

- [14] L.-J. Ming, H. G. Jang, L. Que, Jr., *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 359–364.
 [15] a) M. P. Hendrich, L. L. Pearce, L. Que, Jr., N. D. Chasteen, E. P. Day, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3039–3044; b) M. P. Hendrich, E. Münck, B. G. Fox, J. D. Lipscomb, *ibid.* **1990**, *112*, 5861–5865.
 [16] a) J. G. Wardeska, B. Viglione, N. D. Chasteen, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 6677–6683; b) D. Jacobs, G. D. Watt, R. B. Frankel, G. C. Papaefthymiou, *Biochemistry* **1989**, *28*, 9216–9221; c) G. D. Watt, R. B. Frankel, D. Jacobs, H. Huang, G. C. Papaefthymiou, *ibid.* **1992**, *31*, 5672–5679.
 [17] Interessanterweise wandelt sich **1**, wenn es O_2 ausgesetzt wird, in eine (μ -Oxo)dienes(III)-Spezies um, deren NMR-Spektrum mit dem des bekannten Komplexes $[\text{Fe}_2\text{O}(\text{O}_2\text{CC}_6\text{H}_5)(\text{bpg})_2](\text{ClO}_4)$ identisch ist.

ein **1** bei $\text{pH} > 6.5$ chemisch instabil^[11], weshalb die Möglichkeiten der chemischen Derivatisierung zur Steigerung der biologischen Aktivität eingeschränkt sind. Von der Untersuchung der Biosynthese erwarteten wir Erkenntnisse, diesen Naturstoff biologisch derivatisieren zu können, z.B. durch eine vorläufig gesteuerte Biosynthese^[10]. Wir berichten hier über erste Fütterungsversuche, die auf einen bislang unbekannten Biosyntheseweg von allgemeiner Bedeutung schließen lassen.

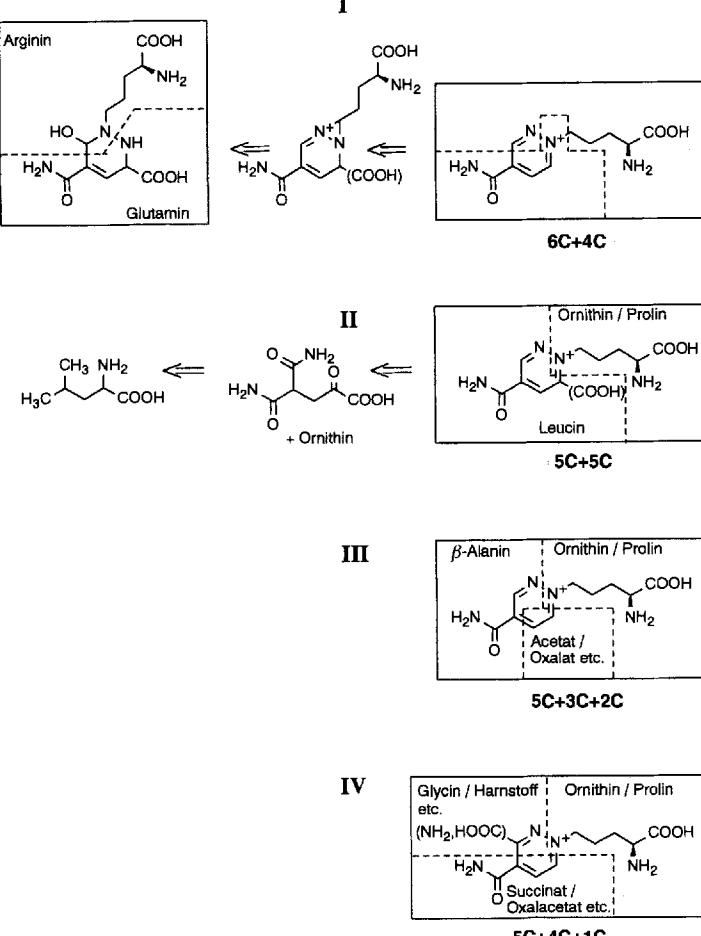
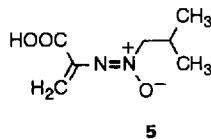
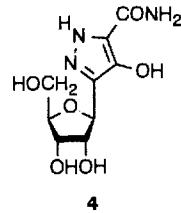
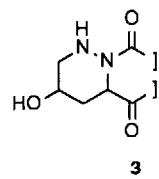
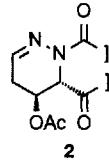
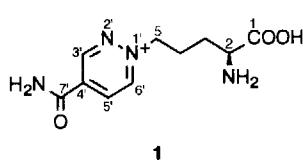
Für die Herkunft aller C- und Heteroatome in Pyridazomycin **1** aus Bausteinen des Primärstoffwechsels wurden zunächst vier Hypothesen (I–IV) aufgestellt; bei I und II werden jeweils zwei, bei III und IV je drei Bausteine, meist Aminosäuren, benötigt (Schema 1). Ein mikrobiologisches Problem, die schlechte Pro-

