

bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44)1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

- [9] Beispielsweise sind die ^1H -NMR-Signale der drei Methylgruppen ($\delta=0.8$; t, 9H) der Ethylgruppen von **2** bei 297 K einander äquivalent. Jedoch spaltet sich dieses Signal bei 180 K in zwei Signale auf ($\delta=1.2$; br., 3H; $\delta=0.3$; br., 6H).
- [10] L. N. Kuleshova, P. M. Zorkii, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1981**, 37, 1363–1366.
- [11] Wir erwarteten, daß die drei Ethylgruppen von Ammonium-gebundenem **2** von den drei Pyrazolylgruppen abgewandt sind. Es scheint, daß die Kristallpackung zweier Moleküle des Komplexes innerhalb der Einheitszelle eine der Ethylgruppen dazu zwingt, sich in Richtung der Pyrazolringe auszurichten: C. Walsdorff, K.-M. Park, J. Oh, K. Kim, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1999**, 55, 108–110.
- [12] Die Ionen-selektiven Membranen wurden durch langsames Verdunsten einer Lösung von 1 Gew.-% Ionophor, 33 Gew.-% Polyvinylchlorid und 66 Gew.-% Bis(2-ethylhexyl)adipat in THF hergestellt. Die Standardzelle der ISE wurde mit einer 0.10M NH_4Cl -Lösung befüllt und mit einem AgCl-beschichteten Silberdraht versehen. Die Selektivitätskonstanten für jede Elektrode wurden mit der Zweilösungen-Methode bei einer NH_4^+ -Konzentration von 0.010M (pH 7.2, 0.10M Tris-Puffer) ermittelt: Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato, *Pure. Appl. Chem.* **1965**, 67, 507–518.
- [13] Es wurde über einen elegant konstruierten Kryptanden berichtet, der hochempfindlich und -selektiv NH_4^+ bindet. Der Kryptand ist jedoch viel zu basisch (basischer als Ammoniak) und hydrophil, um für eine ISE eingesetzt werden zu können: E. Graf, J.-P. Kintzinger, J.-M. Lehn, J. LeMoigne, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 1672–1678.
- [14] Allerdings bindet Nonactin stärker an NH_4^+ als **2**.
- [15] 1,3,5-Tris(bromomethyl)-2,4,6-triethylbenzol wurde nach einer bekannten Vorschrift hergestellt: C. Walsdorff, W. Saak, S. Pohl, *J. Chem. Res. (S)* **1996**, 282–283, *J. Chem. Res. (M)* **1996**, 1601–1618.

DNA verhält sich nach ionisierender Bestrahlung wie ein Isolator und nicht wie ein „molekularer Draht“**

Michael G. Debije, Michael T. Milano und William A. Bernhard*

Das Verständnis von Elektronen- und Lochtransport in Polynucleotiden ist eine wichtige Voraussetzung für die Vorhersage von biologischen Auswirkungen ionisierender Strahlung auf DNA. Diese Prozesse sind biologisch relevant, da ungefähr 50% des Folgeschadens durch direkte Ereignisse,^[1] d.h. durch Abgabe eines Elektrons (\rightarrow Löcher) oder dessen Aufnahme im DNA-Molekül selbst^[2] oder aber durch

schnellen Loch- und Elektronentransfer vom Lösungsmittel auf die DNA, verursacht werden.^[3] Transferprozesse sind chemisch relevant, da die Verteilung der Schäden, die durch die DNA-Reparaturenzyme behoben werden müssen, von Elektronentransferprozessen abhängt, die im Bruchteil einer Sekunde nach der Energieaufnahme ablaufen. Während der letzten vierzig Jahre haben Wissenschaftler, die sich mit der Strahlenwirkung auf DNA befaßten, besonders auch die Leitfähigkeit der DNA untersucht. Die Ergebnisse dieser Arbeiten, auf die weiter unten eingegangen wird, deuten ziemlich stark darauf hin, daß sich die DNA nicht wie ein „molekularer Draht“, sondern wie ein Isolator verhält.

Eine Reihe von photochemischen Untersuchungen des Elektronentransports hat in den letzten Jahren die Ansicht entstehen lassen, daß die DNA Eigenschaften eines „molekularen Drahtes“ besitzen könnte. 1993 kamen Murphy et al. zu dem Schluß, daß die Elektronenübertragung über eine große Distanz (>4.0 nm) und schnell ($>10^9$ s $^{-1}$) erfolgt.^[4] Auch in folgenden Untersuchungen^[4] wurde die Abhängigkeit der Elektronentransfergeschwindigkeit von der zu überbrückenden Distanz als relativ gering eingestuft; d.h., der Exponentialfaktor β ^[5] beträgt ca. 0.2 \AA^{-1} . Dieser äußerst niedrige β -Wert wurde auf die erhöhte Elektronen- und Lochmobilität durch „ π -Elektronen-Wege“ entlang der gestapelten Basen zurückgeführt. Andere photochemische Experimente führten zu viel höheren β -Werten. Meade et al. erhielten $\beta \approx 1.0 \text{ \AA}^{-1}$ für den Elektronentransport,^[6] während Lewis et al. für den Lochtransport $\beta \approx 0.6 \text{ \AA}^{-1}$ ermittelten.^[7] Es wird zur Zeit intensiv diskutiert, über welche Entfernungen, mit welcher Geschwindigkeit und nach welchem Mechanismus der Elektronentransport in DNA abläuft.^[8–11]

