pfaltz, B. Kräutler, B. Jaun, A. Eschenmoser, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1368.
- [57] S. Scheller, M. Goenrich, R. Boecher, R. K. Thauer, B. Jaun, *Nature* **2010**, *465*, 606; S. Scheller, M. Goenrich, S. Mayr, R. K. Thauer, B. Jaun, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8289; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8112; B. Jaun, R. K. Thauer, *Met. Ions Life Sci.* **2007**, *2*, 323; B. Jaun, R. K. Thauer, *Met. Ions Life Sci.* **2009**, *4*, 115.
- [58] A. Lazcano, R. Guerrero, L. Margulis, J. Oro, *J. Mol. Evol.* **1988**, *27*, 283.
- [59] „Prospects for Understanding the Origin of the RNA World“ G. F. Joyce, L. E. Orgel in *The RNA World*, 2nd ed. (Hrsg.: R. F. Gesteland, T. R. Cech, J. F. Atkins), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, **1999**, S. 49.
- [60] D. Müller, S. Pitsch, A. Kittaka, E. Wagner, C. E. Wintner, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1410.
- [61] A. Butlerow, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1861**, *53*, 145; A. Butlerow, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1861**, *120*, 295; vgl. eine Zusammenstellung der Literatur über die Formose-Reaktion in Lit. [60].
- [62] R. Shapiro, *Origins Life Evol. Biosphere* **1988**, *18*, 71.
- [63] P. Decker, H. Schweer, R. Pohlmann, *J. Chromatogr.* **1982**, *244*, 281.
- [64] J. D. Bernal, *The Physical Basis of Life*, Routledge and Kegan Paul, London, **1951**.
- [65] Analyse der Aldolisierungs-Produktgemische durch Entsalzung an Ionenaustauscher, Entphosphorylierung mittels alkalischer Phosphatase, Reduktion mit überschüssigem NaBH<sub>4</sub> bei Raumtemperatur, Peracetylierung des Zuckeralkohol-Gemischs mit Acetanhydrid in Pyridin bei 100 °C und gaschromatographische Analyse des Gemisches der Zuckeralkoholacetate. Komplementär zur GC-Analyse wurden, nach Entsalzung und Entphosphorylierung, die Gemische der freien Zucker auch NMR-spektroskopisch analysiert (für Details vgl. Lit. [60]).
- [66] J. L. Miller, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1987**, *52*, 17.
- [67] G. Zubay, *Origins Life Evol. Biosphere* **1988**, *28*, 13.
- [68] A. Ricardo, M. A. Carrigan, A. N. Olcott, S. A. Benner, *Science* **2004**, *303*, 165; Q. Li, A. Ricardo, S. A. Benner, J. D. Winefordner D. H. Powell, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 4503. Vgl. auch B. E. Prieur, *C. R. Acad. Sci. Ser. IIc* **2001**, 667; A. F. Amaral, M. M. Marques, J. A. L. da Silva, J. J. F. Frausto da Silva, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 2043; E. S. Grew, J. L. Bada, R. M. Hazen, *Origins Life Evol. Biosphere* **2011**, DOI: 10.1007/s11084-010-9233-y.
- [69] G. Quinkert, E. Egert, C. Griesinger, *Apekte der Organischen Chemie – Struktur*, Verlag Helvetica Chimica Acta, Basel, **1995**, S. 102; G. Quinkert, E. Egert, C. Griesinger, *Apepts in Organic Chemistry – Structure*, Verlag Helvetica Chimica Acta, Basel, **1996**, S. 101.
- [70] Zur Bildung eines Alloose-Derivats als Hauptprodukt der Aldolisierung eines acetalisch geschützten Glycolaldehyd-Derivats vgl. Lit. [116].
- [71] TSRI = The Scripps Research Institute; SIO = Scripps Institute of Oceanography.
- [72] K. Kuma, B. Gedulin, B. Paplawski, G. Arrhenius, *Origins Life Evol. Biosphere* **1989**, *19*, 573.
- [73] S. Pitsch, A. Eschenmoser, H. Gedulin, S. Hui, G. Arrhenius, *Origins Life Evol. Biosphere* **1995**, *25*, 297.
- [74] R. Krishnamurthy, S. Pitsch, G. Arrhenius, *Origins Life Evol. Biosphere* **1999**, *29*, 139.
- [75] Vgl. die präparative Herstellung von Glycolaldehydphosphat durch Ozonolyse von Allylphosphat in Lit. [60], zit. Lit.
- [76] S. Drenkard, J. Ferris, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1373; E. Wagner, Y.-B. Xiang, K. Baumann, J. Gück, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1391; Y.-B. Xiang, S. Drenkard, K. Baumann, E. Hickey, C. Griesinger, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 2209; J. E. Dickens, W. M. Irvine, M. Ohishi, G. Arrhenius, S. Pitsch, A. Bauder, F. Müller, A. Eschenmoser, *Origins Life Evol. Biosphere* **1996**, *26*, 97.
- [77] S. Pitsch, E. Pombo-Villar, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 2251; vgl. auch S. Pitsch, A. Eschenmoser, *Pol. J. Chem.* **1994**, *68*, 2383.
- [78] R. Krishnamurthy, S. Pitsch, unveröffentlichte Arbeiten am SIO.<sup>[71]</sup>
- [79] Vgl. die Literaturübersicht in Lit. [81].
- [80] R. Krishnamurthy war im Zusammenhang mit seinen Versuchen zur Phosphorylierung von Glycolaldehyd am SIO bei einer Literaturrecherche über Phosphorylierungen mit Cyclo-triphosphat auf dessen leicht zugängliches Ammonolysepro-

- dukt gestoßen (vgl. nachstehend). Später, am TSRI, war die Kenntnis dieser Literaturstelle die Voraussetzung und der Ausgangspunkt dafür, dass die in Abbildung 20 erläuterte Möglichkeit einer intramolekularen Phosphorylierung erkannt und experimentell geprüft wurde. O. T. Quimby, T. J. Flautt, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1958**, 296, 220; V. W. Feldmann, E. Z. Thilo, *Z. Anorg. Chem.* **1964**, 328, 113.
- [81] R. Krishnamurthy, G. Arrhenius, A. Eschenmoser, *Origins Life Evol. Biosphere* **1999**, 29, 333.
- [82] R. Krishnamurthy, S. Guntha, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 2369; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2281.
- [83] F. Westheimer, *Science* **1987**, 235, 1173.
- [84] A. Eschenmoser, *Science* **1999**, 284, 2118.
- [85] Als „informationell“ soll hier ein molekulares System bezeichnet werden, das *potentiell* zu einer Vielfalt konstitutioneller Ausprägungen und (im Prinzip) zu deren konstitutions- (und somit „informations“-)getreuen Replikation fähig ist.
- [86] H.-J. Roth, „Synthese von Pyranose-Nukleosiden aus Pyrimidin-Basen“, Diplomarbeit ETH Zürich, **1986**; J. Hunziker, „Synthese von Purin-Hexose-Nucleosiden“, Diplomarbeit ETH Zürich, **1986**.