Biosynthesestudien an Pyridazomycin**

Heike Bockholt, John M. Beale und Jürgen Rohr*

Professor Heinz G. Floss zum 60. Geburtstag gewidmet

Das fungizide Antibioticum Pyridazomycin **1**, produziert vom Bodenbakterium *Streptomyces violaceoniger* ssp. *griseofuscus* (Stamm Tü 2557), ist der bislang einzige bekannte Naturstoff mit einem Pyridazinring^[1]. Die Biosynthese dieses ungewöhnlichen Stickstoffheterocyclus ist unter anderem wegen der N-N-Bindung interessant. Eine weitere Besonderheit ist die an ein quaternäres, positiv geladenes Stickstoffatom geknüpfte Aminosäureseitenkette. Teil- oder vollständig gesättigte Pyridazinringe kommen in einigen biologisch aktiven Cyclopeptiden vor, z. B. das Strukturelement **2** in Luzopeptin A^[2] oder die Piperazinsäureeinheit **3** in Citropeptin, Himastatin, Variapeptin und anderen^[3]. Eine N-N-Bindung findet sich auch in Pyrazofurin **4**^[4], einem Inhibitor der Pyrimidin-Nucleotid-Biosynthese, sowie in einigen acyclischen Azoxyverbindungen, wie Valanimycin **5**^[5–9]. Wegen der N⁺-gebundenen Seitenkette ist Pyridazomy-



Schema 1. Hypothetische Zerlegungen I–IV von Pyridazomycin **1**. Angegeben ist jeweils die Zahl der C-Atome einer Vorstufe, die in **1** eingelegt werden.

duktion von Pyridazomycin durch *Streptomyces violaceoniger* von 0.75 mg L^{-1} , konnte durch Stammselektion, Optimierung der Fermentationsbedingungen (1 L-Fermenter) und vor allem durch Vermeidung alkalischer Bedingungen^[11] bei der Aufarbeitung überwunden werden, so daß Pyridazomycin **1** in Mengen von $20–30 \text{ mg L}^{-1}$ isoliert werden konnte. Die Hypothesen I–IV wurden durch Fütterungsexperimente mit stabilen isotopenmarkierten Vorstufen überprüft, die so konzipiert waren, daß möglichst rasch erste Informationen erzielt werden konnten (Tabelle 1).

Fütterungsversuche mit $^{13}\text{C}_2$ -markiertem Acetat (Universalvorstufe der Zwischenstufen im Citronensäurecyclus und mögli-

[*] Priv.-Doz. Dr. J. Rohr, Dr. H. Bockholt
 Institut für Organische Chemie der Universität
 Tammannstraße 2, D-37077 Göttingen
 Telefax: Int + 551/39-9660

Prof. Dr. J. M. Beale
 Institute for Medicinal and Natural Product Chemistry
 College of Pharmacy, University of Texas, Austin, TX (USA)
 [**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fonds der Chemischen Industrie und der NATO gefördert.