Bei diesen Diskussionen fehlt die Auseinandersetzung mit früheren, größtenteils aus der Strahlenforschung stammenden Befunden, die schwer mit ungewöhnlich hohen Elektronentransfergeschwindigkeiten über große Entfernungen in Einklang zu bringen sind (d.h. einem β -Wert, der um eine Größenordnung kleiner ist als 1.0 \AA^{-1}). Dies ist teilweise darauf zurückzuführen, daß der Mechanismus des Elektronentransfers in DNA möglicherweise von der Methode abhängen könnte, mit der die Elektronen und Löcher erzeugt werden. Durch elektronische Anregung induzierte chemische Prozesse unterscheiden sich oft von denen, die durch ionisierende Strahlung ausgelöst werden. Elektronen- und Lochmobilität in ausgedehnten Basenstapeln sollten unabhängig von der Quelle der Elektronen und Löcher zur DNA-Leitfähigkeit beitragen, obgleich verschiedene Artefakte existieren, die eine gegenteilige Interpretation vortäuschen. Die Feststellung, daß Elektronen und Löcher durch die Basenstapel des DNA-Doppelstrangs wandern, steht hier nicht zur Debatte; dies wurde schon vor Jahrzehnten bewiesen.^[12, 13]

Wir berichten hier, daß die DNA bei 4 K sowohl Löcher als auch Elektronen sehr effizient einfängt. Da die Ausbeute der eingefangenen Ladungen von der Konkurrenz zwischen Elektron-Loch-Rekombination und Abfangreaktionen abhängt, wird sie auch durch die Elektronentransfergeschwindigkeit und Übertragungsdistanz beeinflusst. Erfolgt der Ladungstransport über große Entfernungen sehr schnell, werden wenige Radikale eingefangen. Murphy et al. leiteten

[*] Prof. W. A. Bernhard, M. G. Debije, M. T. Milano
Department of Biochemistry and Biophysics
University of Rochester
Rochester, NY 14642 (USA)
Fax: (+1) 716-275-6007
E-mail: william_bernhard@urmc.rochester.edu

[**] Wir danken Loren Williams und Gary Hu für die Kristalle von d(CGATCG):Anthracen, Tom Colby und Michael Strickler für die Hilfe bei der Bestätigung der Kristallstrukturen, Yurii Razskazovskii für hilfreiche Diskussionen sowie Kermit R. Mercer für technische Unterstützung. Diese Arbeit wurde vom National Cancer Institute, DHHS, gefördert (PHS Grant 2-R01-CA32546). Für den Inhalt dieser Veröffentlichung sind allein die Autoren verantwortlich; er stellt nicht die offiziellen Ansichten des National Cancer Institute dar.

eine hohe Elektronentransfergeschwindigkeit über eine (wahrscheinlich) bekannte Entfernung aus der abnehmenden Fluoreszenzausbeute ab.^[14] Weil in ihrer Untersuchung aber der direkte Beweis für einen Elektronentransfer fehlt, können andere Erklärungen nicht ausgeschlossen werden.^[15, 16] Für diese Experimente sind eindeutig definierte Proben erforderlich, wie die in unserer Untersuchung verwendeten kristallinen Oligonucleotide.

Kristalle der Oligonucleotide d(CTCGAG) und d(CCCTAGGG) wurden nach bekannten Verfahren erhalten.^[17, 18] Zur Bestätigung der bereits veröffentlichten Strukturen der Kristalle wurden diese bei 77 K mit einem MSC-R-Axis-II-Röntgenstrahlendetektor mit Kühlvorrichtung untersucht. Die Proben wurden bei 4 K mit 70-keV-Röntgenstrahlung bestrahlt,^[19] und die Elektronenspinresonanz (EPR)-Spektren wurden bei derselben Temperatur aufgenommen. Die in Abbildung 1 gezeigten ersten Ableitungen