- [87] Die erste Beobachtung über die Paarungseigenschaften der homo-DNA geht zurück auf das Jahr 1988. Sie bestand in der (damals überraschenden und irritierenden) Feststellung, dass das homobasische Adenin-Hexamer für sich allein dieselbe UV-Schmelzkurve zeigt wie im 1:1-Gemisch mit dem homobasischen Uracil-Hexamer (Selbstpaarung des homo-dA<sub>6</sub>; *T<sub>m</sub>* ≈ 46 °C; ca. 6 μM, 0.15 M NaCl, pH 7.0; UV 260 nm; maximale Hyperchromizität um 6 %). Über die Synthese und Paarungseigenschaften von homo-DNA-Oligonukleotiden wurde vor deren ersten und zugleich endgültigen Publikation<sup>[98,99]</sup> in mehreren Vorträgen berichtet, erstmals auf dem IUPAC-Kongress über Naturstoffe in Kyoto (2.6.1988; Selbstpaarung von homo-dA<sub>6</sub>), auf der Bürgenstock-Konferenz über Stereochemie (4.5.1989) sowie auf der Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Bern (20.10.1989). Drei der im Laufe der Jahre 1990 und 1991 gehaltenen Vorträge sind im Druck erschienen.<sup>[88]</sup>
- [88] „Kon-Tiki-Experimente zur Frage nach dem Ursprung von Biomolekülen“ A. Eschenmoser in *Materie und Prozesse. Vom Elementaren zum Komplexen* (Hrsg.: W. Gerok et al.), Wiss. Verlagsges., Stuttgart, **1991**, S. 135, Verh. Ges. Dtsch. Naturforsch. Aerzte, 116. Vers. Berlin, **1990**; „Warum Pentose- und nicht Hexose-Nukleinsäuren?“ A. Eschenmoser, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1991**, 39, 795 (das im Vorspann des Redakteurs zu dieser Publikation erwähnte Vortragsdatum (9.11.1991) ist ein Druckfehler und sollte 9.11.1990 heißen); „Chemie potentiell präbiologischer Naturstoffe“ A. Eschenmoser, *Nova Acta Leopoldina* **1992**, 67, 201–233 (englische Version in Lit. [126]).
- [89] Dieser Aussage liegt die Auffassung zugrunde, dass die Struktur einer 2,3-Didesoxyhexose, obwohl äußerlich einfacher, aus ätiologischer Sicht komplexer ist als eine entsprechende natürliche Hexose. 2,3-Didesoxyhexosen sind nicht Produkte einer (potentiell präbiotischen) Formose-Reaktion.
- [90] A. Eschenmoser, M. Dobler, *Helv. Chim. Acta* **1992**, 75, 218; vgl. auch die Ergänzung in Lit. [98], Fussnote 17 auf S. 1448, sowie in Lit. [99], Schema 19 auf S. 340.
- [91] Vgl. in diesem Zusammenhang die am Ausgangspunkt der Arbeiten von P. Herdewijn über Pyranose-NAs gestandenen theoretischen Modellierungen: H. L. De Winter, N. M. Blaton, O. M. Peeters, C. J. De Ranter, A. Van Aerschot, P. Herdewijn, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1991**, 47, 835, 838, 1693, 2245.
- [92] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, 171, 738.
- [93] „Fifty Years with Double-Stranded RNA“ A. Rich, *Scientist* **2006**, 34.
- [94] S. K. Singh, P. Nielsen, A. A. Koshkin, J. Wengel, *Chem. Commun.* **1998**, 455; A. A. Koshkin, P. Nielsen, M. Meldgard, V. K. Rajwanshi, S. K. Singh, J. Wengel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 13252; vgl. auch S. Obika, D. Nanbu, Y. Hari, K. Morio, Y. In, T. Ishida, T. Imanishi, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8735; S. Obika, D. Nanbu, Y. Hari, J. Andoh, K. Morio, T. Doi, T. Imanishi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5401.
- [95] A. Van Aerschot, O. Verheggen, C. Hendrix, P. Herdewijn, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1483; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1338; A. Augustyns, F. Vandendriessche, A. Van Aerschot, R. Busson, C. Urbanke, P. Herdewijn, *Nucleic Acids Res.* **1992**, 20, 4711; R. Declercq, A. Van Aerschot, R. J. Read, P. Herdewijn, L. Van Meervelt, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 928.
- [96] G. Otting, M. Billeter, K. Wüthrich, H.-J. Roth, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 2701.
- [97] M. Egli, P. S. Pallan, R. Pattanayek, C. J. Wilds, P. Lubini, G. Misanov, M. Dobler, C. Leumann, A. Eschenmoser, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 10847.
- [98] M. Böhringer, H.-J. Roth, J. Hunziker, M. Göbel, R. Krishnan, A. Giger, B. Schweizer, J. Schreiber, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1992**, 75, 1416.
- [99] J. Hunziker, H.-J. Roth, M. Böhringer, A. Giger, U. Diederichsen, M. Göbel, R. Krishnan, B. Jaun, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 259.
- [100] K. Groebke, J. Hunziker, W. Fraser, L. Peng, U. Diederichsen, K. Zimmermann, A. Holzner, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1998**, 81, 375.
- [101] Zusätzliche experimentelle Daten über die Herstellung und Eigenschaften von homo-DNA-Oligonukleotiden finden sich in den folgenden Dissertationen (zugänglich unter <http://www.e-collection.ethbib.ethz.ch> und den Autoren-Namen): H.-H. Roth, „Homo-DNS: Herstellung, Paarungseigenschaften und Struktur von Adenin/Thymin-haltigen Oligonukleotiden“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9591, **1991**; M. Böhringer, „Synthese und strukturelle Charakterisierung von Adenin-Oligonukleotiden mit 2',3'-Dideoxy-D- und L-Glucopyranosen als Zuckereinheiten“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9377, **1991**; J. Hunziker, „Homo-DNA: Herstellung und Paarungseigenschaften von Guanin-haltigen Oligonukleotiden“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9814, **1992**; Ling Peng, „1. Synthese und Eigenschaften von Oligo-2'-Desoxy-1',2',-seco-D-Ribonukleotiden. – 2. Purin-Purin-gepaarte Oligonukleotide der homo-DNA Reihe“, Diss. ETH Zürich, Nr. 10035, **1993**, sowie in den Dissertationen von A. Giger<sup>[121]</sup> und K. Groebke.<sup>[102]</sup>
- [102] K. Groebke, „Ueber Purin-Purin-Paarungen bei Hexopyranose-Nukleinsäuren“, Diss. ETH Zürich, Nr. 10149, **1993**. Für eine neuere Arbeit zur Watson-Crick-Purin-Purin-Paarung in der DNA-Reihe vgl. B. D. Heuberger, C. Switzer, *ChemBioChem* **2008**, 9, 2779.
- [103] M. Tarköy, M. Bolli, B. Schweizer, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 481; M. Tarköy, C. Leumann, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 1516; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1432.
- [104] C. Leumann, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 841.
- [105] Die von Herdewijn<sup>[107]</sup> als „erstmalige Untersuchungen über konformationell eingeschränkte Oligonukleotide“ deklarierten Arbeiten von M. Ikehara et al. (über 2',8-Cyclooligonukleotidderivate (M. Ikehara, 1980) beziehen sich nicht auf die Präorganisation des Oligonukleotid-Rückgrats (M. Ikehara, S. Uesugi, T. Shida, *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, 28, 189).
- [106] K. Augustyns, A. Van Aerschot, C. Urbanke, P. Herdewijn, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1992**, 101, 119.
- [107] P. Herdewijn, *Ann. Chem.* **1996**, 1337 (Review).
- [108] P. Herdewijn, *Chem. Biodiversity* **2010**, 7, 1 (Review).
- [109] M. Froeyen, E. Lescrenier, L. Kerremans, H. Rosemeyer, F. Seela, B. Verbeure, I. Lagoja, J. Rozanski, A. Van Aerschot, R. Busson, P. Herdewijn, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 5183.

- [110] Die ursprüngliche „homo-DNA“ mit  $\beta$ -ständiger (äquatorialer) Nukleobase hat Herdewijn<sup>[109]</sup> zwecks Unterscheidung von der anomeren  $\alpha$ -homo-DNA in  $\beta$ -homo-DNA umbenannt.
