

## 19. Warum Pentose- und nicht Hexose-Nucleinsäuren?

Teil 1<sup>1)</sup>

### Einleitung und Problemstellung, Konformationsanalyse für Oligonucleotid-Ketten aus 2',3'-Dideoxyglucopyranosyl-Bausteinen ('Homo-DNS') sowie Betrachtungen zur Konformation von A- und B-DNS

von Albert Eschenmoser\* und Max Dobler

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Universitätstrasse 16,  
CH-8092 Zürich

Gerhard Quinkert zum 65. Geburtstag gewidmet

(25.XI.91)

---

#### Why Pentose and Not Hexose Nucleic Acids? Part I<sup>1)</sup>. Introduction to the Problem, Conformational Analysis of Oligonucleotide Single Strands Containing 2',3'-Dideoxyglucopyranosyl Building Blocks ('Homo-DNA'), and Reflections on the Conformation of A- and B-DNA<sup>2)</sup>

Chemical rationalization of the structure of a biomolecule can be sought through consideration of two criteria: first, the relationship between the structure and its biological function; and second, the structure's potential for constitutional self assembly. The latter criterion covers the judgment, by chemical reasoning, of the chance of its preformation, that is, a synthetic event which must have been undergone by any molecular structure in order to have been selected (or to have selected itself) to become a biomolecule. One way to further the task of rationalizing a biomolecule's structure by experimental means is the design, synthesis, and study of structural alternatives which might have become biomolecules on the basis of either criterion, but which do not, in fact, appear in Nature today.

In the formation of sugar phosphates from glycolaldehyde phosphate under basic conditions, straightforward and selective formation of *rac*-hexose 2,4,6-triphosphates is observed in the absence of formaldehyde, while *rac*-pentose 2,4-diphosphates are dominant, when (0.5 equiv.) formaldehyde is present [1]. This and other observations indicate that hexose sugars should be regarded to have had a chance of preformation comparable with that of pentose sugars. *Why, then, did Nature choose pentoses and not hexoses as the sugar building blocks of nucleic acids?* The reason must be functional; it must be the case that pentose nucleic acids are biologically superior to potential hexose alternatives. To the extent that biological function is a consequence of molecular structure and reactivity, the origin of this superiority should be decipherable through chemical experiment, that is, through synthesis of hexose nucleic acids, systematic study of their chemical properties, and comparison of these properties with those of their natural counterparts. This has been the object of the present investigation, initiated in 1986. The paper introduces a series of papers which will describe the results of a model study, namely, the synthesis, pairing properties and structure of homo-DNA oligonucleotides.

- 
- <sup>1)</sup> 5. Mitteilung innerhalb der Reihe 'Chemie von  $\alpha$ -Aminonitrilen' [1]. Einige der Ergebnisse, die in der mit dieser einleitenden Abhandlung beginnenden Publikationsreihe über die Chemie von Homo-DNS-Oligonucleotiden beschrieben werden, wurden in vorläufiger Form schon bei früheren Gelegenheiten dargelegt, vgl. Böhringer *et al.* [2a], Leumann *et al.* [2b], Roth *et al.* [2c], Hunziker *et al.* [2d], Eschenmoser [2e-h].
- <sup>2)</sup> Summary in collaboration with Prof. Dr. C. E. Wintner, Haverford College, Haverford, PA 19041-1392; academic guest, ETH, March and June/July, 1991.

A qualitative conformational analysis of the *single-strand* backbone structure of 2',3'-dideoxyglucopyranose oligonucleotides predicts that such strands are – in their idealized conformation – *linear*. This conclusion is reached by adhering to the following rules in deriving the preferred conformation(s) of the constitutionally repetitive monomer unit of the backbone: 1) Substituents around all single bonds are ideally staggered. 2) Overall strain is minimized by excluding 1,5-repulsions of 1,3-substituents whenever constitutionally possible. 3) Phosphodiester conformations are in accordance with the generalized anomeric effect, that is, synclinal/synclinal. Out of 486 ( $= 2 \cdot 3^5$ ) possible conformations allowed on the basis of these rules, the analysis reveals *three* options that are least strained. Of these, only *one* fulfills a fourth rule, namely, that it be conformationally *repetitive* within a mononucleotide unit, in order to have the potential for (the simplest form of) base pairing in an oligomer. This unique (*-sc, ap, +sc, +sc, ap, -sc*) backbone conformation for a homo-DNA single strand turns out to be the idealized form of the type of conformation that occurs in A-DNA *duplexes*, as observed in X-ray analyses of corresponding synthetic oligodeoxyribonucleotides. Thus, a qualitative understanding of the backbone structure of A-DNA (and also of B-DNA) is gained by using the linear model of homo-DNA as a reference system. The deviations of the backbone conformations in the *helical* A-DNA duplexes from the idealized conformation of the *linear* homo-DNA reference system are interpreted to be the result mainly of two factors. First, the endocyclic torsion angle  $\delta$  in the furanose ring, as a direct consequence of the ring's five-memberedness, is forced to take on a value greater than its linearity value of  $60^\circ$ ; helicity (right-handed, if the sugar unit has the D-configuration) of the strand is the result. Second, the reference system in its idealized conformation is strained in the region of the phosphate group, where the attachment to the secondary ring-C-atom compels 1,5-repulsion in any of the ideally staggered conformations; deviation from the linearity values of the torsion angles in this region of the backbone, characteristic of the two forms of DNA, amounts to release of steric strain relative to the reference system. The analysis reveals that the backbones of DNA *single strands* are predisposed to give rise to the helicity of DNA *duplexes*, and that this helicity hinges (primarily) on the five-memberedness of the sugar ring.