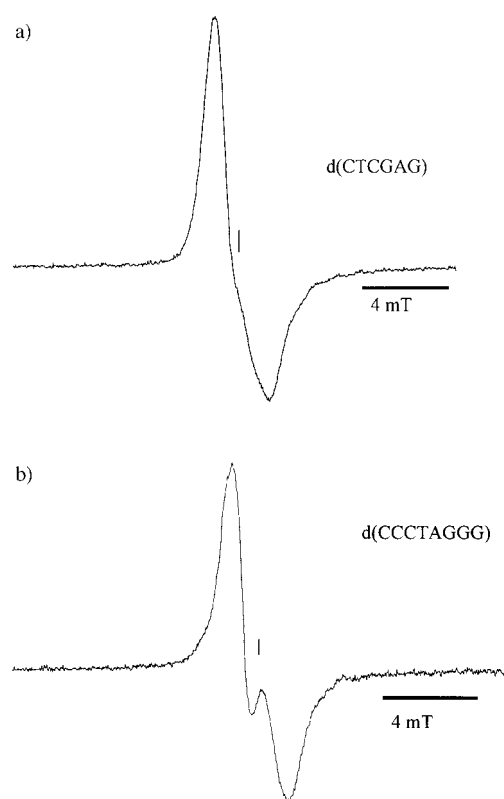


Abbildung 1. EPR-Spektrum (Single-scan, 20 mT, Q-Band) von a) einem Einkristall von d(CTCGAG) bei 4 K nach Bestrahlung (Dosis 12 kGy; die Kristallorientierung wurde nicht bestimmt) und b) einem Einkristall von d(CCCTAGGG) bei 4 K nach Bestrahlung (Dosis 20 kGy; B_0 parallel zur kristallographischen a -Achse). Die Position von $g = 2.0023$ ist durch eine senkrechte Linie gekennzeichnet.

der Spektren der bestrahlten Proben sind nach unserer Kenntnis die ersten veröffentlichten EPR-Spektren von Einkristallen reiner, nicht durch Reagentien modifizierter DNA. Die Spektren deuten auf eine auf Ein-Elektronen-Reduktion von Cytosin und Ein-Elektronen-Oxidation von Guanin basierende Radikalpopulation hin.^[20, 21] Unser Interesse gilt besonders der Gesamtausbeute an eingefangenen Radikalen in DNA.

Die Ausbeute an freien Radikalen wurde aus der Anfangssteigung der Dosis-Wirkungs-Kurven (linearer Bereich vor der Sättigung, Dosis < 5 kGy) in Abbildung 2 und 3 berechnet.

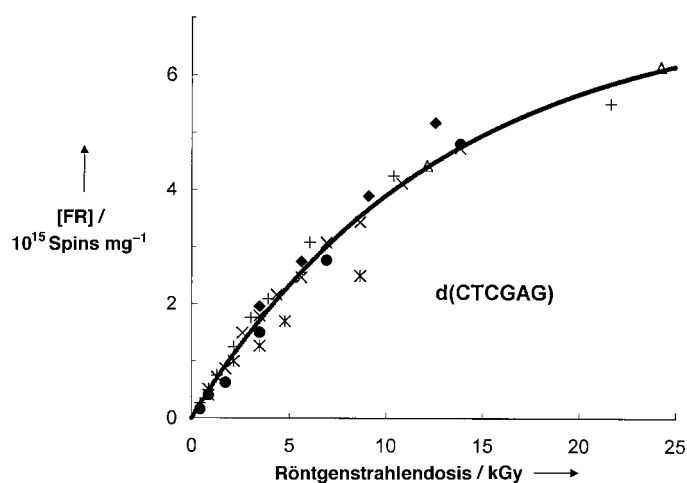


Abbildung 2. Abhängigkeit der Ausbeute an freien Radikalen von der Röntgenstrahlendosis für sechs verschiedene kristalline Proben von d(CTCGAG). Messung und Bestrahlung erfolgten bei 4 K. Die Kurve entspricht einer Anpassung gemäß $C = C_i(1 - e^{-\sigma D})$, wobei C die Konzentration der freien Radikale bei der Dosis D , C_i die Konzentration bei Dosissättigung und σ der Querschnitt der Radikalauslöschung bedeutet; $C_i = 7.2 \times 10^{18}$ freie Radikale pro g und $\sigma = 0.078 \text{ kGy}^{-1}$. Daraus leiten wir für d(CTCGAG) bei hohen Strahldosen ein maximales Einfangvermögen von 7.2×10^{18} freie Radikale pro g ab.

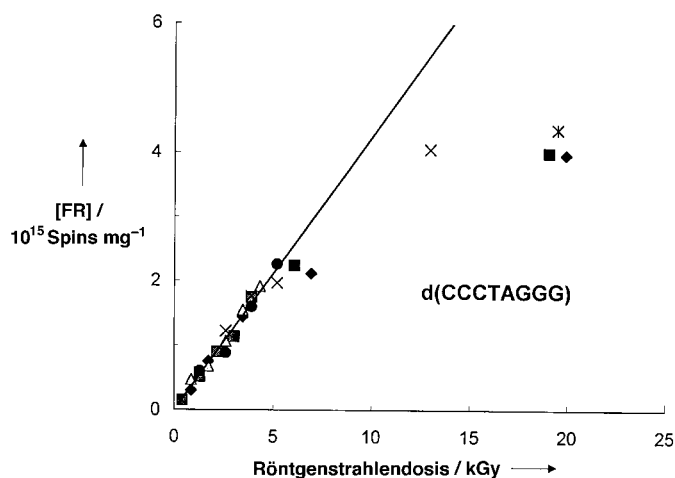


Abbildung 3. Abhängigkeit der Ausbeute an freien Radikalen von der Röntgenstrahlendosis für sechs verschiedene kristalline Proben von d(CCCTAGGG). Messung und Bestrahlung erfolgten bei 4 K. Der lineare Bereich unterhalb 5 kGy wurde angepaßt. Aus der Steigung dieser Kurve konnten wir die Ausbeute an freien Radikalen für die d(CCCTAGGG)-Kristalle bestimmen. Die Ausbeuten für die d(CTCGAG)-Proben wurden nach dem gleichen Verfahren ermittelt.