- [111] E. Lescrinier, M. Froeyen, P. Herdewijn, *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 2975 (Review); K. Nauwelaerts, E. Lescrinier, P. Herdewijn, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 90.
- [112] Die (geringe) Paarungsfähigkeit von Adenin- und Thyminhaltigen Oligonukleotiden der  $\alpha$ -homo-DNA-Reihe war an der ETH von R. P. Hammer<sup>[122]</sup> beobachtet worden; die Ergebnisse dieser Arbeiten sind in der Dissertation von A. Giger<sup>[121]</sup> beschrieben.
- [113] C. Leumann, *Chimia* **2001**, *55*, 295 (Review).
- [114] T. Imanishi, S. Obika, *Chem. Commun.* **2002**, 1653.
- [115] J. Wengel, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 301.
- [116] C. R. Noe, M. Knollmüller, P. Ettmayer, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 417; C. R. Noe, M. Knollmüller, P. Ettmayer, J. Freismuth, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 611.
- [117] R. W. Fischer, A. G. Helg, K. Groebke, U. Diederichsen, A. Giger, R. Hammer, R. Krishnamurthy, C. Miculka, P. Seiler, B. Jaun, S. Pitsch, C. Leumann, A. Eschenmoser, unveröffentlicht.
- [118] R. W. Fischer, „Allopyranosyl-Nukleinsäure: Synthese, Paarungseigenschaften und Struktur von Adenin/Uracil-haltigen Oligonukleotiden“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9971, **1992**.
- [119] A. G. Helg, „Allopyranosyl-Nukleinsäure: Synthese, Paarungseigenschaften und Struktur von Guanin/Cytosin-enthaltenden Oligonukleotiden“, Diss. ETH Zürich, Nr. 10464, **1994**.
- [120] U. Diederichsen, „A. Hypoxanthin-Basenpaarungen in homo-DNA Oligonukleotiden. – B. Zur Frage des Paarungsverhaltens von Glucopyranosyl-Oligonukleotiden“, Diss. ETH Zürich, Nr. 10122, **1993**.
- [121] A. Giger, „Untersuchungen über Oligonukleotide mit 2-Desoxy-D-ribose, 2,3-Didesox-D-Glucopyranose und D-Allopyranose als Zuckerbausteine“, Diss. ETH Zürich, Nr. 9975, **1992**.
- [122] Robert Hammer, Postdoktorat ETH Zürich, **1990–1992**.
- [123] Ramanarayanan Krishnamurthy, Postdoktorat ETH Zürich, **1992–1994**.
- [124] Christian Miculka, Postdoktorat, Institut für Pharmazie (Direktion Prof. Christian Noe), Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/M., **1993–1995**.
- [125] Alle hier aufgeführten (seinerzeit im Druck erschienenen) Dissertationen sind im Internet unter <http://www.e-collection.ethbib.ethz.ch> im Volltext (Deutsch) zugänglich.
- [126] „Chemistry of Potentially Prebiological Natural Products“: A. Eschenmoser, E. Loewenthal, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, *21*, 1; A. Eschenmoser, *Nova Acta Leopold.* **1992**, *67*, 201.
- [127] „Hexose Nucleic Acids“: A. Eschenmoser, *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 1179.
- [128] „Towards a Chemical Etiology of the Natural Nucleic Acids Structure“: A. Eschenmoser in *Chemical Synthesis: Gnosis to Prognosis* (Hrsg.: C. Chatgililoglu, V. Snieckus), Kluwer, Dordrecht, **1996**, 293 (*NATO ASI Ser. Ser. E, Vol. 320*).
- [129] Die experimentellen Details zur Herstellung von Nukleotiden und Oligonukleotiden der Alloose-Reihe finden sich in: Lit. [118], S. 208–288, Lit. [119], S. 257–347, Lit. [121], S. 215–252; der Altrose-Reihe in: Lit. [102], S. 351–394; der Glucose-Reihe in: Lit. [120], S. 212–282.
- [130] Die aus den Eigenschaften der Allo-, Altro- und Gluco-Varianten der Hexopyranose-Reihe gefolgerte Untauglichkeit solcher Oligomersysteme, als potentiell genetische Systeme in Frage gekommen zu sein, ist in der Retrospektive aufgrund der in einer späteren Phase unserer Arbeiten in der Reihe der aus Pentopyranosen sich ableitenden Systeme gemachten Erfahrungen (vgl. Abschnitt 4.6) nur bedingt auf die gesamte Familie der Hexopyranosyl-Alternativsysteme extrapolierbar.
- [131] „Zu viele Noten“: Kaiser Josef II zu Wolfgang Amadeus Mozart nach Anhörung der Oper „Die Hochzeit des Figaro“ im Theaterstück und Film „Amadeus“ (Peter Shaffer 1979, Milos Forman 1984).
- [132] H. Moser, A. Fliri, A. Steiger, G. Costello, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1224.
- [133] S. Pitsch, S. Wendeborn, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 2161.
- [134] S. Pitsch, R. Krishnamurthy, M. Bolli, S. Wendeborn, A. Holzner, M. Minton, C. Lesueur, I. Schlönvogt, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1621.
- [135] R. Krishnamurthy, S. Pitsch, M. Minton, C. Miculka, N. Windhab, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1619; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1537.
- [136] I. Schlönvogt, S. Pitsch, C. Lesueur, A. Eschenmoser, B. Jaun, R. M. Wolf, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1249.
- [137] R. Micura, M. Bolli, N. Windhab, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 899; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 870; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 870.
- [138] M. Bolli, R. Micura, A. Eschenmoser, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 309.
- [139] M. Bolli, R. Micura, S. Pitsch, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 1901.
- [140] R. Micura, R. Kudick, S. Pitsch, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 715; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 680.
- [141] S. Pitsch, S. Wendeborn, R. Krishnamurthy, A. Holzner, M. Minton, M. Bolli, C. Miculka, N. Windhab, R. Micura, M. Stanek, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 4270.
- [142] S. Ilin, I. Schlönvogt, M.-O. Ebert, B. Jaun, H. Schwalbe, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 93.
- [143] R. Naylor, P. T. Gilham, *Biochemistry* **1966**, *5*, 2722.
- [144] L. E. Orgel, *Nature* **1992**, *358*, 203; A. R. Hill, L. E. Orgel, T. Wu, *Origins Life Evol. Biosphere* **1993**, *23*, 285.
- [145] Das Modell der Abbildung 45 verdanke ich Dr. Romain Wolf, vormals Ciba-Geigy AG, Basel.
- [146] D. A. Usher, A. H. Hale, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**, *73*, 1149.
- [147] Im Gegensatz zur Aktivierung über das (2',3')-Cyclophosphat führte die Aktivierung über das isomere p-RNA-(3',4')-Cyclophosphat unter gleichen Reaktionsbedingungen zu keinerlei Ligation.<sup>[139]</sup>
- [148] Es sind dies die Diastereomere 4'-pr-DDDD, 4'-pr-LDDD, 4'-pr-DLDD, 4'-pr-DDLD, 4'-pr-DDDL, 4'-pr-DDLL, 4'-pr-DLDD, 4'-pr-LDDL; vgl. Lit. [149].
- [149] pr = „pyrano-ribo“; L = L-Chiralität, D = D-Chiralität des Ribopyranose-Bausteins.
- [150] Dies entspricht der Chiroselektivitätslücke, wie sie auch bei der Ligation von Tetramer-2',3'-cyclophosphaten an Octamer-Templaten beobachtet wurde.