The *English Footnotes* to *Fig. 1–17* and *Schemes 1–5* are intended to provide an extension of this summary.

**1. Einleitung.** – Zu den Zielsetzungen der bioorganischen Chemie gehört die chemische Rationalisierung der Struktur der für das Leben grundlegenden Biomolekül-Typen, d. h. die Deutung der Tatsache ihrer biologischen Existenz und Sonderstellung in der Molekül-Welt mit Hilfe struktureller und reaktionstheoretischer Kriterien. Es geht dabei darum, aus chemischer Sicht die Frage zu untersuchen, warum es spezifisch die molekularen Strukturen der uns vertrauten Cofaktoren und die Strukturtypen der Nucleinsäuren, Proteine, Kohlehydrate und Lipide sind, die als Vehikel der biologischen Evolution selektioniert wurden bzw. sich selbst zu solchen selektioniert haben. Zwar scheint es, als ob diese Art des Fragens ausserhalb der Grenzen liegen würde, welche der experimentellen Chemie gesetzt sind. Doch dem ist nicht so. Die Rechtfertigung der Frage liegt darin, dass sie von ihr abgeleitete Teilfragen zu stipulieren vermag, die ihrerseits einer experimentellen Beantwortung durchaus zugänglich sind, Fragen indessen, die aus anderen Motiven heraus nicht gestellt würden, deren experimentelle Bearbeitung aber geeignet ist, zur Aufdeckung von bislang Unbekanntem und damit zu Ergebnissen zu führen, auf die man von anderen Fragestellungen her nicht – oder nicht ohne weiteres – stossen würde. Versuche zur Rationalisierung von Biomolekül-Strukturen sind eine bislang wenig erschlossene Quelle für Fragestellungen in der experimentellen bioorganischen Forschung.

Aus ferner biologischer Vergangenheit stammend, sind die molekularen Strukturen der auf uns gekommenen Biomoleküle Träger von Informationsinhalten [3]<sup>3)</sup>, deren

<sup>3)</sup> 'Sie (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' (V. Prelog, 'Gedanken nach 118 Semestern Chemiestudium' [3]).

Entzifferung mit der Ermittlung ihrer Struktur, ihrer chemischen Reaktivität, ihrer Biosynthese sowie mit der molekularen Beschreibung ihrer biologischen Funktion nicht abgeschlossen ist. Die *Rationalisierung* ihrer Struktur verbleibt als eine spezifisch an die organische Chemie gerichtete Herausforderung [4]. Auf jene Biomolekül-Strukturtypen ausgerichtet, deren Vertreter Träger der grundlegendsten biologischen Funktionen sind, verspricht sie uns Einblicke in die biologische Vergangenheit, letztlich vielleicht Einsichten zur Frage nach der Entstehung des Lebens [5] [6].

Eine chemische Rationalisierung von Biomolekül-Strukturen hat sich auf zwei Kriterien zu beziehen: erstens auf die einer Struktur innewohnende Eignung zur (biologischen) *Funktion* und zweitens auf ihr Potential zur *Selbstkonstituierung* unter vorbiologischen oder biologischen Bedingungen. Das Funktionskriterium bedarf hier keiner weiteren Erörterung; die Beziehung zwischen Struktur und Funktion ist zentraler Forschungsgegenstand von sowohl biologischer Chemie als auch molekularer Biologie. Das Kriterium der Selbstkonstituierung bezieht sich auf die Wahrscheinlichkeit einer *Präformation* [4], d.h. jenes hypothetischen Zufall-Synthese-Ereignisses, das jeglicher Selektion (bzw. Selbstselektion) einer Molekül-Struktur zum Biomolekül vorauszugehen hatte. Versuche zu einer Beurteilung von Präformationschancen haben aus der Erfahrung über Reaktivität, Synthese und Biosynthese organischer Moleküle zu schöpfen; bezüglich potentiell präbiologischer Strukturtypen haben sie sich rigoros auf eine experimentelle bioorganische Synthetik abzustützen, deren Problemstellungen sich aus retrosynthetischen Analysen struktureller Zusammenhänge zwischen Biomolekül-Klassen und den elementaren Grundstoffen der präbiotischen Chemie [7–10] ergeben. Dabei können die in solcher bioorganischer Synthetik befolgten Rahmenbedingungen und Kriterien sehr wohl von denen der klassischen präbiotischen Chemie verschieden sein [11], in ihrer Zielsetzung sind sie indessen zu diesen komplementär.

*Ein spezifisch auf die Rationalisierung von Biomolekül-Strukturen ausgerichteter, experimenteller Weg zur Vertiefung der Einsicht in die gegenseitige Bedingtheit von Funktion und molekularer Struktur ist der Entwurf, die Synthese und Untersuchung der Eigenschaften von biologisch nicht-selektierten Alternativstrukturen.* Das Besondere oder gar Einzigartige an der Struktur und Funktion eines Biomoleküls lässt sich letztlich nur durch Struktur- und Funktionsbezug auf Alternativsysteme erfassen. Die Wahl der Bezugsstrukturen ist dabei entscheidend. Hierzu stellen sich vor allem Molekül-Strukturen an, von welchen aus chemischer Sicht vermutet werden darf, dass sie sich der biologischen Evolution zwar angeboten haben mögen, von dieser jedoch (anscheinend) verworfen wurden. Nicht-Selektion einer Bezugsstruktur, welcher an sich eine hohe Präformationschance zuzuordnen ist, sollte funktionelle Gründe haben – und umgekehrt. Die Deutung der Nicht-Selektion der Alternativstrukturen ist wesentlicher Bestandteil der Rationalisierung einer Biomolekül-Struktur.