net. Zur Ermittlung der Konzentration der durch die DNA eingefangenen freien Radikale wurde die Intensität jedes Spektrums mit der eines Rubin-Standards verglichen.^[19]

Die Ausbeute des d(CTCGAG)-Systems wurde anhand von sechs verschiedenen Einkristallen oder polykristallinen Proben mit 28–209 μg Gewicht bestimmt. Die Oligonucleotidmoleküle stapeln sich im d(CTCGAG)-Kristall pseudo-

kontinuierlich in einer Ende-an-Ende-Anordnung unter Beibehaltung des π -Elektronensystems. Der Doppelstrang liegt als B-Helix vor. Die gemessene Ausbeute an freien Radikalen (FRY, free radical yield) beträgt $G(\text{fr}) = 0.75 \pm 0.14 \mu\text{mol}$ freie Radikale pro Joule absorbiertener Energie (fr = freies Radikal). An sechs verschiedenen kristallinen oder polykristallinen d(CCCTAGGG)-Proben mit 71–230 μg Gewicht wurde die Radikalausbeute bestimmt. Die Helix von d(CCCTAGGG) weist A-Konformation auf, und das terminale Basenpaar eines Doppelstrangs berührt das Zucker-Phosphat-Rückgrat seines Gitternachbarn; es besteht keine Kontinuität der Basenstapelung zwischen den benachbarten Octameren. Die FRY beträgt $G(\text{fr}) = 0.70 \pm 0.04 \mu\text{mol J}^{-1}$. Die $G(\text{fr})$ -Werte sind recht aufschlußreich: Erstens ist der absolute Betrag hoch, zweitens der Wert für einen gegebenen Kristalltyp von der Kristallgröße unabhängig, und drittens sind die Werte der beiden verschiedenen Kristalltypen annähernd gleich.

Die gemessene Ausbeute an eingefangenen Radikalen in kristalliner DNA entspricht etwa 60 % (ca. 0.7/1.2) der ursprünglich durch die Bestrahlung erzeugten Radikalmenge (die ursprüngliche Radikalausbeute in flüssigem Wasser, das eine ähnliche Abfangwirkung wie DNA hat,^[22] beträgt $G(\text{fr}) = 1.2 \mu\text{mol J}^{-1}$ ^[23]). Dies ist eine außergewöhnlich hohe Ausbeute in Anbetracht der Tatsache, daß ein großer Bruchteil der Primärradikale durch geminale Rekombination verlorengeht. Hohe Ausbeuten können zudem nur dann auftreten, wenn die Leitfähigkeit der DNA-Kristalle sehr gering ist. In einem Leiter gibt es keine wirksamen Barrieren, die eine Vereinigung der Elektronen und Löcher verhindern. Es ist bekannt, daß ein dreidimensionaler Leiter wie Kupfer eine Radikalausbeute von Null aufweist. Ein fester zweidimensionaler Leiter könnte aufgrund seiner Schichtstruktur ein Elektron oder Loch pro Leiterebene einfangen. Zum Vergleich bestimmten wir $G(\text{fr})$ bei 4 K für den zweidimensionalen Leiter Graphit unter Verwendung einer 0.5-mm-Bleistiftmine, die bei Raumtemperatur eine Leitfähigkeit von 1 S cm^{-1} aufweist. Der $G(\text{fr})$ -Wert von Graphit ($< 0.005 \mu\text{mol J}^{-1}$) ist zu klein, um in Gegenwart des Quarzprobenhalters nachgewiesen werden zu können.

Kristalle von α -Methylmannosid (Isolator) ergaben dagegen eine Ausbeute von $0.5 \mu\text{mol J}^{-1}$ bei 4 K. Dieser Wert entspricht ungefähr den Werten der DNA-Proben, die als Filme, Pulver und Kristalle bestrahlt wurden (Tabelle 1). In

Anbetracht der vielen Untersuchungen zum Elektronentransport in Proteinen (siehe z. B. Lit. [24]) bestimmten wir die FRY von Lysozymkristallen bei 4 K. Der $G(\text{fr})$ -Wert von Lysozym ($0.57 \pm 0.03 \mu\text{mol J}^{-1}$) zeigt, daß die Wahrscheinlichkeit der Elektron-Loch-Rekombination im Proteinkristallgitter ungefähr gleich groß ist wie in der DNA. Die Reichweite des Elektronen- und Lochtransports in den Lysozymkristallen ist deshalb mit der in DNA vergleichbar.