- [151] Über ein Beispiel des Versuchs einer HPL-chromatographischen Charakterisierung einer kombinatorischen Oligomerisation (4'-DTCCG-cp + 4'-GCCG-cp, D = 2-Aminoadenin) vgl. Abbildung 5 in Lit. [138].
- [152] a) M. M. Green, B. A. Garetz, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2831; b) J. Siegel, *Chirality* **1998**, *10*, 24.
- [153] M. Renz, R. Lohrman, L. E. Orgel, *Biochim. Biophys. Acta Nucleic Acids Protein Synth.* **1971**, *240*, 463.
- [154] K. L. Agarwal, H. Büchi, M. H. Caruthers, N. Gupta, H. G. Khorana, K. Kleppe, A. Kumar, E. Ohtsuka, U. L. Rajbhandary, J. H. Van de Sande, V. Sgaramella, H. Weber, T. Yamada, *Nature* **1970**, *227*, 27.
- [155] G. Karig, A. Fuchs, A. Büsing, T. Brandstetter, S. Scherer, J. W. Bats, A. Eschenmoser, G. Quinkert, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1049; H. Schwalbe, J. Wermuth, C. Richter, S. Szalma, A. Eschenmoser, G. Quinkert, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1079.
- [156] a) 2'-Desoxyxylofuranose-NA („Xylo-DNA“): H. Rosemeyer, M. Krecmerova, F. Seela, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 2054; A. Schöppe, H.-J. Hinz, H. Rosemeyer, *Eur. J. Biochem.* **1996**, *239*, 33; F. Seela, M. Heckel, H. Rosemeyer, *Helv. Chim. Acta* **1996**,

- 79, 1451); vgl. auch N. E. Poopeiko, M. Juhl, B. Vester, M. D. Sorensen, J. Wengel, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2285; A. Ramaswamy, M. Froeyen, P. Herdewijn, A. Ceulemans, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 587; b) Arabinofuranose-NA: P. A. Giannaris, M. J. Damha, *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 909; A. Y. Denisov, A. M. Noronha, D. J. Wilds, J.-F. Trempe, R. T. Pon, K. Gehring, M. J. Damha, *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 4284; c) (5'→2')-RNA: D. A. Usher, A. H. McHale, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**, *73*, 1149; R. Kierzek, L. He, D. H. Turner, *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 1685; K.-E. Jung, C. Switzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6059; B. J. Premraj, S. Raja, N. S. Bhavesh, K. Shi, R. V. Hosur, M. Sundaralingam, N. Ybathindra, *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 2956; d)  $\alpha$ -Anomer von RNA: F. Debart, G. Tosquellas, B. Rayner, J.-L. Imbach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1041; M. J. Damha, P. A. Giannaris, P. Marfey, *Biochemistry* **1994**, *33*, 7877; e) (5'→2')-DNA: J. P. Dougherty, C. J. Rizzo, R. C. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6254; T. L. Sheppard, R. C. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9810.
- [157] M. Beier, F. Reck, T. Wagner, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Science* **1999**, 283, 699.
- [158] M.-O. Ebert, A. Luther, H. K. Huynh, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, B. Jaun, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 4055.
- [159] O. Jungmann, M. Beier, A. Luther, H. K. Huynh, M.-O. Ebert, B. Jaun, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 1259.
- [160] O. Jungmann, H. Wippo, M. Stanek, H. K. Huynh, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1527. In allen vier Pentopyranosylsystemen kommt die relativ starke Selbstpaarung der Sequenzen 4'-TATTTTAA und 4'-TTAAAATA vermutlich durch eine Verschiebung des Ableserahmens wie folgt zustande: durch „upstream“-Verschiebung um jeweils eine Einheit ergeben sich in beiden Sequenzen vier A/T-Paare, drei T/T- bzw. drei A/A-Mismatches und je eine Stapelung einer überhängenden Base A bzw. T an den 2'-Enden.
- [161] H. Wippo, F. Reck, R. Kudick, M. Ramaseshan, G. Ceulemans, M. Bolli, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2411.
- [162] F. Reck, H. Wippo, R. Kudick, M. Bolli, G. Ceulemans, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1531.
- [163] F. Reck, H. Wippo, R. Kudick, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 1778.
- [164] T. Wagner, H. K. Huynh, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 399.
- [165] K.-U. Schöning, P. Scholz, S. Guntha, X. Wu, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Science* **2000**, *290*, 1347.
- [166] K.-U. Schöning, P. Scholz, X. Wu, S. Guntha, G. Delgado, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 4111.
- [167] A. Eschenmoser, *Origins Life Evol. Biosphere* **2004**, *34*, 277.
- [168] M.-O. Ebert, C. Mang, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, B. Jaun, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15105.
- [169] M.-O. Ebert, B. Jaun, *Chem. Biodiversity* **2010**, *7*, 2103.
- [170] C. J. Wilds, Z. Wawrzak, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, M. Egli, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13716; P. S. Pallan, C. J. Wilds, Z. Wawrzak, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, M. Egli, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 6073; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5893.
- [171] Im Gegensatz zur TNA ist die Paarungsstärke bei Kreuzpaarungen zwischen (4'→3')-Lyxopyranosylsequenzen und antiparallel komplementären DNA- oder RNA-Sequenzen ausgeprägt sequenzabhängig (vgl. Lit. [161]).
- [172] L. E. Orgel, *Science* **2000**, *290*, 1306; P. Herdewijn, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2309; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2249.
- [173] J. G. Schmidt, P. E. Nielsen, L. E. Orgel, *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 4797; I. A. Kozlov, B. de Bouevere, A. Aeschot, P. Herdewijn, L. E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5856.
- [174] A. Eschenmoser, *Origins Life Evol. Biosphere* **1997**, *27*, 535.
- [175] X. Wu, G. Delgado, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1283.
- [176] X. Wu, S. Guntha, M. Ferencic, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1279.
- [177] F. B. Howard, J. Frazier, H. T. Miles, *J. Biol. Chem.* **1966**, *241*, 4293; C. Hartel, M. W. Göbel, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2541.
- [178] R. Lohrman, L. E. Orgel, *Nature* **1976**, *261*, 342; W. S. Zielinski, L. E. Orgel, *Nature* **1987**, *327*, 346.
- [179] G. von Kiedrowski, B. Wlotzka, J. Helbing, M. Matzen, S. Jordan, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 456; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 423.
- [180] N. G. Dolinnaya, N. I. Sokolova, D. T. Ashirbekova, D. T. Shabarova, *Nucleic Acids Res.* **1991**, *19*, 3067.
- [181] J. C. Chaput, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9274.
- [182] J. C. Chaput, J. K. Ichida, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 856.
- [183] J. K. Ichida, K. Zou, A. Horhota, B. Yu, L. W. McLaughlin, J.-W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2802.
- [184] V. Kempeneers, K. Vastmans, J. Rozenski, P. Herdewijn, *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 6221.
- [185] B. D. Heuberger, C. Switzer, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5809.
- [186] L. Zhang, A. Peritz, E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4175.
- [187] E. Meggers, L. Zhang, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1092.
- [188] P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Science* **1991**, *254*, 1497.
- [189] P. E. Nielsen, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 624.
- [190] P. E. Nielsen, *Origins Life Evol. Biosphere* **1993**, *23*, 323.
- [191] B. Hyrup, P. E. Nielsen, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 5.
- [192] Für einschlägige Literatur über frühere Versuche der Herstellung acyclischer Paarungssysteme vgl. die Übersichtsartikel von Nielsen<sup>[189]</sup> und Meggers.<sup>[187]</sup> Über die Eigenschaften von Glycerinderivaten abgeleiteter, acyclischer Phosphodiester-Oligomere vgl. z. B. J. C. Chaput, C. Switzer, *J. Mol. Evol.* **2000**, *51*, 464, und über ein kürzlich beschriebenes, von 2-Amino-1,3-propanmonophosphat abgeleitetes Nukleinsäure-Analogon vgl. H. Kashida, K. Murayama, T. Toda, H. Asanuma, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 1321–1324; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1285–1288.