Tabelle 1. Einbauexperimente in Pyridazomycin **1** mit *Streptomyces violaceoniger* [a]

Vorstufe	spezif. Einbau[%][12]	Anreicherung in den Positionen
[1,2- ¹³ C ₂]Acetat [b]	0.7-3.7	C-4', C-5', C-6', C-7'
[1,3- ¹³ C ₂]Glycerin [c]	0.5-0.9	C-4', C-5', C-6', C-7'
[5- ¹³ C]Glutaminsäure [d]	0.6	C-5
[5- ¹³ C]Ornithin [e]	10.4	C-5
[5- ¹⁵ N]Ornithin [f]		N-1'
[2- ¹³ C]Glycin [g]	9.8	C-3'
[2- ¹³ C, 15N]Glycin [h]	11.5	C-3', N-2'

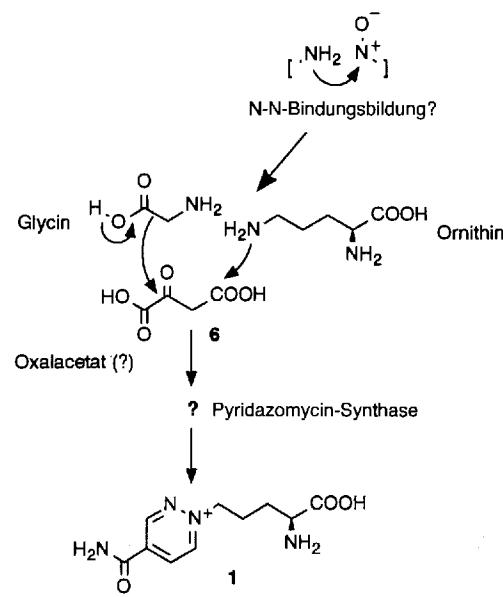
[a] Weitere Fütterungsexperimente mit [3-¹³C]- β -Alanin, L-[2-¹³C]Leucin, [1-¹³C]-Glycin, D,L-[4-¹³C]Aspartat, [13C]Harnstoff, [S-¹³CH₃]Methionin, L-[S-¹⁵N]Glutamin, [2-¹⁵N]Glutamin und [2,3-²H₂]Succinat ergaben keine Anreicherung in **1**. [b] 12.2 mmol (99% ¹³C). [c] 2.7 mmol (50% ¹³C). [d] 3.4 mmol (99% ¹³C). [e] 5.9 mmol (99% ¹³C). [f] 3.0 mmol (99% ¹⁵N); wegen der schlechten Ausbeute war das einzige Signal im ¹⁵N-NMR-Spektrum das des N-1'-Atoms. [g] 6.7 mmol (99% ¹³C). [h] 3.3 mmol (99% ¹³C, 99% ¹⁵N); $J(C,N) = 2.6$ Hz.

cherweise direkte Vorstufe des C₂-Bausteins in Hypothese III) und mit [1,3-¹³C₂]Glycerin (Universalvorstufe des Kohlenhydratstoffwechsels sowie der sich von Pyruvat ableitenden Aminosäuren Alanin, Valin und Leucin) ergaben "Scrambling", d.h. eine unspezifische, indirekte ¹³C-Anreicherung in mehreren Positionen von **1**, insbesondere von C-4', C-5', C-6' und C-7'. Beide Vorläufer werden also nicht direkt eingebaut. Die C₅-Aminosäure Glutaminsäure ist die metabolische Vorstufe der Aminosäuren Ornithin, Glutamin, Prolin und Arginin, ist also ebenfalls eine Universalvorstufe. Ein Einbauexperiment mit [5-¹³C]Glutaminsäure ergab eine schwache, aber signifikante ¹³C-Anreicherung in der C-5-Position der Pyridazomycin-Seitenkette. Da in C-7'-Position nicht ¹³C-angereichert wurde, und auch durch Fütterungsexperimente mit unterschiedlich ¹⁵N-markierten Glutaminen kein Einbau von ¹⁵N erzielt wurde, kommt diese Aminosäure als einer der Bausteine des Arens (Hypothese I und IV) nicht in Frage.