Wenn „ π -Elektronen-Wege“ in DNA existieren, ist der d(CTCGAG)-Kristall optimal zu deren Nachweis geeignet. Vorausgesetzt die Kontinuität der Basenstapelung hat eine elektrische Kontinuität zur Folge, könnte der Hexamerkristall maximal zwei freie Radikale je Doppelstrang einfangen (d. h. ein Elektron oder Loch pro „Strang“). Da sich jeder „Strang“ von Basenstapeln über die Länge des Kristalls erstreckt, hängt die Stranglänge von der Größe und Form des Kristalls ab. Wenn man von einem Radikal pro Basenstapelstrang in einem kubischen Kristall von 100 μg d(CTCGAG) ausgeht,^[25] errechnet sich eine Konzentration an freien Radikalen von weniger als 10^{15} pro g. Die gemessenen Konzentrationen liegen um mehr als drei Größenordnungen über diesem Wert. Die gemessene maximale Sättigungskonzentration beträgt 7.2×10^{18} freie Radikale pro g. Jeder Strang mit ungefähr 10^6 Basen fängt im Durchschnitt ca. 6000 freie Radikale ein oder, aus einem anderen Blickwinkel gesehen, die Dichte der freien Radikale beträgt bei Dosissättigung, ein gleichmäßiges Einfangen im ganzen Kristall vorausgesetzt, ein freies Radikal pro 57 Basenpaare, was einem Abstand von 17 nm entspricht. Da die Energieverteilung nicht gleichmäßig ist,^[26] ist der durchschnittliche Abstand zwischen den Radikalen kleiner.

Die hohe Dichte der durch d(CTCGAG) eingefangenen Löcher und Elektronen bei Dosissättigung beweist eindrucksvoll, daß in der B-Helix keine leitfähigen Zustände vorliegen. Wenn eine weitreichende Ladungsübertragung auftritt, sollte die FRY in d(CTCGAG)-Kristallen von der Kristallgröße abhängen. Bei einer Verringerung der Größe eines kubischen Kristalls um das Zehnfache müßte die FRY um den Faktor 2.154 zunehmen. Obwohl wir unterschiedlich große Kristalle ($\leq 10 \mu\text{g}$ bis $\geq 100 \mu\text{g}$) untersuchten, liegen die FRYs innerhalb der berechneten Standardabweichung von $\pm 20\%$. Dies deutet ebenfalls darauf hin, daß die Entfernungen, über die Ladungstransport stattfindet, bei 4 K begrenzt sind.

Durch einen Vergleich der beiden Kristalltypen kann die Entfernung der Elektronenübertragung beurteilt werden. Der längste Basenstapel in d(CCCATGGG) umfaßt 8 Basenpaare, und doch ist der $G(\text{fr})$ -Wert annähernd gleich groß wie in d(CTCGAG), das kontinuierliche Basenstapel enthält. Diese Beobachtung stimmt mit vielen anderen Untersuchungen überein, die auf eine kurze mittlere Übertragungsdistanz eines thermischen Elektrons in DNA hindeuten. EPR-Messungen bei 4–77 K haben gezeigt, daß der Transport von thermischen Elektronen und Löchern in DNA wenigstens über zwei Basenpaare,^[19] im Durchschnitt aber über 3–11 Basenpaare verläuft.^[27, 28]

Einen weiteren Beweis für die geringe Ladungsübertragungsdistanz in DNA liefern EPR-Studien von Einkristallen eines mit Anthracyclin modifizierten hexameren Oligonucleotids.^[19] Der Komplex enthält zwei Anthracyclinmoleküle pro d(CGATCG), die jeweils zwischen den CG-Basenpaaren

Tabelle 1. Ausbeute an freien Radikalen bei 4 K nach ionisierender Bestrahlung von DNA-Proben und Vergleich mit bekannten Leitern und Isolatoren.

Material	Form	Ausb. [$\mu\text{mol J}^{-1}$]
Kupfer	Draht	0
Graphitstab	Pulver, gepreßt	< 0.005
α -Methylmannosid	kristallin	$0.44 \pm 0.03^{[a]}$
Lysozym	kristallin	$0.57 \pm 9.04^{[a]}$
Kalbsthymus-DNA	Film	$0.4 - 0.5^{[b]}$
Kalbsthymus-DNA	Pulver, lyophilisiert	$0.5 - 0.6^{[b]}$
d(CCCTAGGG)	kristallin	$0.70 \pm 0.04^{[a]}$
d(CTCGAG)	kristallin	$0.75 \pm 0.14^{[a]}$
d(CGATCG):Anthracyclin	kristallin	$0.24 \pm 0.03^{[a]}$

[a] Angegeben sind relative Fehler; absolute Fehler liegen höher ($\pm 25\%$).^[46] [b] 16 Hydratwassermoleküle pro Nucleotid.^[46]

intercaliert sind. Die Basenstapelung im Kristall ist kontinuierlich.^[29] EPR-Messungen an Einkristallen zeigen, daß Löcher und Elektronen nur im Anthracyclinmolekül eingefangen werden; im DNA-Duplex werden keine Radikale beobachtet. Dies ist auch aufgrund der Redoxeigenschaften von Anthracyclin zu erwarten und beweist, daß Löcher durch die Basenstapel wandern. Unsere FRY-Bestimmungen an diesen Kristallen bei 4 K ergaben $G(\text{fr}) = 0.27 \pm 0.03 \mu\text{mol J}^{-1}$.^[30] Die hohe Dichte der einfangenden Anthracyclinmoleküle führt zu keiner Erhöhung der Ausbeute. Dies ist verständlich, wenn man davon ausgeht, daß die reine Duplex-DNA an sich eine hohe Dichte an Einfangstellen aufweist, so daß thermische Elektronen und Löcher nur über sehr kurze Entfernungen transportiert werden.