- [193] Ein Beispiel: In einer Diskussion nach dem vom Autor auf der Bürgenstock-Konferenz (4. Mai 1989) gehaltenen Vortrag über Homo-DNA, in welchem erwähnt wurde, dass die Basenpaarung stärker sei als bei der DNA, bezweifelte ein(e) Biochemiker(in) die Richtigkeit der Interpretation unserer experimentellen Beobachtungen mit der Begründung, es sei nicht denkbar, dass die natürliche DNA nicht das „bestmögliche“ Paarungssystem darstelle.
- [194] Vgl. z. B. A. F. Amaral, M. M. Marques, J. A. L. da Silva, J. J. R. Frausto da Silva, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 2043; das 2,3-Cyclophosphat der Ribose liegt zu mehr als zwei Dritteln als Furanose-Derivat vor (S. Pitsch, C. Spinner, K. Atsumi, P. Ermert, *Chimia* **1999**, *53*, 291); zur Diskussion „Warum Ribose?“ vgl. auch z. B. R. Bielski, M. Tencer, *Origins Life Evol. Biosphere* **2007**, *37*, 167.
- [195] Für eine Diskussion thermodynamischer Daten der RNA-Paarungsstruktur im Hinblick auf ihre ätiologische Relevanz vgl. „Thermodynamic Considerations for Evolution by RNA“: D. H. Turner, P. C. Bevilacqua in *The RNA World* (Hrsg.: R. F. Gesteland, J. F. Atkins), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring, **1993**, Kap. 17, S. 447.
- [196] W. Gilbert, *Nature* **1986**, *319*, 618.
- [197] K. Kruger, P. J. Grabowski, A. J. Zaug, J. Sands, D. E. Gottschling, T. R. Cech, *Cell* **1982**, *31*, 147; C. Guerrier-Takada, K. Gardiner, T. Marsh, N. Pace, S. Altman, *Cell* **1983**, *35*, 849.

- [198] a) C. Woese, *The Genetic Code, the Molecular Basis for Genetic Expression*, Harper and Row, New York, **1967**; F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* **1968**, 38, 367; L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* **1968**, 38, 381.
- [199] L. E. Orgel, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2004**, 39, 99.
- [200] T. A. Steitz, P. B. Moore, *Trends Biochem. Sci.* **2003**, 28, 411.
- [201] T. A. Lincoln, G. F. Joyce, *Science* **2009**, 323, 1229; vgl. auch A. Wochner, J. Attwater, A. Coulson, P. Holliger, *Science* **2011**, 332, 209.
- [202] A. D. Ellington, J. W. Szostak, *Nature* **1990**, 346, 818.
- [203] A. A. Beaudry, G. F. Joyce, *Science* **1992**, 257, 625.
- [204] S. Fusz, A. Eisenführ, S. G. Srivatsan, A. Heckel, M. Famulok, *Chem. Biol.* **2005**, 12, 941.
- [205] G. F. Joyce, *Angew. Chem.* **2007**, 119, 6540; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6420 (Review).
- [206] A. G. Cairns-Smith, *Genetic Takeover and the Mineral Origins of Life*, Cambridge University Press, Cambridge, **1982**.
- [207] G. J. Joyce, A. W. Schwartz, S. L. Miller, L. E. Orgel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, 84, 4398.
- [208] „Was RNA the first Genetic Polymer?“, L. E. Orgel in *Evolutionary Tinkering in Gene Expression* (Hrsg.: M. Grunberg-Manago, B. F. C. Clark, H. G. Zachau), Plenum, New York, **1989**.
- [209] In ferner Analogie zu Vorgängen, die zur Ablösung der RNA-Welt durch die RNA-Protein-Welt geführt haben mögen.
- [210] M. Koppitz, P. E. Nielsen, L. E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 4563.
- [211] W. D. Fuller, R. A. Sanchez, L. E. Orgel, *J. Mol. Evol.* **1972**, 1, 249.
- [212] R. A. Sanchez, L. E. Orgel, *J. Mol. Biol.* **1970**, 47, 531.
- [213] R. Lohrmann, L. E. Orgel, *Science* **1968**, 161, 65; R. Lohrmann, L. E. Orgel, *Nature* **1973**, 244, 418.
- [214] G. von Kiedrowski, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 932; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 932; D. Sievers, G. von Kiedrowski, *Nature* **1994**, 369, 221.
- [215] L. E. Orgel, *Nature* **1992**, 358, 203.
- [216] V. M. Kolb, J. P. Dworkin, S. L. Miller, *J. Mol. Evol.* **1994**, 38, 549.
- [217] M. Levy, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 7933.
- [218] J. P. Ferris, G. Ertem, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12270; G. Ertem, J. P. Ferris, *Nature* **1996**, 379, 238; G. Ertem, J. P. Ferris, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 7197; J. P. Ferris, A. R. Hill, R. Liu, L. E. Orgel, *Nature* **1996**, 381, 59.
- [219] W. Huang, J. P. Ferris, *Chem. Commun.* **2003**, 1458.
- [220] C. Anastasi, F. F. Buchet, M. A. Crowe, A. L. Parkes, M. W. Powner, J. M. Smith, J. D. Sutherland, *Chem. Biodiversity* **2007**, 4, 721.
- [221] M. W. Powner, B. Gerland, J. D. Sutherland, *Nature* **2009**, 459, 239; A. Choudhary, K. J. Kamer, M. W. Powner, J. D. Sutherland, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.* **2010**, 5, 655; M. W. Powner, J. D. Sutherland, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 16677.
- [222] R. Shapiro, *Origins—A Skeptic's Guide to the Creation of Life on Earth*, Summit Books, New York, **1986**.
- [223] S. Zahng, C. Switzer, J. C. Chaput, *Chem. Biodiversity* **2010**, 7, 24.
- [224] J. J. Chen, X. Cai, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2119; A. T. Horhota, J. W. Szostak, L. W. McLaughlin, *Org. Lett.* **2006**, 8, 5345; Y.-W. Yang, S. Zhang, E. O. McCollum, J.-C. Chaput, *J. Mol. Evol.* **2007**, 65, 289.
- [225] Nach derzeitigem Wissensstand sind Additions-, Substitutions- und Eliminierungsreaktionen an und zu Mehrfachbindungen die wichtigsten Kohlenstoffgerüst-bildenden Reaktionstypen der präbiotischen Chemie;  $S_N2$ -Reaktionen an gesättigtem Kohlenstoff scheinen nicht dazu zu gehören. Selbst in der Biologie sind enzymkatalysierte  $S_N2$ -Reaktionen an gesättigtem Kohlenstoff (mit Ausnahme an Methyl- und allylischem Kohlenstoff) auffallend selten; vgl. z. B. Lit. [226].
- [226] D. O'Hagen, J. W. Schmidberger, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, 27, 900.
- [227] Im Orgel'schen Laboratorium ist z. B. gezeigt worden, dass das 6'-Phosphat von 2-Desoxyglucopyranosyladenin bei Aktivierung viel leichter cyclisiert als das 5'-Phosphat des 2'-Desoxyadenosins.<sup>[208]</sup> Der hierfür verantwortliche Unterschied liegt in der *trans*-Verknüpfung der beiden Ringe in den entsprechenden Cyclisierungsprodukten: Die *trans*-Verknüpfung eines 5-Rings mit einem 6-Ring ist im Unterschied zu einer *trans*-Verknüpfung zweier 6-Ringe gespannt.