Ein einfaches Beispiel soll erläutern, wie (bei Unterstellung eines präbiologischen Ursprungs der in Frage stehenden Moleküle) die Betrachtung einer Alternativstruktur Teil der Rationalisierung einer Biomolekül-Struktur sein kann (*Fig. 1* und *2*, *Schema 1*).

*Fig. 1* ist das Photo eines Nucleinsäure-Modells, das sich konformationell von einem konventionellen B-DNS-Modell äusserlich in (anscheinend) keiner Weise unterscheidet, das jedoch konstitutionell gar keine DNS darstellt: sämtliche Adenin-Bausteine im Modell sind durch die zu Adenin konstitutionsisomere Base 2-Aminopurin ersetzt. *Fig. 2*

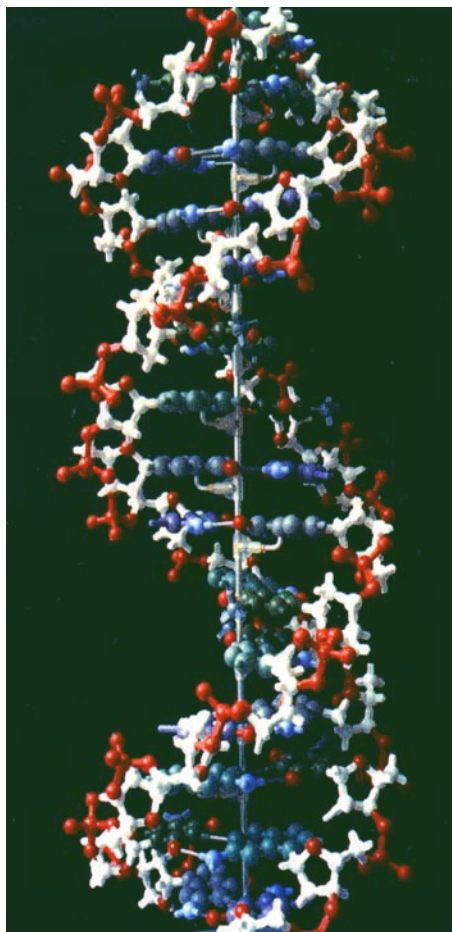


Fig. 1. Modell einer (*Pseudo-*)B-DNS\*)

- \*) Model of a *pseudo*-B-DNA which, on the basis of its shape, is hardly distinguishable from that of a genuine B-DNA model. However, its constitution differs from that of B-DNA, in that each adenine (= 6-aminopurine) moiety is replaced by 2-aminopurine.

illustriert die (bekannte<sup>4)</sup> funktionelle und geometrische Entsprechung der beiden isomeren Purin-Basen bei einer *Watson-Crick*-Basenpaarung. Die beiden erscheinen in *geometrischer* Hinsicht im wesentlichen als eine funktionell gleichwertige, strukturelle Alternative. Indessen kommt 2-Aminopurin in der Natur anscheinend überhaupt nicht vor. Den in unserem Zusammenhang interessierenden Kommentar hierzu gibt *Scheme 1*, wo die

- <sup>4)</sup> 2-Aminopurin wurde enzymatisch schon verschiedentlich in DNS und auf chemischem Wege in Oligo-2'-desoxyribonucleotide eingebaut. Es paart mit Thymin wie Adenin. Im vorliegenden Zusammenhang interessiert indessen aber auch die Beobachtung, dass es eine im Vergleich zu Adenin höhere 'Mismatch'-Paarungsrate mit Cytosin aufweist und sich deshalb als (AT↔GC)-Mutagen verhält (vgl. [12] und die daselbst zit. frühere Lit.).