Wenn DNA eine metallähnliche Bandstruktur hätte, müßte die Leitfähigkeit bei tiefen Temperaturen ansteigen. Dieses Phänomen wurde jedoch nicht beobachtet; das Gegenteil ist der Fall. Wir haben bisher $G(\text{fr})$ -Werte und Temperatureffekte an zwölf verschiedenen Kristalltypen gemessen, die einen großen Bereich der potentiellen Konformationen, Konfigurationen und Packungen abdecken. Wir haben festgestellt, daß der $G(\text{fr})$ -Wert kristalliner DNA, die bei 4 K bestrahlt und anschließend auf 240 K erwärmt wurde, nur noch 20–40 % des Wertes bei 4 K betrug.^[31, 32] Die Änderungen im EPR-Spektrum deuten darauf hin, daß die Radikale bei tiefen Temperaturen oberflächlich eingefangen werden und gleichzeitig eine reversible Protonierung/Deprotonierung stattfindet. Diese Tieftemperatur-Radikale wandeln sich in eine Spezies um, die bei höheren Temperaturen stärker eingefangen wird und in typischer Weise irreversibel protoniert/deprotoniert wurde.^[33] Die geschätzte Minimaldistanz der thermisch aktivierten Wanderung beträgt ungefähr 2 nm, wie aus den fehlenden spektralen Charakteristika infolge Radikalpaarbildung abgeleitet wurde.^[27] Die geschätzte Maximaldistanz von ungefähr 20 nm basiert auf der nach dem Erwärmen auf 240 K verbliebenen Konzentration an freien Radikalen. Beide Grenzwerte sind mit den Ergebnissen von Razskazovskii et al. vereinbar.^[28] Durch Bahnstruktur-Rechnungen sollte es möglich sein, die Verteilung der Wanderungsdistanzen aus unseren Messungen an kristalliner DNA zu bestimmen. Auch andere EPR-Untersuchungen, die eine Abnahme der Radikalkonzentration nach dem Zusammenlagern (annealing) nachwiesen,^[34–36] beweisen, daß ein Elektronentransfer durch die Basenstapel doppelsträngiger DNA stattfindet und daß Elektronen nach einem thermisch aktivierten Hopping-Mechanismus wandern.

Die Ladungswanderung durch den DNA-Basenstapel wird durch Festkörper-EPR^[33] und Pulsradiolyseuntersuchungen^[37] sowie durch Produktanalysen^[38, 39] nachgewiesen. Razskazovskii et al. kommen zu dem Schluß, daß die mittlere Entfernung der Elektronenwanderung bei 77 K elf Basenpaare beträgt und oberhalb 150 K die thermisch aktivierte Wanderung über 30 oder mehr Basenpaare erfolgt.^[28] Ihre Ergebnisse stehen in Einklang mit einem Hopping-Mechanismus, in dem die Ladung von Base zu Base transportiert wird.

Unsere Beobachtungen an kristalliner DNA lassen sich gut mit einem Modell erklären, in dem die Elektronen- und Lochübertragung in erster Linie durch Hopping-Schritte

zwischen Einfangstellen niedriger Energie erfolgt. Unterhalb 80 K ist Cytosin (C) die Elektroneneinfangstelle mit der tiefsten Energiemulde,^[20, 40] wobei die Geschwindigkeit der Protonenübertragung von N1 von Guanin (G) auf N3 von C⁺ unter Bildung von $\text{C}(\text{N3}+\text{H})^{\cdot+}$ mit der Elektronentransfergeschwindigkeit effektiv konkurriert.^[42] Die positive Ladung wird vor allem von Guanin eingefangen.^[20, 43] Die Protonenübertragung von N1 des Guanin-Radikalkations $\text{G}^{\cdot+}$ auf N3 von C unter Bildung von $\text{G}(\text{N1}-\text{H})^{\cdot+}$ und der Lochtransport sind hierbei Konkurrenzreaktionen.^[45] In einem ausgezeichneten Übersichtsartikel beschreibt Steenken den Einfluß der Protonenübertragung auf den Elektronentransport.^[42] Die Protonenübertragung führt zur Bildung eines neutralen Radikals im einen Strang und eines diamagnetischen Ions in der konjugierten Base des Komplementärstrangs und vermindert damit die Wahrscheinlichkeit der Elektron-Loch-Kombination.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß kristalline Oligonucleotide als genau definierte Proben für eine präzise Bestimmung der Ausbeute an freien Radikalen verwendet werden können. Die von uns bestimmten Ausbeuten sind bemerkenswert hoch ($0.7 \mu\text{mol J}^{-1}$), wobei eine Verlängerung der Basenstapel über acht Basenpaare hinaus keinen Einfluß auf die Radikalausbeute hat. Aus diesen Befunden folgt, daß der Elektronen- und Lochtransport bei 4 K über kurze Entfernungen (2–8 Basenpaare) erfolgt. Wir kommen deshalb zu dem Schluß, daß DNA ein Isolator ist.