- [228] P.-C. Zamecnik, M. L. Stephenson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, 75, 280.
- [229] F. Kuschel, H. Ringsdorf, *Nachr. Chem.* **2010**, 58, 759.
- [230] S. Hoffmann, *Z. Chem.* **1979**, 19, 241–249.
- [231] „Synthetic Analogues of Nucleic acids—a Review“, A. S. Jones, *Int. J. Biol. Macromol.* **1979**, 1, 194.
- [232] J. D. Buttrey, A. S. Jones, R. T. Walker, *Tetrahedron* **1975**, 31, 73.
- [233] Im Kapitel „Polynukleotidmodelle“ der Lit. [230] unterscheidet Siegfried Hoffmann zwischen „nahen und fernen Analogisierungen“. Unter ersteren verstand er die chemische Synthese von Oligonukleotid-Sequenzen, unter letzteren erstmals von A. S. Jones und R. T. Walker (Lit. [232]) in Angriff genommene und später von mehreren Arbeitsgruppen aufgegriffene Versuche, eine Nachahmung der Basenpaarung der Nukleinsäuren dadurch zu erreichen, dass Nukleobasen mit verschiedensten Rückgraten der damals bekannten Polymerchemie verknüpft oder Nukleobasen tragende Monomere durch Polymerisation oder Polykondensation in entsprechende Oligomere überführt werden sollten (vgl. die Zusammenstellung solcher Versuche in Lit. [230], S. 246–247). Hoffmanns Kommentar zu den „fernen“ Analogisierungen: „Der Bogen spannt sich zurück zu fernen Struktur- und Funktions-Simulationen, die mit all ihren Unzulänglichkeiten und stereoelektronischen Unvollkommenheiten doch den Versuch des gegenwärtigen Finalprodukts der Evolution darstellen, sechs Milliarden Jahre in der Spanne einer Generation abstrahierend nachzuvollziehen“.
- [234] H. De Koning, U. K. Pandit, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1971**, 90, 1069.
- [235] E. P. Stirchak, J. E. Summerton, D. D. Weller, *Nucleic Acids Res.* **1989**, 17, 6129; J. Summerton, D. Weller, *Antisense Nucleic Acids Drug Dev.* **1997**, 7, 187.
- [236] P. E. Nielsen in *Pseudo-peptides in Drug Discovery* (Hrsg.: P. E. Nielsen), Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, S. 153.
- [237] V. A. Kumar, K. N. Ganesh, *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38, 404.
- [238] Y. Huang, S. Dey, X. Zhang, F. Sönnichsen, P. Garner, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4626.
- [239] Eine Zusammenstellung von Literatur über solche Arbeiten finden sich in Lit. [252] (dort Lit. [54]); vgl. auch die in Fussnote 67 von Lit. [252] erwähnten Reminiszenzen des Autors über frühe eigene Arbeiten zum Ersatz des Phosphodiester-Rückgrats der DNA durch ein peptidisches Rückgrat.
- [240] U. Diederichsen, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 458; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 445; U. Diederichsen, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1966; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 1886; M. F. H. Hoffmann, A. M. Brückner, T. Hupp, B. Engels, U. Diederichsen, *Helv. Chim. Acta* **2000**, 83, 2580.
- [241] U. Diederichsen, H. W. Schmitt, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 312; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 302; A. M. Brückner, H. W. Schmitt, U. Diederichsen, *Helv. Chim. Acta* **2002**, 85, 3855; A. Weiss, U. Diederichsen, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 5531.
- [242] K. E. Nelson, M. Levy, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 3868.
- [243] Präbiotische Bausteine von Nukleo-oligodipeptiden wären im einfachsten Fall  $\alpha$ -Aminosäuren und kanonische oder nicht-kanonische Nukleobasen. Die mit dem Strukturtyp der Nukleo-oligodipeptide einhergehende Problematik ist eine

- solche der Konstituierung, und nicht eine solche der Bausteine. Für PNA ist beides problematisch, insbesondere was Hydrazin als Baustein anbetrifft (vgl. die im vorangehenden Abschnitt zur Frage nach der präbiotischen Konstituierung der RNA-Struktur gemachten Bemerkungen).
- [244] Über neuere experimentelle Arbeiten zu dieser Frage vgl. L. J. Leman, L. E. Orgel, M. R. Ghadiri, *Science* **2004**, *306*, 283; L. J. Leman, L. E. Orgel, M. R. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 20.
- [245] H. Moser, A. Fliri, A. Steiger, G. Costello, J. Schreiber, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1224.
- [246] A. Eschenmoser, *Chimia* **2005**, *59*, 836.
- [247] Diese Erwartung gründet auf der Annahme, dass der *gauche*-Effekt zur Stabilisierung der Paarungskonformation der Oligomerkette beiträgt. Die Annahme wird u.a. durch Beobachtungen gestützt, wonach ein PNA-Analogon, welchem die dem Rückgrat angehörende Amid-Carbonylgruppe der PNA fehlt, nach wie vor Paarung zeigt (M. C. Myers, J. K. Pokorski, D. H. Appella, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4699), ebenso Analoga von Systemen des in Abbildung 79 formulierten Typs, in welchen eine der beiden Rückgrat-Amidgruppierungen durch eine (CH<sub>2</sub>-O)-Gruppierung ersetzt ist (K. H. Altmann, C. Schmit Chiesi, G. García-Escheverría, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1119; C. García-Escheverría, D. Hüsken, C. Schmit Chiesi, K. H. Altmann, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1123; M. Kuwahara, M. Arimitsu, M. Sisido, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 256).
- [248] G. Zubay, T. Mui, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, *31*, 87.
- [249] Über frühere, nicht in einem ätiologischen Zusammenhang angestellte Untersuchungen zu alternativen Nukleobasen vgl. z.B. J. A. Piccirilli, T. Krauch, S. A. Moroney, S. A. Benner, *Nature* **1990**, *343*, 33; F. Seela, R. Kröschel, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 3900; E. T. Kool, *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 936.
- [250] S. Miyakawa, H. Cleaves, S. L. Miller, *Origins Life Evol. Biosphere* **2002**, *32*, 209.
- [251] 5-Aminouracil befindet sich auf dem gleichen Oxidationsniveau wie das HCN-Tetramer (Bildung des ersteren aus HCN verlangt weder Oxidations- noch Reduktionsschritte). Demgegenüber verlangt die Bildung von Uracil aus dem HCN-Tetramer einen Reduktionsschritt (vgl. eine nähere Diskussion in Lit. [252], S. 12836).
- [252] A. Eschenmoser, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 12821.
- [253] G. K. Mittapalli, K. R. Reddy, H. Xiong, O. Munoz, B. Han, F. De Riccardis, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2522; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2470.
- [254] G. K. Mittapalli, Y. M. Osornio, M. A. Guerrero, K. R. Reddy, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2530; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2478.
- [255] Die Frage nach der Paarung zwischen den beiden formal zueinander komplementären 2-Amino-6-oxo- und 2-Oxo-6-amino-Basen der 5-Aminopyrimidin-Familie (vgl. Abbildung 74) ist in einem orientierenden Experiment geprüft worden, und zwar am Beispiel einer Dodecamersequenz, in welcher die beiden isomeren Basen in der (Glu-Asp)-Nukleooligodipeptid-Reihe alternierend angeordnet sind. Die dabei UV-spektroskopisch beobachtete (eher schwache) Paarung erwies sich als stark zeitabhängig und zeigte ausgeprägte Hysterese der Abkühlungskurve (vgl. Abbildung 3 in Lit. [254]). Dies ist als Hinweis darauf zu werten, dass Paarung die Umstellung von Tautomerie-Gleichgewichten in (zumindest) einer der beiden Basen erfordert.