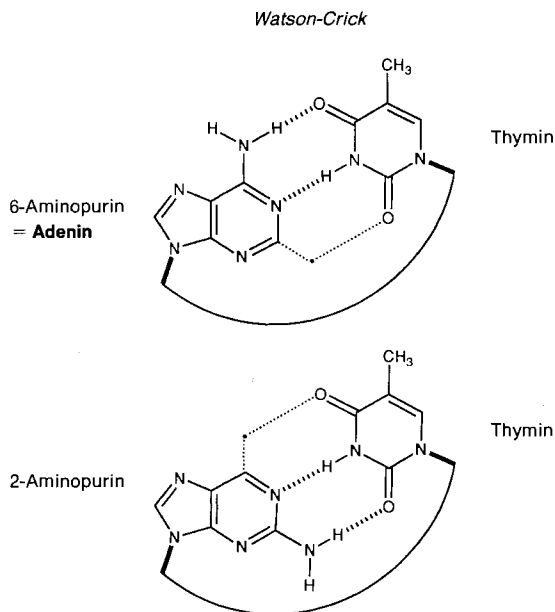


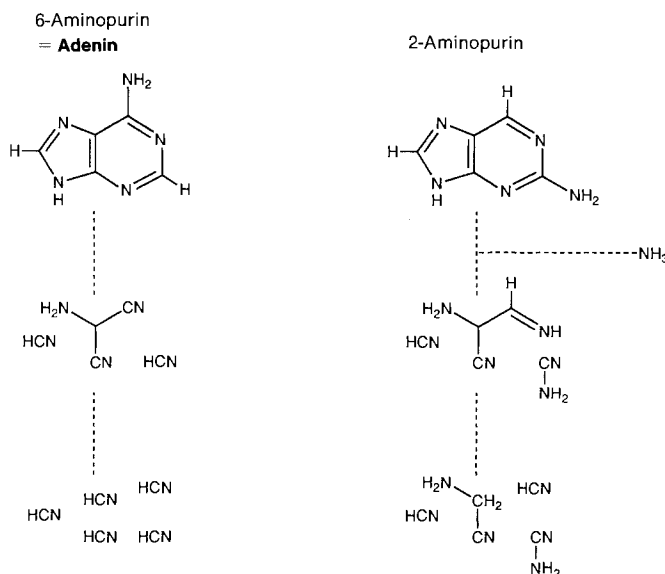
Fig. 2. Geometrische Entsprechung von 6-Aminopurin (= Adenin) und 2-Aminopurin bezüglich der Watson-Crick-Basenpaarung<sup>\*)</sup>

\*) The functional and geometric correspondence of the two isomeric purine bases adenine and 2-aminopurine in *Watson-Crick*-type base pairing. While adenine is ubiquitous today, 2-aminopurine does not occur in Nature. Why? *Scheme 1* provides commentary on this question.

beiden auf HCN ausgerichteten, retrosynthetischen Strukturanalysen für die beiden Purin-Basen einander gegenübergestellt sind. Nach dem Kriterium des Masses an äusserer Instruktion, das die Konstituierung einer Molekül-Struktur aus Grundbausteinen erfordert [4] [2c], ist 2-Aminopurin gegenüber Adenin der komplexere, und damit bezüglich einer vorbiologischen Selbstkonstituierung *a priori* unwahrscheinlichere Baustein. Während sich Adenin retrosynthetisch als Pentamerer von HCN präsentiert [8] [9] und sich erfahrungsgemäss unter verschiedensten Reaktionsbedingungen im wesentlichen ohne zusätzliche Instruktion aus diesem alleinigen Ausgangsprodukt bilden kann, würde eine entsprechende Selbstkonstituierung des 2-Aminopurins ein Ensemble von nicht weniger als drei konstitutionell verschiedenen Ausgangsstoffen unterschiedlichen Oxidationsgrades erfordern; dabei ist es durchaus fraglich, ob eine 2-Aminopurin-Bildung auf dem dieser retrosynthetischen Zerlegung entsprechenden Weg überhaupt eine Chance besitzt<sup>5)</sup>. Wiewohl gerade diese Ungewissheit noch einer experimentellen Absicherung

<sup>5)</sup> Vergleicht man 6-Amino- und 2-Aminopurin aus der Sicht der Chemie der kontemporären Biosynthese des Adenin-Kerns, so erscheinen die beiden Purin-Basen einander näher verwandt als sie dies bezüglich ihrer Chancen einer präbiotischen Selbstkonstituierung sind. Der Adenin-Kern entsteht biosynthetisch ausgehend von Glycin *via* (ribosyliertes) 4-Amino-1*H*-imidazol; statt (wie bei Adenin) in Stellung C(5) *C*-carboxyliert, dann amidiert und am NH<sub>2</sub>-C(4) formyliert zu werden, müsste 4-Amino-1*H*-imidazol für eine Biosynthese von 2-Aminopurin z. B. in Stellung C(5) *C*-formyliert, an der (NH<sub>2</sub>-C(4))-Gruppe carboxyliert und anschliessend amidiert werden.

Schema 1. Retrosynthetische Zerlegung der Molekül-Strukturen von 6-Aminopurin und 2-Aminopurin\*)



- \*) HCN-Directed retrosynthetic analysis of 2-aminopurine does not lead to the single building block HCN, as is the case with adenine, but instead to an ensemble of three starting materials differing both in constitution and in oxidation level. To the extent that in such a context, the type and amount of instruction needed for a structure's synthesis should be taken as a measure of that structure's complexity, 2-aminopurine has a more complex structure than adenine, and is to be regarded as having had a lower (if any) chance of assembling itself prebiologically. This inference concerning the reason why 2-aminopurine is a non-biomolecule in spite of its functional potential is part of the rationalization of the biomolecule adenine's structure.