Eingegangen am 29. Januar,

veränderte Fassung am 18. Mai 1999 [Z12977]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2752–2756

Stichwörter: DNA-Strukturen • Elektronentransfer • EPR-Spektroskopie • Nucleotide • Radikale

- [1] R. E. Krisch, M. B. Flick, C. N. Trumbore, *Radiat. Res.* **1991**, 126, 251.
- [2] W. Wang, M. Yan, D. Becker, M. D. Sevilla, *Radiat. Res.* **1994**, 137, 2.
- [3] N. Mroczka, W. A. Bernhard, *Radiat. Res.* **1993**, 135, 155.
- [4] R. Holmlin, P. Dandliker, J. Barton, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2830; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2714.
- [5] Man nimmt an, daß mit zunehmendem Abstand die Transferreaktionen über tunnelnde Elektronen nach der Beziehung $k_{\text{ET}} \sim \exp[-\beta(R-R_0)]$ exponentiell abnehmen, wobei R_0 den Abstand zwischen Donor und Acceptor bei van-der-Waals-Kontakt angibt.
- [6] T. J. Meade, J. F. Kayyem, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 358; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 352.
- [7] F. D. Lewis, W. Wu, Y. Zhang, R. L. Letsinger, S. R. Greenfield, M. R. Wasielewski, *Science* **1997**, 277, 673.
- [8] A. Harriman, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 996; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 945.
- [9] P. Barbara, E. Olson in *Electron Transfer: From Isolated Molecules to Biomolecules, Part Two* (Hrsg.: J. Jortner, M. Bixon), Wiley, New York, **1999**, Kap. 13.
- [10] S. Priyadarshy, S. Risser, D. Beratan, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, 3, 196.
- [11] N. Turro, J. Barton, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, 3, 201.
- [12] M. Sevilla in *Excited States in Organic and Biochemistry* (Hrsg.: B. Pullman, N. Goldblum), Reidel, Boston, **1977**, S. 15.
- [13] S. Gregoli, M. Olast, A. Bertinchamps, *Radiat. Res.* **1982**, 89, 238.
- [14] C. Murphy, M. Arkin, Y. Jenkins, N. Ghatlia, S. Bossmann, N. Turro, J. Barton, *Science* **1993**, 262, 1025.
- [15] E. Krider, T. Meade, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, 3, 222.
- [16] D. N. Beratan, S. Priyadarshy, S. M. Risser, *Chem. Biol.* **1997**, 4, 3.
- [17] M. Wahl, S. Rao, M. Sundaralingam, *Biophys. J.* **1996**, 70, 2857.

- [18] D. B. Tippin, M. Sundaralingam, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1996**, 52, 997.
- [19] M. T. Milano, G. G. Hu, L. D. Williams, W. A. Bernhard, *Radiat. Res.* **1998**, 150, 101.
- [20] M. Sevilla, D. Becker, M. Yan, S. Summerfield, *J. Phys. Chem.* **1991**, 95, 3409.
- [21] W. A. Bernhard in *The Early Effects of Radiation on DNA, Ser. H 54* (Hrsg.: E. M. Fielden, P. O'Neill), Springer, Berlin, **1991**, S. 141.
- [22] J. A. La Verne, S. M. Pimblott, *Radiat. Res.* **1995**, 141, 208.
- [23] W. R. Holley, A. Chatterjee in *The Early Effects of Radiation on DNA* (Hrsg.: E. M. Fielden, P. O'Neill), Springer, Berlin, **1991**, S. 195.
- [24] C. Moser, J. Keske, K. Warncke, R. Ford, P. Dutton, *Nature* **1992**, 355, 796.
- [25] Der Habitus der d(CTCGAG)-Kristalle ist stäbchenartig, wobei die größte vorkommende Abmessung dem Fünffachen der kleinsten Abmessung entspricht.
- [26] S. M. Pimblott, J. A. L. Verne, A. Mozumder, N. J. Green, *J. Phys. Chem.* **1990**, 94, 488.
- [27] R. A. Spalletta, W. A. Bernhard, *Radiat. Res.* **1992**, 130, 7.
- [28] Y. Razskazovskii, S. Swarts, J. Falcone, C. Taylor, M. Sevilla, *J. Phys. Chem.* **1997**, 101, 1460.
- [29] L. A. Lipscomb, M. E. Peek, F. X. Zhou, J. A. Bertrand, D. van Derveer, L. D. Williams, *Biochemistry* **1994**, 33, 3649.
- [30] M. Milano, *Dissertation*, University of Rochester, Rochester, New York, **1998**, S. 278.
- [31] M. G. Debije, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [32] Es gibt zwei allgemeine Mechanismen, nach denen die eingefangenen Elektronen und Löcher beim Annealing reagieren. Zum einen sind dies die Umwandlungen freier Radikale, die eine höhere thermische Energie erfordern und erst ab $T > 150$ K ablaufen, zum anderen die Rekombinationsreaktionen freier Radikale, die eine niedrigere thermische Energie erfordern und schon im Bereich $50 < T < 160$ K stattfinden.
- [33] D. Becker, M. D. Sevilla, *Adv. Radiat. Biol.* **1993**, 17, 121.
- [34] W. A. Bernhard, N. Mroczka, J. Barnes, *Int. J. Radiat. Biol.* **1994**, 66, 491.
- [35] W. Wang, M. Sevilla, *Radiat. Res.* **1994**, 138, 9.
- [36] N. E. Mroczka, W. A. Bernhard, *Radiat. Res.* **1995**, 144, 251.
- [37] R. F. Anderson, K. B. Patel, W. R. Wilson, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1991**, 87, 3739.
- [38] A. F. Fuciarelli, E. C. Sisk, J. H. Miller, J. D. Zimbrick, *Int. J. Radiat. Biol.* **1994**, 66, 505.
- [39] S. G. Swarts, M. D. Sevilla, D. Becker, C. J. Tokar, K. T. Wheeler, *Radiat. Res.* **1992**, 129, 333.
- [40] W. A. Bernhard, *J. Phys. Chem.* **1989**, 93, 2187.
- [41] J. Barnes, W. Bernhard, *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 887.
- [42] S. Steenken, *Biol. Chem.* **1997**, 378, 1293.
- [43] S. Steenken, S. V. Jovanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 617.
- [44] D. Close, *Radiat. Res.* **1993**, 135, 1.
- [45] B. Giese, S. Wessley, M. Spormann, U. Lindemann, E. Meggers, M. E. Michel-Beyerle, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1050; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 996.
- [46] M. T. Milano, W. A. Bernhard, *Radiat. Res.* **1999**, 151, 39.

