

ratur gerührt. Die orangefarbene Reaktionslösung wird filtriert, und zum Filtrat werden 140 mg (0.86 mmol) NH_4PF_6 hinzugegeben. Nach zwei Tagen kristallisiert bei 4°C gelborangefarbenes **1**· $5\text{H}_2\text{O}$ aus (63%). Korrekte Elementaranalyse für $\text{Pt}_3\text{Pd}_2\text{N}_{28}\text{C}_{36}\text{H}_{76}\text{O}_{11}\text{P}_8\text{F}_{48}$; $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, D_2O , TSP): $\delta = 2.96$ (s, 8H; CH_2), 8.86 (d, $^3J = 3.4$ Hz, 2H; arom.), 9.76 (d, $^3J = 3.9$ Hz, 2H; arom.), 10.39 (s, 2H; arom.); $^{195}\text{Pt-NMR}$ (43 MHz, D_2O): $\delta = -2726$ (PtN_4).

1*: Die reine Nitratverbindung des Hexamers wird bis auf die Zugabe von NH_4PF_6 analog zu **1** in Lösung hergestellt. Sie kann anhand der $^1\text{H-NMR}$ -Daten identifiziert werden: $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, D_2O , TSP): $\delta = 2.97$ (s, 8H; CH_2), 8.83 (d, $^3J = 3.4$ Hz, 2H; arom.), 9.79 (d, $^3J = 3.9$ Hz, 2H; arom.), 10.66 (s, 2H; arom.); $^{195}\text{Pt-NMR}$ (43 MHz, D_2O): $\delta = -2719$ (PtN_4).

Eingegangen am 25. März,

veränderte Fassung am 21. September 1998 [Z11637]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 168–171