Daß Ornithin die unmittelbare Vorstufe der Aminosäureseitenkette in **1** ist, konnte dagegen durch Einbauversuche mit [5-¹³C]- und mit [5-¹⁵N]Ornithin bestätigt werden. [5-¹³C]Ornithin wurde deutlich besser eingebaut als [5-¹³C]Glutaminsäure, der Versuch mit [5-¹⁵N]Ornithin ergab (¹⁵N-NMR), daß das Stickstoffatom N-1' aus der 5-NH₂-Gruppe dieser Aminosäure stammt. Diese Resultate und die Ergebnisse einiger Versuche, bei denen keine Isotopenanreicherung festgestellt wurde (Tabelle 1, Fußnote [a]), führten zur Aufgabe der Hypothesen I-III. Die Hypothese IV wurde favorisiert und hinsichtlich ihrer C₁-Pool-Vorstufe untersucht. Ein Fütterungsversuch mit [2-¹³C]Glycin (auch nützlich als Vorstufe des Tetrahydrofolsäure-C₁-Metabolismus) ergab einen ca. 10proz. spezifischen Einbau in die erwartete Position C-3' von **1**, d.h. Glycin ist der zweite Biosynthesebaustein. Durch einen Einbauversuch mit [2-¹³C, 15N]Glycin wurde dieses Ergebnis bestätigt und darüber hinaus nachgewiesen, daß das Stickstoffatom N-2' in **1** ebenfalls aus Glycin stammt (¹⁵N-NMR) und daß die C-N-Bindung beim Einbau erhalten bleibt, wie die Kopplung ($J_{C,N} = 2.6$ Hz) im ¹³C-NMR-Spektrum von **1** beweist. Der Fütterungsversuch mit [1-¹³C]Glycin ergab keine ¹³C-Anreicherung in **1**, so daß eine weitere Hypothese, nach der das C-4'-Atom aus der Carboxygruppe von Glycin stammt, ausgeschlossen wurde.

Aus den Resultaten der drei Fütterungsversuche mit markiertem Glycin ergibt sich für den dritten Biosynthesebaustein folgende Überlegung: Der Glycineinbau erfolgt unter Decarboxylierung, bei der das α -C-Atom mit einem elektrophilen C-Atom, vorzugsweise dem einer Carbonylgruppe, als Acceptor unter

C-C-Verknüpfung beider Bausteine reagiert. Daher vermuten wir, daß es sich bei dem dritten Baustein um Oxalacetat **6** handelt, weil so sowohl die C-C-Verknüpfung durch die Aldolkondensation seiner Carbonylgruppe mit Glycin (\rightarrow C-3'-C-4'-Bindung von **1**) als auch die Amidbildung seiner (aktivierten) β -Carboxygruppe mit der δ -Aminogruppe von Ornithin (\rightarrow C-6'-N-1'-Bindung von **1**, Schema 2) möglich ist. Obwohl ein Ein-



(Schema 2. Vorgeschlagener Mechanismus der Biosynthese von Pyridazomycin **1**.

bauversuch mit D,L-[4-¹³C]Aspartat, das zu **6** transaminiert werden sollte, scheiterte, favorisieren wir Hypothese IV mit **6** als drittem Baustein von Pyridazomycin. Daß Asparagin nicht eingebaut wird, könnte auf Membranpermeabilitätsprobleme zurückzuführen sein oder darauf, daß Aspartat im Pyridazomycin-Bildner nicht zu **6** transaminiert werden kann. Die Bildung von **6** in *Streptomyces violaceoniger* wäre dann nur über den Citronensäurecyclus möglich. Ein Indiz dafür sind die unspezifischen ¹³C-Anreicherungen in den Positionen C-4' bis C-7' bei den Fütterungsversuchen mit [1,2-¹³C]Acetat oder [1,3-¹³C]Glycerin, denn beide Verbindungen können im Citronensäurecyclus umgesetzt werden, die erste unmittelbar, die zweite nach Metabolisierung durch Glycolyse und Decarboxylierung zu Acetat durch den Pyruvatdecarboxylase-Komplex. Der spezifische Einbau^[12] (Tabelle 1) spiegelt dies wider.

Gegenwärtig arbeiten wir an der Synthese von ¹³C-markiertem Oxalacetat. Gleichzeitig soll ein zellfreies System etabliert werden, um direkt überprüfen zu können, ob **6** tatsächlich der dritte Biosynthesebaustein ist. Daneben interessiert uns der stereochemische Verlauf des Glycineinbaus in **1**. Unsere zukünftigen Biosynthesestudien an **1** werden sich auf den Mechanismus der N-N-Bindungsbildung^[13], auf die Reihenfolge der Bindungsknüpfungen der Biosynthesebausteine und auf die beteiligten Enzyme (Pyridazomycin-Synthase, Schema 2) konzentrieren.