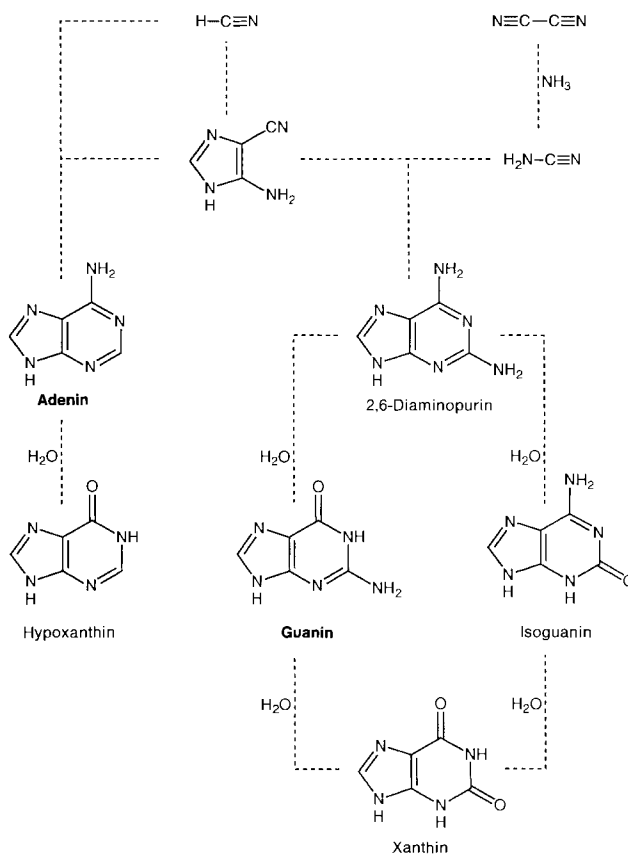
bedürfte, vermag das Beispiel doch zu zeigen, wie die Frage 'warum Adenin und nicht 2-Aminopurin als Nucleinsäure-Base' Teil der Rationalisierung der Adenin-Struktur zu sein hat.

Die als übergreifender Titel der Abhandlungsreihe stehende Frage 'Warum Pentose- und nicht Hexose-Nucleinsäuren?' zielt auf eine chemische Rationalisierung des Zucker-Bausteins der natürlichen Nucleinsäuren ab. Als der wohl erste Ansatz zu einer Rationalisierung dieses Strukturbereichs der Nucleinsäuren ist die von *Usher* [13] aufgeworfene Frage zu werten, warum der Strukturtyp der Ribonucleinsäure die Phosphat-Verbrückung spezifisch zwischen den 3',5'-Stellungen des Ribose-Ringes und nicht zwischen den 2',5'-Positionen aufweise. Die bisher hierzu vorgebrachten Kommentare [13] [14] nehmen alle Bezug auf das Argument einer höheren thermodynamischen Stabilität der Doppelhelix mit 3',5'-Rückgrat-Struktur.

Wenn hier von chemischer Rationalisierung der Struktur der Nucleinsäuren die Rede ist, so ist festzuhalten, dass dieser Strukturtyp bezüglich einer solchen Rationalisierung unter allen andern Biomolekül-Strukturtypen der am vielleicht weitesten fortgeschritten ist, vorab was seinen strukturellen und funktionellen Kern, nämlich die *Watson-Crick*-sche Basenpaarung, anbetrifft. Das konstitutionelle Konzept der spezifischen Purin-Pyrimidin-Basenpaarung in der DNS-Doppelhelix durch (die Nicht-Chemiker!) *Watson* und *Crick* im Jahre 1953 [15] ist das Musterbeispiel einer *chemischen* Rationalisierung eines

Biomolekül-Strukturtyps überhaupt, vermutlich das wichtigste Beispiel, das zu entdecken die Natur uns bereitzuhalten gehabt hat. Zum strukturell-funktionellen Teil der Rationalisierung der Basenpaarung der Nucleinsäuren ist später der formationelle Teil hinzugekommen, indem die Arbeiten von *Oró* und Mitarbeitern [8], *Ferris* und *Orgel* und Mitarbeitern [9] und anderen [10] den strukturellen Zusammenhang zwischen HCN und dem Strukturtyp der Purine aufgezeigt und die elementare, potentiell präbiologische Natur dieser Verbindungsgruppe experimentell belegt haben. Die *Koinzidenz* der Eignung zu präbiologischer Selbstkonstituierung und zu biologischer Funktion, wie sie für die vier Nucleinsäure-Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil besteht, gehört aus chemischer Sicht im Bereich der kleinen Moleküle zum Einzigartigsten, was sich uns in der organischen Natur darbietet.

Schema 2. Konstitutionelle Zusammenhänge zwischen Blausäure, Dicyan und der Familie der Purin-Basen\*)



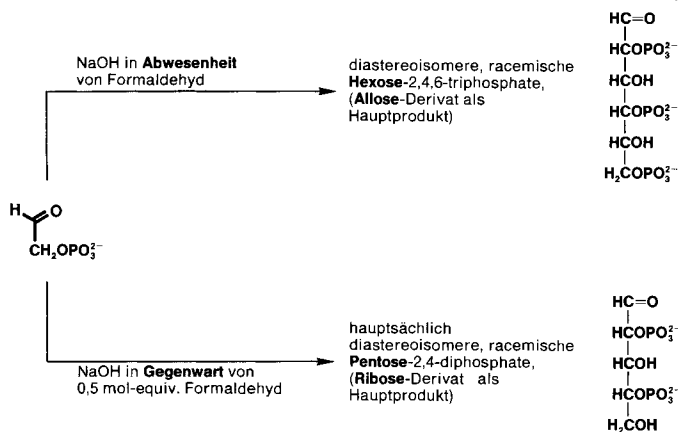
\*) Hommage à *S.L. Miller* [7], *J. Oró* [8], *J.P. Ferris* and *L.E. Orgel* [9]: Constitutional relationships between HCN, cyanogen (or guanidine, or cyanamide, or cyanic acid) and members of the family of naturally occurring purines. Within the guanine sub-family, not only guanine itself, but also 2,6-diaminopurine, isoguanine, and xanthine are potentially prebiological purines, although (today) the latter are not involved in biological information storage.