Stichwörter: Anionenerkennung · Palladium · Platin · Wirt-Gast-Chemie

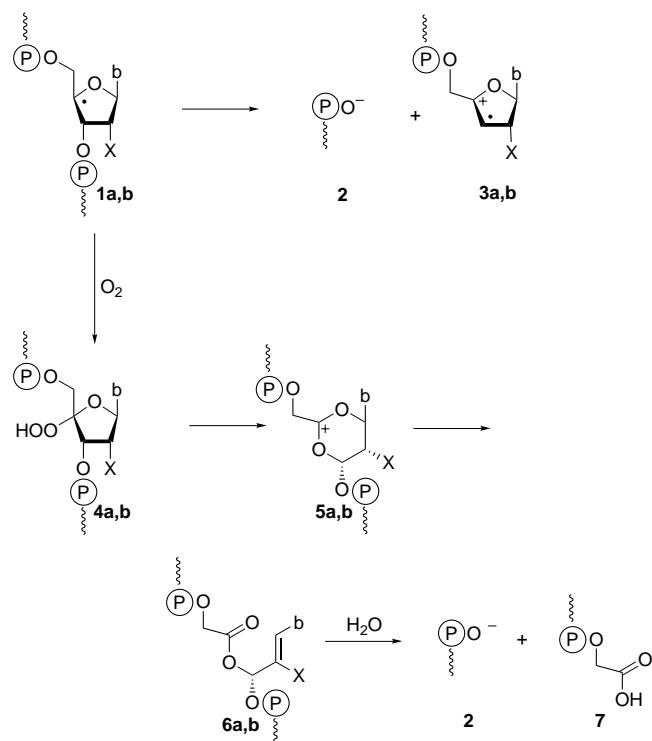
- [1] R.-D. Schnebeck, L. Randaccio, E. Zangrando, B. Lippert, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 128; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 119.
- [2] Kristallstrukturanalyse von **1**: $\text{C}_{36}\text{H}_{66}\text{O}_{12}\text{N}_{28}\text{C}_{36}\text{H}_{76}\text{O}_{11}\text{P}_8\text{F}_{48}\text{Pd}_3\text{Pt}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ($M_r = 3237.48$); monoklin; Raumgruppe $P2_1/c$; $a = 17.002(3)$, $b = 22.837(5)$, $c = 22.763(5)$ Å, $\beta = 93.91(3)^\circ$, $V = 8817.7(31)$ Å 3 , $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 2.439$ g cm $^{-3}$, $F(000) = 6192$, $\mu = 5.661$ mm $^{-1}$, 10265 beobachtete Reflexe mit $F_o > 4\sigma(F_o)$, $R_1 = 0.0484$, $wR_2 = 0.0958$, $S = 1.169$, max./min. Restelektronendichte: 1.33/–1.24 e Å $^{-3}$, Enraf-Nonius-KappaCCD-Diffraktometer,^[3] Mo $_{\text{K}\alpha}$ -Strahlung ($\lambda = 0.71069$ Å), Graphitmonochromator, Absorptionskorrektur: berücksichtigt in SCALEPACK,^[4] Korrektur für Lorentz- und Polarisationseffekte;^[4] Strukturlösung mit Patterson-Methode,^[5] Verfeinerung nach dem Kleinste-Fehlerquadrate-Verfahren,^[6] isotrope Verfeinerung der Fluoratome von vier Hexafluorophosphat-Ionen (P(5)–P(8)) wegen Fehlordnung. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-101228“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [3] NONIUS BV, KappaCCD-Programmpaket, Delft (Niederlande).
- [4] „Processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode“: Z. Otwinowsky, W. Minor, *Methods Enzymol.* **1996**, *276*, 307.
- [5] SHELXS-86: G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, *46*, 467.
- [6] G. M. Sheldrick, SHELXL-93, Programm zur Verfeinerung von Kristallstrukturen, Universität Göttingen, **1993**.
- [7] C. Meiser, B. Song, E. Freisinger, M. Peilert, H. Sigel, B. Lippert, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 388.
- [8] Assoziationskonstanten: Die $^1\text{H-NMR}$ -Messungen zur Bestimmung der Assoziationskonstanten wurden bei konstanter Temperatur (20°C) und konstantem pD (2.9) durchgeführt. Bei den drei unabhängigen Meßreihen wurde gelöstes Anionensalz (NH_4PF_6 , NaClO_4 , NaBF_4 und Na_2SO_4) in steigender Konzentration (0.5–10 Åquiv.) zu der reinen hexanuclearen Nitratverbindung **1*** (Konzentration: 0.01–0.02M) gegeben. Die Assoziationskonstanten werden analog Lit. [9] mit einer nichtlinearen Kleinste-Fehlerquadrate-Rechnung nach Newton-Gauß bestimmt, wobei die einzelnen Ergebnisse sich innerhalb der Fehlergrenzen nicht unterscheiden. K_{ass} (Fehler: 3σ) entspricht dem gewichteten Mittel der drei Einzelergebnisse.
- [9] H. Sigel, K. H. Scheller, V. M. Rheinberger, B. E. Fischer, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1980**, 1022.
- [10] P. D. Beer, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 71.
- [11] F. P. Schmidtchen, M. Berger, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1609, zit. Lit.
- [12] a) C. F. Mason, *Biology of Freshwater Pollution*, 2. Aufl., Longman, Harlow (Großbritannien), **1991**; b) R. G. Gymer, *Chemistry: An Ecological Approach*, Harper and Row, New York, **1973**.

- [13] a) A. P. Bisson, V. M. Lynch, M.-K. C. Monahan, E. V. Anslyn, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2435; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2340; b) P. L. Jones, K. J. Byrom, J. C. Jeffery, J. A. McCleverty, M. D. Ward, *Chem. Commun.* **1997**, 1361; c) S. Warzeska, R. Krämer, *Chem. Commun.* **1996**, 499; d) K. T. Holman, M. M. Halihan, J. W. Steed, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9567; e) M. Staffilani, K. S. B. Hancock, J. W. Steed, K. T. Holman, J. L. Atwood, R. K. Juneja, R. S. Burkhalter, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6324; f) M. Fujita, *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1996**, *54*, 953, zit. Lit.