Experimentelles

Kultivierung von *Streptomyces violaceoniger* (Tü 2557): Der Bakterienstamm wurde auf Agarschrägröhrchen (20% Agar-Agar, 10% Malzextrakt, 4% Glucose, 4% Hefezubr., pH = 7.0 vor dem Autoklavieren) bei 28 °C bis zur Sporulation inkubiert und bei 4 °C (maximal vier Monate) aufbewahrt. Die Vorkultur für die Fermentationen wurde direkt aus den Schrägröhrchen angeimpft und in 250 mL-Erlenmeyerkolben mit drei Schikanen, gefüllt mit 100 mL Nährmedium (2.5% Sojamehl,

2.5% Mannit, pH = 6.8 vor dem Autoklavieren), 48 h bei 28 °C und 250 U min⁻¹ geschüttelt (Schüttler-Typ: BS 4, B. Braun, Melsungen). Mit 100 mL dieser Vorkultur wurde der 1 L-Fermenter (Typ ISF 100, Infors GmbH, Basel, Schweiz) angeimpft, der mit 1 L des Nährmediums und 30 mmol L⁻¹ Ornithinhydrochlorid gefüllt war (Ausnahme: Fütterungsversuche mit markiertem Ornithin oder markierter Glutaminsäure, bei denen kein Ornithinhydrochlorid zugesetzt wurde; T = 28 °C, Belüftung: 1.6 L min⁻¹, 700 U min⁻¹). Die Ernte erfolgte nach ca. 64 h.

Isolierung von Pyridazomycin 1: Das Kulturfiltrat der Fermentationen wurde auf einen sauren Ionenauftauscher (Dowex 50) gegeben, mit ca. 1.8 L demineralisiertem Wasser gewaschen und mit wässriger NH₄⁺-HCOO⁻-Lösung (pH = 5; Gradient 0.3 M (1.5 L), 0.5 M (0.7 L) und 0.7 M (1 L)) eluiert. Die 1-enthaltenden Fraktionen wurden am Rotationsverdampfer bei 40 °C im Vakuum eingeeignet, zunächst an Kieselgel (Säule 60 × 3 cm, nBuOH/CH₃COOH/H₂O 3/2/2) und anschließend an Sephadex G-10 (Säule 100 × 2.5 cm, MeOH/H₂O 8/2, pH = 4.0, eingestellt mit 0.1 M HCl) chromatographiert. Die Fraktionen mit dem gereinigten Produkt wurden gefriergetrocknet.

Fütterungsexperimente: Die isotopenmarkierten Verbindungen wurden in 100 mL steriles Wasser gelöst und in vier gleichen Portionen in Abständen von sechs Stunden oder kontinuierlich, beginnend 25 h nach Animpfung zur wachsenden *S. violaceoniger*-Kultur (1 L-Fermenter) gegeben.

Isotopenmarkierte Verbindungen: Die ¹³C- und/oder ¹⁵N-markierten Verbindungen wurden synthetisiert oder von den Cambridge Isotope Laboratories, Cambridge, MA, USA bezogen. Die unterschiedlich markierten Ornithine wurden nach der Methode von Gould et al. [14] aus 2-Chlorethanol, K¹³CN (99 % ¹³C) bzw. KC¹⁵N (99 % ¹⁵N) und Dichtylacetamidomalonat, das markierte Glycerin aus Bromessigsäure und K¹³CN (99 % ¹³C) über Cyanessigsäure, Diethylmalonat und Diethyl-2-acetoxymalonat (Oxidation mit PbOAc₄) synthetisiert. [3-¹³C]- β -Alanin wurde durch Hydrierung (12 h, 25 °C, 90 mg Pt als Katalysator, in 30 mL Ethanol, angesäuert mit 0.2 mL konzentrierter HCl) der ¹³C-markierten Cyanessigsäure (1.5 g) hergestellt und chromatographisch an Kieselgel (Säule 30 × 2 cm, 1-Propanol/H₂O 4/1) gereinigt (Ausbeute: 0.3 g).