Aus chemischer Sicht besitzen alle in *Schema 2* aufgeführten Glieder der Purin-Familie elementare Molekül-Strukturen, wiewohl davon heute nur Adenin und Guanin – in spezieller Art auch Hypoxanthin – der Funktion der Speicherung und Übertragung der genetischen Information dienen. 2,6-Diaminopurin vermag das Adenin in DNS-Duplexen chemisch zu ersetzen [16], in Transkriptionen ist es enzymatisch anstelle von Adenin eingebaut [17] [18] und in der Natur ist es in einem Cyanophagen als Adenin-substituierende Base angetroffen worden [19]. Für Isoguanin ist seine Nichtbeteiligung am heutigen biologischen Geschehen mit dem im Gegensatz zum Guanin weniger einseitig liegenden Tautomerie-Gleichgewicht zwischen Lactam- und Hydroxyimin-Form und einer damit zu erwartenden Nichtspezifität als Paarungspartner in Zusammenhang gebracht worden [20] (S. 114). Eine umfassende experimentell-chemische, sowohl funktionelle wie auch formationelle Analyse der Gesamtfamilie der Purin-Basen in Relation zu biologischer Selektion und Funktion steht eigentlich noch aus. In letzter Zeit sind bioorganisch-chemische Arbeiten [22] [23] [18] erschienen, die über frühere einschlägige Pionierarbeiten [21] hinaus in diesem Zusammenhang von Belang sind.

Als experimentellen Beitrag zur Präformationsproblematik des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren sind die umfassenden Pionierarbeiten der *Orge*'schen Schule [9c] [24] über die Templat-kontrollierte nicht-enzymatische Bildung von Oligoribonucleotiden zu werten. Diese seit Jahren gezielt und systematisch vorangetriebenen Untersuchungen haben für die – wie im nachstehenden Kapitel näher erörtert wird – kürzlich eingesezte Hinterfragung die Auffassung, wonach Ribonucleinsäuren die ursprünglichen genetischen Moleküle gewesen sein sollen, eine wichtige Rolle gespielt.

**2. Problemstellung.** – Im Zuge der Arbeiten über die Chemie von  $\alpha$ -Aminonitrilen haben wir einen konstitutionellen Zusammenhang aufgezeigt, der zwischen dem *rac*-Aziridin-2-carbonitril, *rac*-O<sup>3</sup>-Phosphoserinnitril und Glycolaldehyd-phosphat, dem einfach-

Schema 3. Verlauf der Aldomerisierung von Glycolaldehyd-phosphat (Müller et al. [1])\*)



\*) Aldomerization of glycolaldehyde phosphate in an alkaline medium can lead to a high yield of a mixture of the diastereoisomeric *rac*-hexose 2,4,6-triphosphates, of which *rac*-allose 2,4,6-triphosphate is the dominant product [1]. In the presence of 0.5 mol-equiv. of formaldehyde, *rac*-pentose 2,4-diphosphates are formed, with *rac*-ribose 2,4-diphosphate as the major product. The finding that *rac*-hexose 2,4,6-triphosphates are formed so simply and so selectively was the origin of the question concerning hexose nucleic acids.



sten Zucker-phosphat besteht [1]. Wie *Schema 3* in Erinnerung ruft, kann aus Glycolaldehyd-phosphat in alkalischem Medium in weitgehend einheitlich verlaufender Reaktion das Gemisch der diastereoisomeren (*racemischen*) Hexose-2,4,6-triphosphate entstehen; ist dabei Formaldehyd zugegen, so bilden sich Gemische, die (bei Anwesenheit von 0,5 mol-equiv. Formaldehyd) zum überwiegenden Anteil aus (*racemischen*) Pentose-2,4-diphosphaten bestehen. In solchen Zucker-phosphat-Gemischen sticht jeweils ein Diastereoisomer als Hauptkomponente hervor, nämlich das *rac*-Allose-2,4,6-triphosphat in der Hexose-Reihe und das *rac*-Ribose-2,4-diphosphat in der Reihe der Pentosen. Beide Zucker-phosphate sind Hauptprodukte kraft kinetischer Kontrolle ihrer Bildung und beide gehören in konfigurativer Hinsicht derselben Reihe an, indem sie entlang ihrer C-Kette durchwegs die 'erythroide' Anordnung der Substituenten aufweisen.

Man kann wohl kaum umhin, die auffallende Dominanz des Ribose-2,4-diphosphats bei dieser Art der Bildung des Strukturtyps der Aldopentosen im Lichte der Tatsache zu sehen, dass es unter den vier möglichen Pentosen die Ribose ist, der sozusagen das Privileg zukommt, von der Natur als Zucker-Baustein des Strukturtyps der Nucleinsäuren ausgewählt worden zu sein. Der Sachverhalt führt fast zwangsläufig zur Frage, warum.

Der Gang unserer experimentellen Arbeiten war indessen so gewesen, dass wir im Zuge der Untersuchungen zur Bildung von Zucker-phosphaten aus Glycolaldehyd-phosphat zuerst auf die Hexose-2,4,6-triphosphate gestossen waren, lange bevor wir die Reaktionsbedingungen feststellten, unter welchen Ribose-2,4-diphosphat als Hauptprodukt auftritt<sup>6</sup>). Und damit war damals primär nicht die Frage 'warum Ribose' aufgekommen, sondern: 'warum überhaupt Pentosen und nicht Hexosen?' Nach dem Kriterium von Art und Mass an Instruktion, welche die Selbstkonstituierung einer Biomolekül-Struktur aus einfachen Vorläuferstrukturen voraussetzt [4] [2c], erschiene der Strukturtyp der Hexosen – wenn schon – dann von eher geringerer Komplexität als jener der Pentosen, insbesondere wenn man sich auf eine Bildung unter Beteiligung von Glycolaldehyd-phosphat bezieht.