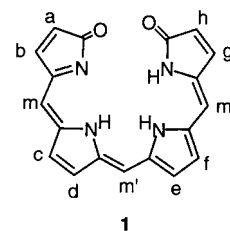
Tetrapyrrole als π -Donoren: ein Sandwichkomplex aus einer Pd_2^{2+} -Einheit und zwei helicalen Bilindion-Palladium-Liganden**

Pamela Lord, Marilyn M. Olmstead und Alan L. Balch*

Die linearen Tetrapyrrole der Bilindion-Familie **1**^[1] sind Metabolite des Häm-Abbaus, die eine auf molekularer Ebene kaum verstandene biologische Aktivität (Antioxidans^[2] und antivirale Aktivität^[3]) aufweisen. Wie Porphyrine bilden Bilindione vierfach koordinierte Metallkomplexe, die eine Vielzahl von Änderungen des Redoxzustandes, der elektronischen Struktur und der axialen Ligandenbindung eingehen können.^[4-6] Der allgemeine Koordinationsmodus sowohl der Bilindione als auch der Porphyrine schließt die Bindung der vier Stickstoffatome zu einem zentralen Metall-Ion ein. Beim Bilindion-Liganden können die vier Stickstoffatome nicht coplanar sein, wenn sie an ein relativ kleines Übergangsmetall-Ion der ersten Periode gebunden sind, so daß helicale Komplexe entstehen. Hier berichten wir über die Bildung von Komplexen, die größere Übergangsmetall-Ionen der zweiten Periode enthalten und in denen die Metallierung der linearen Tetrapyrrole zu einer ungewöhnlichen Sandwichstruktur führt.

Die Behandlung von Octaethylbilindion **1** (H_3OEB ; a–h = Et) mit Palladium(II)-acetat in Chloroform/Ethanol, gefolgt von einer Chromatographie an Kieselgel, lieferte dunkelgrüne Kristalle von $[\text{Pd}_4(\text{OEB})_2]$ in 66% Ausbeute. Das Elektronenspektrum des Komplexes, das Banden bei 831 nm ($\epsilon = 2.2 \times 10^4$), 358 nm ($\epsilon = 4.6 \times 10^4$) und 284 nm ($\epsilon = 3.7 \times 10^4$) enthält, ähnelt eher dem von $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{OEBOMe})]$ ^[7] als denen anderer Komplexe wie $[\text{Co}(\text{OEB})]$ ^[4] und $[\text{Ni}(\text{OEB})]$ ^[5], in denen das Tetrapyrrol einfach über vier M–N-Bindungen an das Metallzentrum koordiniert ist. Folglich wurde eine zusätzliche Bindung zu einem der Sauerstoffatome des OEB-Liganden erwartet.

Die durch eine Einkristall-Röntgenstrukturanalyse bestimmte Struktur von $[\text{Pd}_4(\text{OEB})_2] \cdot \text{THF}$ ist in Abbildung 1 dargestellt. Der Komplex, der keine kristallographisch bedingte Symmetrie aufweist, besteht aus zwei helicalen $\text{Pd}^{\text{II}}(\text{OEB})$ -Einheiten, die über eine (Pd_2^{2+}) -Einheit verbunden sind. Es ist bemerkenswert, daß jeder OEB-Ligand sieben Elektronenpaare mit den beiden Palladiumatomen, an die er gebunden ist, teilt. Während die Koordinationsgeometrie innerhalb der zwei $\text{Pd}^{\text{II}}(\text{OEB})$ -Teile des vierkernigen Komplexes denen einiger einkerniger Komplexe des OEB-Liganden



[*] Prof. Dr. A. L. Balch, P. Lord, Dr. M. M. Olmstead
Department of Chemistry
University of California, Davis
Davis, CA 95616 (USA)
Fax: (+1) 530-752-8995
E-mail: albalch@ucdavis.edu

[**] Diese Arbeit wurde von den U.S. National Institutes of Health gefördert (Grant GM 26226).