Eingegangen am 26. Februar 1994 [Z 6715]

- [1] R. Grote, Y. Chen, A. Zeeck, Z. Chen, H. Zähner, P. Mischnick-Lübbecke, W. A. König, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 595–601.
- [2] P. Hughes, J. Clardy, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3260–3264, zit. Lit.
- [3] a) M. Nakagawa, Y. Hayakawa, K. Furihata, H. Seto, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 477–484; b) K. Isshiki, T. Sawa, H. Naganawa, Y. Koizumi, N. Matsuda, M. Hamada, T. Takeuchi, M. Iijima, M. Osono, T. Masuda, M. Ishizuka, *ibid.* **1990**, *43*, 1195–1198; c) J. E. Leet, D. R. Schroeder, B. S. Krishnan, J. A. Matson, *ibid.* **1990**, *43*, 961–966; d) O. D. Hensens, R. P. Borris, L. R. Koupal, C. G. Caldwell, S. A. Currie, A. A. Haidri, C. F. Hominick, S. S. Honeycutt, S. M. Lindenmayer, C. D. Schwartz, B. A. Weissberger, H. B. Woodruff, D. L. Zink, L. Zitano, J. M. Fieldhouse, T. Rollins, M. S. Springer, *J. P. Springer*, *ibid.* **1991**, *44*, 249–254.
- [4] a) J. G. Buchanan, M. R. Hamblin, G. S. Sood, R. H. Wightman, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 917–918; b) C. S. J. Walpole, R. Wrigglesworth, *Nat. Prod. Rep.* **1989**, *6*, 311–346.
- [5] a) M. Yamato, T. Takeuchi, H. Umezawa, N. Sakata, H. Hayashi, M. Hori, *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 1263–1269, zit. Lit.; b) R. J. Parry, Y. Li, F.-L. Lü, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10062–10064.
- [6] Y. Takahashi, M. Nakayama, I. Watanabe, T. Deushi, H. Ishiwata, M. Shiratsuchi, G. Otani, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 1541–1546, zit. Lit.
- [7] a) T. Kameyama, A. Takahashi, H. Matsumoto, S. Kurasawa, M. Hamada, Y. Okami, M. Ishizuka, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1561–1567; b) A. Takahashi, H. Nakamura, D. Ikeda, H. Naganawa, T. Kameyama, S. Kurasawa, Y. Okami, T. Takeuchi, Y. Itaya, *ibid.* **1988**, *41*, 1568–1574.
- [8] a) C. L. Stevens, B. T. Gillis, J. C. French, T. H. Haskell, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 6088–6092; b) R. J. Parry, H. S. P. Rao, J. Mueller, *ibid.* **1982**, *104*, 339–340; c) R. J. Parry, J. V. Mueller, *ibid.* **1984**, *106*, 5764–5765.
- [9] a) N. Imamura, H. Kuga, K. Otaguro, H. Tanaka, S. Ömura, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 156–158; b) W. Giencke, O. Ort, H. Stark, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 671–676.
- [10] R. Thiericke, J. Rohr, *Nat. Prod. Rep.* **1993**, *10*, 265–289, zit. Lit.
- [11] a) D. Hege, H. Zähner, persönliche Mitteilung; b) D. Hege, Diplomarbeit, Universität Tübingen, **1988**; c) H. Bockholt, Diplomarbeit, Universität Göttingen, **1989**.
- [12] A. I. Scott, C. A. Townsend, K. Okada, M. Kajiwara, R. J. Cushey, P. J. Whitman, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 8069–8080.
- [13] Wir vermuten eine N-N-Verknüpfung durch N-Oxidation von Ornithin, die durch eine Ornithin-N⁵-Hydroxylase eingeleitet wird [5b].
- [14] J. Wityak, V. I. Palaniswamy, S. J. Gould, *J. Labelled Compd.* **1985**, *22*, 1155–1157.