Unterschiede zwischen 4'-RNA- und 4'-DNA-Radikalen beim anaeroben und aeroben Strangbruch**

Harald Strittmatter, Adrian Dussy, Urs Schwitter und Bernd Giese*

Der Mechanismus des DNA-Strangbruchs über 4'-DNA-Radikale **1a** wurde in den letzten Jahren weitgehend aufgeklärt (Schema 1).^[1] Unter anaeroben Bedingungen tritt ein



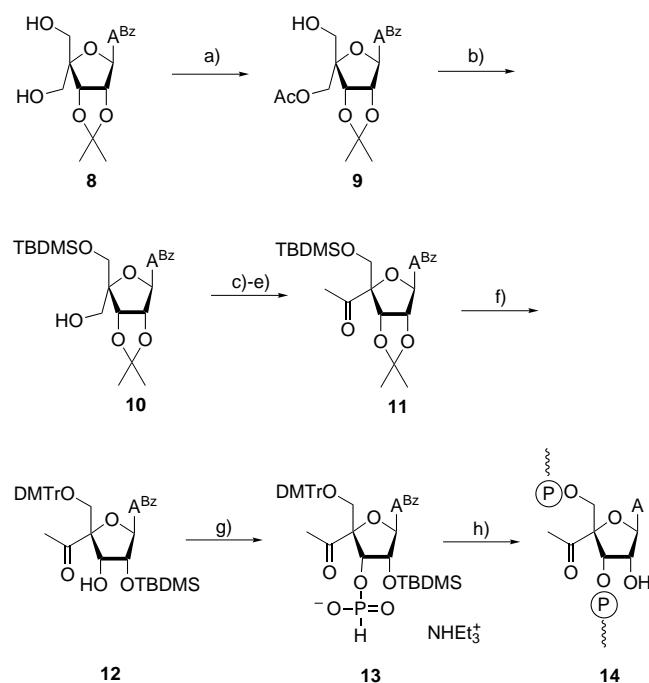
Schema 1. Nucleotid-Strangbruch über 4'-Radikale unter anaeroben und aeroben Bedingungen. – b = Nucleinbase, gewellte Linien = Enden des Nucleotidstrangs.

[*] Prof. Dr. B. Giese, Dipl.-Chem. H. Strittmatter, Dipl.-Chem. A. Dussy, Dr. U. Schwitter
Institut für Organische Chemie der Universität
St.-Johanns-Ring 19, CH-4056 Basel (Schweiz)
Fax: (+41) 61-267-1105
E-mail: giese@ubaclu.unibas.ch

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

spontaner Strangbruch auf, der im einleitenden Schritt die Phosphatbindung an C3' heterolytisch spaltet und das 5'-Phosphat **2** als stabiles Spaltprodukt liefert. In Gegenwart von O₂ kann das 4'-DNA Radikal **1a** über das Hydroperoxid **4a** zum Kation **5a** reagieren, aus dem nach β -Eliminierung (**5a** → **6a**) und Hydrolyse das 5'-Phosphat **2** und das 3'-Phosphorglycolat **7** als stabile Spaltprodukte hervorgehen.

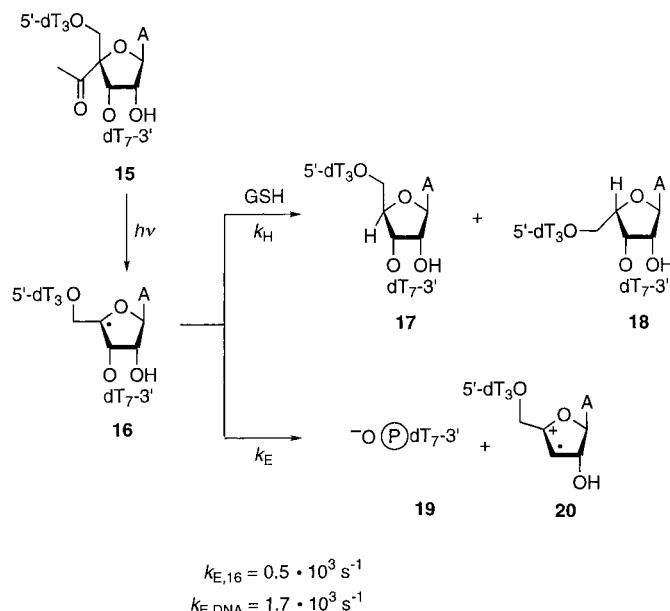
Der Mechanismus der entsprechenden radikalinduzierten RNA-Spaltung ist bisher kaum untersucht worden. Studien von Hecht^[2] zufolge wird RNA von Bleomycin, das intermediär 4'-Ribonucleotid-Radikale bildet, langsamer gespalten als DNA. Weil Bleomycin durch t-RNA^[3] besser gebunden wird als durch DNA, könnte die unterschiedliche Spaltungseffizienz an der unterschiedlichen Reaktivität der 4'-Oligonucleotid-Radikale **1a** und **1b** liegen. Um dies zu überprüfen, haben wir die Oligonucleotide **14** synthetisiert, bei denen eine Ribonucleotideinheit in 4'-Position die Acetylgruppe trägt (Schema 2). Analog den Photolyseexperimenten mit 4'-acylierten Desoxyribonucleotiden^[4] ist **14** eine Vorstufe für 4'-Ribonucleotid-Radikale.