*Unterstellt man eine präbiologische Selbstkonstituierung des Strukturtyps der Oligonucleotide, so ist aus chemischer Sicht den sich von Hexosen ableitenden Nucleinsäuren eine zu Pentose-Nucleinsäuren zumindest vergleichbare Präformationschance zuzuschreiben. Nachdem es erstere nicht (oder nicht mehr) gibt, muss es funktionelle, damit strukturell bedingte und sich schliesslich auf Unterschiede in der chemischen Reaktivität sich beziehende Gründe geben, welche für eine letztlich biologische Überlegenheit des Strukturtyps der Pentose-Nucleinsäuren gegenüber der Alternative von Hexose-Nucleinsäuren verantwortlich sind. Solche Gründe müssten experimentell erfassbar sein, und zwar dadurch, dass man aus chemischer Sicht in Frage kommende Varianten von Hexose-Nucleinsäuren synthetisch herstellt, ihre relevant scheinenden Eigenschaften feststellt und dieselben systematisch mit den entsprechenden Eigenschaften der natürlichen Nucleinsäuren vergleicht.*

Wenn in der Einleitung zu dieser Arbeit bemerkt wurde, die Beschäftigung mit der Frage nach dem Ursprung von Biomolekülen führe zu experimentell zugänglichen Teilfragen, die aus anderen Motiven heraus nicht so ohne weiteres gestellt würden, so ist die Frage nach den Eigenschaften von Hexose-Nucleinsäuren hierfür ein Beispiel. Denn, obwohl in struktureller Hinsicht naheliegend und geradezu offensichtlich, wurde die

<sup>6</sup>) Vgl. in diesem Zusammenhang die Erläuterungen zu *Schema 6* in [1].

Frage zuvor anscheinend nie gestellt. Zwar mag sie an sich offensichtlich sein, möglicherweise aber nicht unbedingt ihr Sinn. Löst man übrigens die Frage von ihrer Herkunft, ihrem Bezug zur Präbiotik, so verliert sie ihre Bedeutung keineswegs; ist sie für einmal gestellt, so präsentiert sie sich als eine durchaus eigenständige Problemstellung, welche im Hinblick auf eine ganze Reihe aktueller Fragen Interesse verdient. *Vor allem kann ein systematisches, experimentell geführtes Studium der Eigenschaften von Hexose-Nucleinsäuren zu einer Vertiefung unseres chemischen Verständnisses der strukturellen Voraussetzungen des Funktionierens der natürlichen Nucleinsäuren führen; schon allein von einem Ersetzen des konformationell flexiblen, fünfgliedrigen Furanose-Rings durch den konformationell starren, sechsgliedrigen Pyranose-Ring sind Unterschiede im Verhalten der Oligonucleotid-Struktur zu erwarten, welche einen wichtigen Teil der konformationellen Voraussetzungen der molekularen Dynamik der natürlichen Nucleinsäuren illustrieren werden.*

Mit der Frage nach Nucleinsäure-Alternativstrukturen mit Hexose-Bausteinen hatten wir von Anbeginn einen Strukturtyp im Auge, in welchem das Bauelement des Pentose-Furanose-Rings durch den Pyranose-Ring und nicht den entsprechenden Furanose-Ring einer Hexose ersetzt zu sein hätte (vgl. **1** in Fig. 3 für den Fall des D-Allose-Derivats). Angeregt wurde dieser Typ vorab durch die spezifische konstitutionelle Stellung der Phosphat-Gruppen in den Pyranose-Formen von Hexose-2,4,6-triphosphaten, wie wir sie bei der Aldomerisierung von Glycolaldehyd-phosphat angetroffen hatten (s. **2**) sowie durch die Stellung der Phosphodiester-Gruppe in der natürlichen RNA (s. **3**). Für die Hexose-Diastereoisomeren D-Allose, D-Altrose, D-Mannose und D-Glucose entspricht diese Stellung der Phosphodiester-Brücke auch in konformationeller Hinsicht der RNS. Der durch einen Vergleich der Formeln **1** und **3** ins Auge springende Zusammenhang impliziert eine klare Lokalisierung der Strukturvariation auf den Ringbezirk, d. h. im wesentlichen auf die Anordnung der Nucleinbase im Konformationsraum der Oligonucleotid-Kette; sowohl der Konstitutions- als auch Konformationstyp der Struktur im Bereich der Phosphodiester-Gruppierung bleiben dadurch im wesentlichen unverändert und damit auch das Oligonucleotid-Rückgrat.