- [256] X. Zhang, R. Krishnamurthy, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 8268; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8124; R. Krishnamurthy, *J. Mex. Chem. Soc.* **2009**, *53*(1), 23.
- [257] Neulich von Sponer et al.<sup>[258]</sup> durchgeführte quantenchemische Berechnungen zeigen keine Korrelation zwischen Paarungsstärken und pK<sub>a</sub>-Unterschieden zwischen Paarungspartnern. Der hier (vgl. Text) zur Deutung der experimentellen Beobachtungen postulierte Zusammenhang zwischen pK<sub>a</sub>-Werten und Hydratation von Paarungspartnern in ungepaartem versus gepaartem Zustand blieb jedoch in diesen Berechnungen unberücksichtigt.
- [258] J. E. Šponer, A. Vázquez-Mayagoitia, B. G. Sumpter, J. Leszczynski, J. Šponer, M. Otyepka, P. Banáš, M. Fuentes-Cabrera, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 3057.
- [259] H.-R. Marcos, M. Hernandez-Rodriguez, J. Xie, Y. M. Osornio, R. Krishnamurthy, *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 1252.
- [260] R. Larralde, M. P. Robertson, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 8158.
- [261] S. L. Miller, A. Lazcano in *Life's Origin: The Beginnings of Biological Evolution* (Hrsg.: W. Schopf), University of California Press, Berkeley, **2002**, S. 78–112.
- [262] *Marine Hydrothermal Systems and the Origin of Life* (Hrsg.: N. G. Holm), Kluwer, Dordrecht, **1992**.
- [263] S. L. Miller, A. Lazcano, *J. Mol. Evol.* **1995**, *41*, 689; M. Levy, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 7933; J. L. Bada, A. Lazcano, *Science* **2002**, *296*, 1982; vgl. auch Lit. [250].
- [264] Vgl. die von John Cornforth geäußerten Gedanken zur Rolle der Hydrolyse im Zusammenhang mit der Biogenese (J. Cornforth, *Interdiscip. Sci. Rev.* **1984**, *9*, 107).
- [265] Vgl. die Beschreibung eines solchen Szenarios in Fussnote 26 von Lit. [165].
- [266] Zum Konzept der „dynamischen kombinatorischen Bibliothek“ vgl.: P. A. Brady, R. P. Bonar Law, S. I. Rowan, C. J. Suckling, J. Brady, K. M. Sanders, *Chem. Commun.* **1996**, 319; I. Huc, J.-M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 2106; vgl. auch C. Miculka, N. Windhab, G. Quinkert, A. Eschenmoser, „Neue Substanzbibliothek und daraus hergestellte supramolekulare Komplexe“, Patent DE 19619373A 1; Anmeldetag 14.5.1996; Offenlegungstag 20.11.1997.
- [267] G. K. Mittapalli, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [268] Y. Ura, J. M. Beierle, L. J. Leman, L. S. Orgel, M. R. Ghadiri, *Science* **2009**, *325*, 73. Vgl. in diesem Zusammenhang auch die Arbeiten von David Lynn (Z.-Y. J. Zhan, D. G. Lynn, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12420; X. Li, Z.-Y. J. Zhan, R. Knipe, D. G. Lynn, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 746; X. Li, A. F. Hernandez, M. A. Grover, N. V. Hud, D. G. Lynn, *Heterocycles* **2011**, *82*, 1477) und David Liu (D. M. Rosenbaum, D. R. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13924).
- [269] a) H. J. Morowitz, *Beginnings of Cellular Life: Metabolism Recapitulates Biogenesis*, Yale University Press, New Haven, **1992**; b) H. J. Morowitz, J. D. Kostelnik, J. Yang, G. D. Cody, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 7704; c) E. Smith, H. J. Morowitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 13168; vgl. in diesem Zusammenhang Orgels kritische Stellungnahmen: L. E. Orgel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 12503; L. E. Orgel, *PLOS Biol.* **2008**, *6*, 5.
- [270] S. A. Kaufmann, *The Origins of Order. Self-Organization and Selection in Evolution*, Oxford University Press, Oxford, **1993**; vgl. auch Lit. [14f].
- [271] In diesem Zusammenhang ist zwischen zwei unterschiedlichen Typen von Katalyse unterschieden worden: „template catalysis“ und „network catalysis“<sup>[269c]</sup> bzw. „reaction catalysis“ und „circuit catalysis“<sup>[272]</sup>. Die durch eine Templatsequenz katalysierte Bildung einer komplementären Basensequenz (unter Freisetzung der letzteren aus dem intermediären Duplex) ist ein Beispiel von Katalyse des ersteren Typs, und die jedem Konstituenten eines autokatalytischen Zyklus zuzuschreibende Rolle, ein Katalysator sämtlicher Reaktionsstufen des Zyklus zu sein, Katalyse der zweiten Art. Reaktionstopologisch sind die beiden anscheinend so unterschiedlichen Katalysertypen jedoch identisch.
- [272] A. Eschenmoser, *Chem. Biodiversity* **2007**, *4*, 554.

- [273] „Life is a self-sustained chemical system capable of undergoing Darwinian Evolution“; von der NASA verwendete Definition; vgl. G. J. Joyce im Vorwort zu *Origins of Life* (Hrsg.: E. W. Deamer, G. R. Fleischacker), Jones and Bartlett, Boston, **1994**.
- [274] „Über Replikatoren in Chemie und Biologie“: E. Szathmari, *Phil. Trans. R. Soc. London B* **2000**, 355, 1669. Eine systematische experimentelle Suche nach (u. a. potentiell primordialen) autokatalytischen Reaktionszyklen könnte darin bestehen, einen in seinem katalytischen Potential bekannten Organokatalysator vorzunehmen (u. a. aus der Reihe der archaischen Cofaktoren) und für diesen eine (gegebenenfalls potentiell präbiotische) „Eintopf-Synthese“ zu entwerfen, und zwar dergestalt, dass für (mindestens) eine der Synthesestufen zu erwarten ist, dass sie durch den besagten Organokatalysator katalysiert wird.
- [275] K. Soai, T. Shibata, H. Marioka, K. Choji, *Nature* **1995**, 378, 767; T. Kawasaki, K. Suzuki, Y. Hakoda, K. Soai, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 506; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 496; T. Kawasaki, T. Tutsumi, K. Suzuki, M. Ito, K. Soai, *Science* **2009**, 324, 492.
- [276] B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2395; B. List, *Tetrahedron* **2002**, 58, 5573; B. List, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 5413; C. F. Barbas, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 44; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 42; E. N. Jacobsen, D. W. C. MacMillan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 20618; R. R. Knowles, E. N. Jacobsen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 20678; A. Berkessel, H. Gröger, *Asymmetric Organocatalysis—from Biomimetic Concepts to Applications in Asymmetric Synthesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [277] G. D. Cody, N. Z. Boctor, R. M. Hazen, J. A. Brandes, H. J. Morowitz, H. S. Yoder, Jr., *Geochim. Cosmochim. Acta* **2001**, 65, 3557; X. V. Zhang, S. T. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 16032.
- [278] H. Schmalfuss, M. Congehl, *Biochem. Z.* **1927**, 185, 70; W. Langenbeck, *Naturwissenschaften* **1942**, 30, 30; R. Breslow, *Tetrahedron Lett.* **1959**, 21, 22; H. J. Kim, A. Ricardo, H. I. Il-langkoon, M. J. Kim, M. A. Carrigan, F. Frye, S. A. Benner, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, DOI: 10.1021/ja201769f.