Schema 2. Synthese 4'-acetylierter RNA. a) MeC(OMe)₃, Camphersulfonsäure, 20 °C; HOAc, 0 °C, 42%; beim zweiten Diastereomer (41%) wird die Acetylgruppe unter Bildung des Nucleosids **8** wieder abgespalten; b) TBDMSCl, Imidazol, 40 °C; NaOMe, 20 °C, 5 min, 72 °C; c) Dess-Martin-Periodinat, 80%; d) MeMgCl, 93%; e) Dess-Martin-Periodinat, 85%; f) CF₃COOH; TBDMSCl; CF₃COOH; DMTcI; 68%; g) PCl₃, 1,2,4-Triazol; Me₃NH⁺HCO₃⁻; 78%; h) DNA-Synthesizer. – A^{Bz} = Benzyladenin, DMTr = 4,4'-Dimethoxytrityl, dT = 2'-Desoxyribosylthymin, TBDMs = *tert*-Butyldimethylsilyl.

Die Synthese startet von der bekannten Verbindung **8**^[5] und folgt in den wesentlichen Schritten der Herstellung der entsprechenden modifizierten Desoxyribonucleotide.^[6] Für die Oligonucleotidsynthese an der Festphase eignet sich das 2',5'-geschützte Phosphit **13**.^[7] Zur Bestimmung der Geschwindigkeit des spontanen Strangbruches wurde das modi-

fizierte Oligomer **15** durch Photolyse in das 4'-Radikal **16** überführt und mit Glutathionsäurediethylester (GSH) im Überschuß abgefangen (Schema 3). Aus der Abhängigkeit

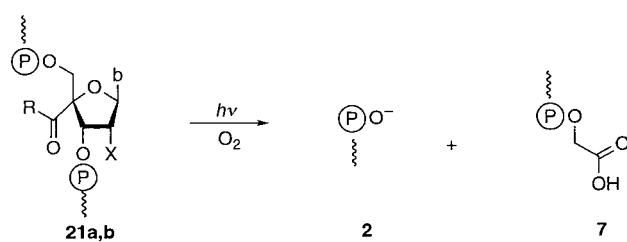


Schema 3. Bestimmung der relativen Geschwindigkeiten des photolytisch induzierten Strangbruchs. – A = Adenin.

des Produktgemisches (**17** + **18**)/**19** von der GSH-Konzentration ließ sich das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten k_H/k_E bestimmen.^[8] Mit einem k_H -Wert von $1.0 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ ^[9] ergab sich die Spaltungsgeschwindigkeit k_E für das 4'-Ribonucleotid-Radikal **16** zu $0.5 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$. Die Spaltungsgeschwindigkeit des entsprechenden 4'-Desoxyribonucleotid-Radikals war mit $k_E = 1.7 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{s}^{-1}$ gut dreimal höher.^[10]

Diese Abnahme der Spaltungsgeschwindigkeit für 4'-Ribonucleotid-Radikale läßt sich mit der destabilisierenden Wirkung der zusätzlichen OH-Gruppe auf das Radikalkation **20** deuten. Allerdings ist der Einfluß sehr gering, möglicherweise ist das oligomere Radikalkation durch das Lösungsmittel H₂O so gut solvatisiert, daß die 2'-OH-Gruppe nur einen geringen destabilisierenden Einfluß auf den Übergangszustand der Reaktion ausübt.^[11]