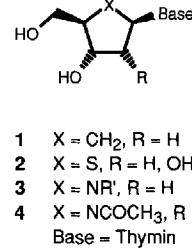
Synthese eines Azathymidins und dessen Einbau in Oligonucleotide **

Karl-Heinz Altmann*, Susan M. Freier, Uwe Pieles und Tammo Winkler

Die Hemmung der Proteinbiosynthese durch Antisense-Oligonucleotide ist ein grundsätzlich neuer Ansatz in der medizinisch-chemischen Forschung^[1]. Dieses Konzept basiert auf den sehr spezifischen Regeln, die die gegenseitige Erkennung von Nucleinsäuren bestimmen (Watson-Crick-Basenpaarung), wobei versucht wird, die selektive Hybridisierung eines (Antisense)-Oligonucleotids mit einer geeigneten komplementären Basensequenz auf einer Boten-RNA zur Unterdrückung der Expression eines mit einer bestimmten Krankheit in Zusammenhang stehenden Proteins zu nutzen^[1]. Die grundsätzliche Anwendbarkeit einer solchen Strategie ist bereits durch eine Vielzahl von In-vitro-Experimenten belegt worden; diese Experimente haben jedoch auch gezeigt, daß das entsprechende Antisense-Oligonucleotid zur Erreichung einer signifikanten Inhibition der Proteinsynthese genügend stabil gegenüber enzymatischem Abbau sein muß^[1]. Da natürliche Oligonucleotide unter physiologischen Bedingungen sehr schnell abgebaut werden, hat dies zum Entwurf und zur Synthese einer ganzen Reihe verschiedener Typen von Oligonucleotiden oder Oligonucleotidanaloga geführt, die einen modifizierten Zucker- oder Basenteil oder eine modifizierte Rückgratstruktur aufweisen^[1, 2]. Hierunter befinden sich u.a. Oligonucleotide, die carbocyclische Nucleoside **1**^[3, 4] oder auch Thia-Analoga von Thymidin^[6] oder von Ribothymidin **2**^[7] (Base = Thymin) als Bausteine enthalten. Im Gegensatz dazu sind bisher keine Oligonucleotide bekannt, die Nucleosidanaloge **3** enthalten, bei welchen die 2'-Desoxyribose-Einheit durch einen Pyrrolidinring ersetzt ist.

Während Verbindungen vom Typ **3** mit R' = H mit großer Wahrscheinlichkeit chemisch zu unstabil sind, um in Oligonucleotide eingebaut werden zu können^[8], könnten die entsprechenden acetylierten Derivate (R' = Ac) interessante Bausteine für Antisense-Oligonucleotide sein. Zwar kann die Hybridisierungsaffinität solcher modifizierter Oligonucleotide für komplementäre RNA nur schwer im Detail vorausgesagt werden, doch weisen Molekülmodelle eindeutig darauf hin, daß acetylierte Bausteine vom Typ **3** ohne größere strukturelle Störungen in einen Standard-Nucleinsäureduplex eingebaut werden können. Darüber hinaus scheint es wahrscheinlich, daß die größere Raumerfüllung eines Acetamido-Substituenten (im Vergleich zum Furanose-Sauerstoffatom) die Erkennung der entsprechenden Oligonucleotide durch nucleolytische Enzyme entscheidend behindern und somit zu erhöhter metabolischer Stabilität führen sollte.

Aufgrund dieser Überlegungen haben wir nun die Eigenschaften von Oligonucleotiden näher untersucht, die Nucleosid-



- 1 X = CH₂, R = H
- 2 X = S, R = H, OH
- 3 X = NR', R = H
- 4 X = NCOCH₃, R = H
- Base = Thymin

[*] Dr. K.-H. Altmann, Dr. U. Pieles

CIBA, Zentrale Forschungslaboratorien, R-1060.2.34
CH-4002 Basel (Schweiz)

Telefax: Int. + 61/697-9267

Dr. S. M. Freier

ISIS Pharmaceuticals Carlsbad, CA (USA)

Dr. T. Winkler

CIBA, Forschungsdienste, Physik

[**] Wir danken Dr. H.-P. Buser für die Bestimmung der Enantiomerenreinheit von **6** durch HPLC auf einem chiralen Träger.