- [279] a) A. L. Weber, *Origins Life Evol. Biosphere* **1998**, 28, 259; b) A. Weber, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, 31, 71; c) A. L. Weber, *Origins Life Evol. Biosphere* **2004**, 34, 473; d) A. Weber, *Origins Life Evol. Biosphere* **2007**, 37, 195.
- [280] Vgl. auch die gemischt theoretisch-experimentellen Untersuchungen von Peter Decker über die Formose-Reaktion im Zusammenhang mit seinem „Formol-Bioid“-Konzept (Lit. [281] und [63]).
- [281] P. Decker, A. Speidel, *Z. Naturforsch. B* **1972**, 27, 257; P. Decker, H. Schweer, *Origins Life Evol. Biosphere* **1984**, 14, 335.
- [282] Formal (und wohl auch potentiell) sind Glyoxylsäure und Dihydroxyfumarsäure aquotisierte Oligomere des Kohlenmonoxids.
- [283] V. N. Sagi, F. Hu, P. Karri, V. Punna, G. Meher, R. Krishnamurthy; noch unveröffentlichte Arbeiten am TSRI.
- [284] S. W. Fox, *Science* **1960**, 132, 200; A. Weber, S. L. Miller, *J. Mol. Evol.* **1981**, 17, 273; F. Dyson, *Origins of Life*, 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge, **1999**; R. Pascal, L. Boiteau, A. Commeyras, *Top. Curr. Chem.* **2005**, 259, 69.
- [285] D. H. Lee, J. R. Granja, J. A. Martinez, K. Severin, M. R. Ghadiri, *Nature* **1996**, 382, 525; vgl. auch S. Yao, S. Gosh, R. Zutshi, J. Chmielewski, *Nature* **1998**, 396, 447.
- [286] Z. G. Hajosh, D. R. Parish, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1615; U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem.* **1971**, 83, 492; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1971**, 10, 496; E. R. Jarvo, S. J. Miller, *Tetrahedron* **2002**, 58, 2481; S. Miller, *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, 601; P. Krattiger, R. Kovasy, J. D. Revell, S. Ivan, H. Wennemers, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1101; M. Raj, V. K. Singh, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 4289.
- [287] W. A. Bonner, *Origins Life Evol. Biosphere* **1991**, 21, 59; B. L. Feringa, R. A. van Delden, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 3624; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 3418; S. Pizzarello, M. Lahav, *Origins Life Evol. Biosphere* **2010**, 40, 1 (Themenheft: Emergence of Biochemical Homochirality); T. Kawasaki, K. Suzuki, Y. Hakoda, K. Soai, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 506; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 496; R. Breslow, Z.-L. Cheng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, 107, 5723.
- [288] Die (chemische) Frage nach dem Ursprung der biologischen „Homochiralität“ ist zu unterscheiden von der (physikalischen) Frage nach dem Ursprung des spezifischen Chiralitätssinns, den homochirale Biomolekülfamilien heutiger Lebewesen aufweisen (vgl. z. B. S. Mason, *Chem. Soc. Rev.* **1988**, 17, 347).
- [289] Der Grund hierzu liegt im grundsätzlich jeglichem autokatalytisch sich replizierenden System zuzuschreibenden Potential, kraft intrinsischer Enantio- und Diastereoselektivität konstitutiver Reaktionsstufen Homochiralität seiner Konstituenten herbeizuführen.
- [290] Die im Zusammenhang mit Abbildung 52 gemachten Bemerkungen ausgenommen.
- [291] P. L. Luisi, *Origins Life Evol. Biosphere* **1998**, 28, 613; J. W. Szostak, D. P. Bartel, P. L. Luisi, *Nature* **2001**, 409, 387; D. W. Deamer, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, 61, 230; C. R. Woese, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 8742.
- [292] Die Frage bezieht sich auf Materie, die permetallierte Derivate von Kohlenstoff-Sauerstoff- oder Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen enthalten hätte, in welchen sämtliche Wasserstoff-Bindungsstellen durch Metallatome ersetzt gewesen wären, und welche bei nachträglichem Kontakt mit Wasser hochreaktive Verbindungen wie Blausäure, Cyanamid oder Glyoxylsäure freigesetzt hätten. Bekannte chemische Prozesse, auf die in diesem Zusammenhang hinzuweisen wäre, sind z. B. die Bildungsweise von Calciumcyanamid aus Calciumcarbid und molekularem Stickstoff bei Temperaturen über 1000 °C oder die (älteren) Chemikern noch vertraute Nachweismethode für Stickstoff nach Lassaigne (Glühen organischer Stoffe mit Natrium, gefolgt von Hydrolyse, Freisetzung und qualitativer Nachweis von Cyanid). Die Frage richtet sich primär an die Erdwissenschaften, nicht an die Chemie. Falls sie nicht eindeutig zu verneinen ist, könnte sie eine Möglichkeit von beträchtlicher ätiologischer Relevanz betreffen. Das nächstliegende Gegenargument, wonach es heute keinerlei geochemische Spuren solcher „Reservoirs“ gebe, kann gegebenenfalls (nach Milliarden Jahren „hydrolysierender“ Erdgeschichte) nicht als hinreichender Grund einer Verneinung gelten (betrifft einer früheren Erörterung der Frage, vgl. Lit. [252] sowie *Origins Life Evol. Biosphere* **2004**, 34, 277; dort Abbildung 36).
- [293] Es betrifft dies vor allem die Selbstkondensation von 6,7-Dimethyl-8-D-ribityllumazin zu Riboflavin unter Rückbildung eines Äquivalents 5-Amino-6-D-ribitylaminouracil, das seinerseits das Ausgangsprodukt für die Bildung des genannten Lumazins ist und durch Kondensation mit verschiedenen Agentien (2,3-Dioxobutan; 3,4-Dihydroxybutanon-4-phosphat oder sogar Ribulose-1,5-diphosphat) in dieses übergeht. Vgl. die Arbeiten von H. C. S. Wood (T. Patterson, H. C. S. Wood, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1969**, 290; R. L. Beach, G. W. E. Plaut, *Biochemistry* **1970**, 9, 760), A. Bacher (K. Kis, K. Kugelbrey, A. Bacher, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2555) sowie die Dissertationsarbeit von C. Strupp (Diss. ETH, Nr. 9832, **1992**, vgl. auch Lit. [126], dort Abbildung 9).
- [294] In gewissem Gegensatz zur chemisch komplexen, jedoch offenkundig „chemomimetischen“ und deshalb letztlich „einfachen“ Biosynthese des Riboflavins sind die bislang bekannt gewordenen Biosynthesewege für Thiamin (vgl. z. B. I. D. Spenser, R. L. White, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1096; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 1032; T. P. Begley, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 15) und Pyridoxal (vgl. z. B. T. B. Fitzpatrick, C.

Mocand, C. Roux, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 1185) zum Teil äußerst komplex. Komplexität der Biosynthese eines potentiell primordialen Biomoleküls kann nicht zuletzt ein Hinweis darauf sein, dass katalytisches Agieren des Biomoleküls (oder dessen Strukturtyps) und damit auch eine (im Extremfall) präbiotische Bildung desselben der Entwicklung seiner Biosynthese voranging. Komplexität von Biosynthesewegen wäre aus solcher Sicht Ausdruck und Ergebnis eines besonderen

Evolutionsdrucks auf die Hervorbringung eines biosynthetischen Zugangs zu einem präexistierenden Molekültyp, dessen Funktionspotential für das evolvierende System essentiell war (vgl. z.B. Lit. [17]). Für den Struktur- und/oder Funktionstyp des Thiamins und des Pyridoxals ist die Auffindung potentiell präbiotischer Bildungswege nach wie vor eine offene Herausforderung.