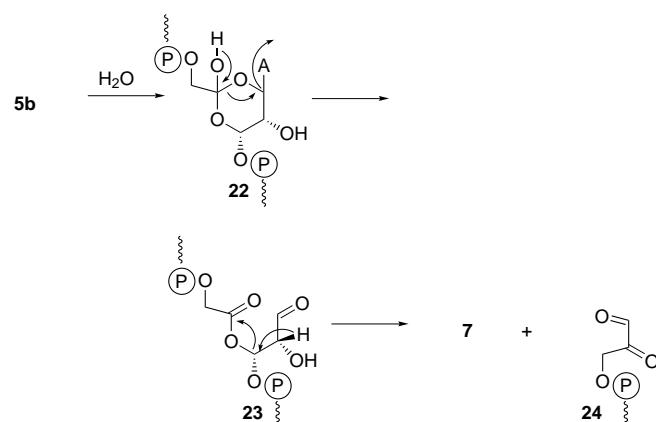
Experimente unter aeroben Bedingungen, bei denen die Hydroperoxide **4a**, **b** auftreten,^[4a] sollten ebenfalls durch die zusätzliche 2'-OH-Gruppe beeinflußt werden. Stubbe et al.^[12] haben anhand von Desoxyribonucleotiden dargelegt, daß nach Criegee-Umlagerung das Kation **5a** stereoselektiv zu **6a** eliminiert, wobei das pro-*R*-Proton an C2' von **5a** abgespalten wird (Schema 1). Im Ribonucleotid ist diese Position durch die OH-Gruppe besetzt, so daß der Eliminierungsschritt **5b** → **6b** verlangsamt werden sollte. Unsere Experimente belegen nun, daß die 2'-OH-Gruppe einen deutlichen Einfluß auf die Zusammensetzung der aeroben Spaltprodukte ausübt. Während im Desoxyriboseoligonucleotid **21a** bevorzugt das 5'-Phosphat **2** gebildet wird, entsteht aus dem Ribonucleotid **21b** das 3'-Phosphorglycolat **7** als Hauptprodukt (Schema 4).^[13] Die bevorzugte Bildung des 5'-Phosphats **2** aus Desoxyribonucleotiden entspricht dem Stubbe-Mechanis-



a: X = H; b = Thymin	$55 \pm 6\%$	$18 \pm 4\%$
b: X = OH; b = Adenin	$13 \pm 2\%$	$39 \pm 5\%$

Schema 4. Unterschiede in der Produktzusammensetzung des aeroben photolytischen Strangbruchs.

mus,^[12] gemäß dem die Zwischenstufe **6a** das 5'-Phosphat **2** in einer S_N1-Reaktion abspaltet (Schema 1). Das 3'-Phosphorglycolat **7** entsteht in einem späteren Schritt und wird deswegen in geringerer Ausbeute gebildet. Im Ribosesystem **5b** verlangsamt die 2'-OH Gruppe die Eliminierung **5b** → **6b**, so daß das Kation **5b** möglicherweise in einer Konkurrenzreaktion von H₂O abgefangen werden kann (**5b** → **22**). Die Fragmentierung (**22** → **23**) und die anschließende Eliminierung (**23** → **7 + 24**) könnten in einer zusätzlichen Reaktion des 3'-Phosphorglycolats **7** als Spaltprodukt liefern (Schema 5). Dieser konkurrierende Weg im Ribosesystem ist eine mögliche Erklärung für das Überwiegen des 3'-Phosphorglycolates **7** beim aeroben Strangbruch des 4'-Ribonucleotid-Radikals **1b**.^[14]



Schema 5. Abspaltung des Kations **5b** durch H₂O, gefolgt von Fragmentierung und Eliminierung unter Bildung von **7**.

Die 2'-OH-Gruppe in Ribonucleotiden beeinflußt also die Geschwindigkeit der spontanen Spaltung von 4'-Nucleotid-Radikalen und verändert die Produktzusammensetzung bei der aeroben Spaltung. Beide Effekte beruhen auf einer Verlangsamung von Reaktionsschritten (**1** → **2 + 3** bzw. **5** → **6**) im Strangbruch des Ribosesystems. Während die 2'-OH-Gruppe die ionische Spaltung der RNA im Vergleich zu der der DNA beschleunigt,^[15] verlangsamt sie demgegenüber den radikalischen RNA-Abbau.

Stichwörter: DNA-Spaltung • Nucleotide • Radikalionen • RNA

- [1] Übersicht: W. K. Pogozelski, T. D. Tullius, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1089.
- [2] a) S. M. Hecht, *Bioconjugate Chem.* **1994**, 5, 513; b) S. M. Hecht in *Polynucleotide Cleavage and the Expression of Antitumor Activity by Bleomycin* (Hrsg.: S. M. Hecht), Kluwer Academic, Dordrecht, **1996**, S. 77.
- [3] C. E. Holmes, S. M. Hecht, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 25909.
- [4] a) B. Giese, X. Beyrich-Graf, P. Erdmann, M. Petretta, U. Schwitter, *Chem. Biol.* **1995**, 2, 367; b) A. Marx, M. P. MacWilliams, T. A. Bickle, U. Schwitter, B. Giese, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1131.
- [5] R. Youssefeyeh, D. Tegg, J. H. Verheyen, G. H. Jones, G. H. Moffat, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18, 435.
- [6] Die Konfiguration an C4' des Nucleosids **11** wurde mit der NOE-Differenzspektroskopie bestimmt. Es trat ein mittlerer NOE-Effekt zwischen 5'-H und 3'-H und ein kleinerer zwischen C4'-(Acetoxymethyl) und 1'-H sowie zwischen der Methylgruppe des Essigsäureesters und einer der Methylgruppen der Isopropylidenschutzgruppe auf.
- [7] Das Phosphit **13** wurde durch Pivaloylchlorid aktiviert, mit dem auf der Festphase befindlichen Oligonucleotid gekuppelt, und die Oligonucleotidsynthese wurde am Synthesizer vollendet.
- [8] Eine wässrige Lösung (100 µL), die etwa 0.3 nmol des modifizierten Oligonucleotids und 10–70 nmol GSH enthielt, wurde unter Argon 5 min bestrahlt (Osram 500 W, 320 nm Filter, 30 °C). Die Produkte wurden auf einer Umkehrphasen-HPLC-Säule-getrennt und über MALDI-TOF-MS zugeordnet. Das Geschwindigkeitsverhältnis k_H/k_E wurde durch das Produktverhältnis (**17 + 18**)/**19** und der Glutathionkonzentration bestimmt: B. Giese, A. Dussy, E. Meggers, M. Petretta, U. Schwitter, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11130.
- [9] C. Tronche, F. N. Martinez, J. H. Horner, M. Newcomb, M. Senn, B. Giese, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5845.
- [10] Diese Experimente wurden analog der in Lit. [8] angegebenen Literatur durchgeführt.
- [11] In Modellexperimenten mit ungeladenen Phosphorsäuretriestern in Alkohol ist der Effekt der 2'-OH Gruppe deutlich größer: D. Crich, X. Mo, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 245. Dies belegt, wie gefährlich die Übertragung von Modellreaktionen niedermolekularer Verbindungen in organischen Lösungsmitteln auf Biomoleküle in H₂O ist.
- [12] a) S. Ajmera, J. C. Wu, L. Worth, Jr., L. E. Rabow, J. Stubbe, J. W. Kozarich, *Biochemistry* **1986**, 25, 6586; b) G. H. McGall, L. E. Rabow, G. W. Ashley, S. H. Wu, J. W. Kozarich, J. Stubbe, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 4958.
- [13] Die wässrige Lösung (200 mL) aus 0.3 nmol der modifizierten Oligonucleotide **21a** (5'-dCGCGT*TACTGCT-3') sowie **21b** (5'-d[TCTC]A*d[CTAACTA]-3') und etwa 75 nmol GSH wurde mit Sauerstoff gesättigt. Nach einer Bestrahlungszeit von 5–10 min (Osram 500 W, 320 nm Filter, 25 °C) konnten die Produkte durch Umkehrphasen-HPLC getrennt und die Signale mit MALDI-TOF-MS zugeordnet werden. Neben dem 5'-Phosphat **2** und dem 3'-Phosphorglycolat **7** wurden in allen Experimenten 2–8% 3'-Phosphat registriert.
- [14] Eine bevorzugte Bildung des 3'-Phosphorglycolats **7** könnte auch nach dem Burger-Mechanismus erklärt werden, der im DNA-System eine bevorzugte Abspaltung des Glycolats **7** aus der Zwischenstufe **6a** diskutiert: R. M. Burger, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1153.
- [15] Übersicht: B. N. Trawick, A. T. Daniher, J. K. Bashkin, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 939.

Eingegangen am 7. August 1998 [Z12265]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 135–137