Die Alternative eines Hexose-Bausteins, dessen Ring nicht in *Pyranose*-, sondern in *Furanose*-Form in der Oligonucleotid-Kette vorliegen würde, gehörte aus mehreren Gründen nicht zu unserer Zielsetzung. Hält man an der Forderung nach Beibehaltung des Oligonucleotid-Rückgrats in dem oben erwähnten Sinne fest, so verbleibt als Strukturtyp einer *Hexofuranose*-Nucleinsäure der in **4** (wiederum am Beispiel des D-Allose-Bausteins) wiedergegebene. Bezüglich der Anordnung der Nucleinbasen im Konformationsraum einer Oligonucleotid-Kette bringt dieser Strukturtyp keine klar interpretierbare Neuerung. Sein Hauptmerkmal ist die zusätzliche CH<sub>2</sub>OH-Gruppe an der exocyclischen 5'-Stellung des D-Ribofuranose-Rings, mit der voraussehbaren Auswirkung einer im Vergleich zum natürlichen System starken sterischen Behinderung beider flankierenden Phosphodiester-Gruppen. Ohne Zweifel ist von den beiden Varianten **1** und **4** einer Hexose-Nucleinsäure der Pyranose-Typ der thermodynamisch stabilere.

Die Beobachtung, wonach bei der Aldomerisierung von Glycolaldehyd-phosphat bevorzugt das mit der Ribose-Struktur konfiguratив verwandte *rac*-Allose-2,4,6-triphosphat (*rac*-**2**) entsteht [1], hat uns veranlasst, erstrangig den Ersatz des D-Ribose-Bausteins durch die D-Allose (vgl. Formel **1**) in Betracht zu ziehen. Vorab aus Synthesetechnischen Gründen haben wir indessen diese Bezugsstruktur bei unserem experimentellen Einstieg in das Arbeitsgebiet zugunsten ihres 2',3'-Dideoxy-Analogons **5** hintangestellt. *Eine solche 2',3'-Dideoxy-Variante entspricht dem Strukturtyp einer 'Homo-DNS': der sechsgliedrige Ring seines Zucker-Bausteins unterscheidet sich konstitutionell vom fünfgliedrigen*

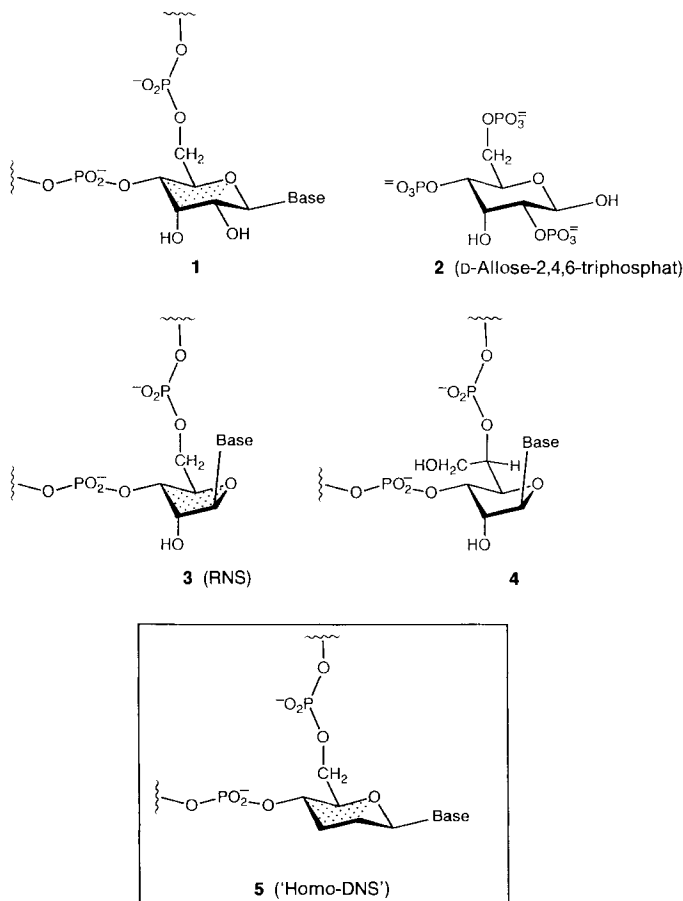


Fig. 3. Herleitung des Strukturtyps einer Hexopyranose-Nucleinsäure aus der Struktur des Aldomerisierungshauptprodukts Allose-2,4,6-triphosphat und dem Strukturtyp der RNS\*)

- \*) The structure of *rac*-allose 2,4,6-triphosphate (*rac*-**2**) stimulated consideration of a hexose nucleic acid **1** having *allose* as the repeating sugar building block. In such a structure, the 4',6'-positioning of the phosphate junction corresponds to the positions of two of the phosphate groups in **2** as well as to the 3',5'-positioning of the junction in RNA (see **3**). The pyranose form of the hexose sugar introduces a conformationally unambiguous six-membered-ring chair having the two backbone substituents equatorial and in a spatial arrangement very similar to the one occurring in the 3'-*endo*-conformation (<sup>3</sup>*E*) of the ribofuranose ring in RNA. The allofuranose structure **4**, which is the (presumably) thermodynamically less stable hexofuranose alternative to **1**, was not explored, since it appears to be simply a sterically more hindered version of the structural type present in RNA. On synthetic grounds, the initial target of our study became the 2',3'-dideoxyallo (= gluco) analog **5**, which retains all of the desired structural elements of a hexopyranose nucleic acid. It is a 'nomo-DNA', in that it differs from natural DNA only by a single extra CH<sub>2</sub> group in the sugar ring.

*Ring des Zucker-Bausteins der natürlichen DNS (vgl. Fig. 4) durch nichts anderes als eine zusätzliche CH<sub>2</sub>-Gruppe. Die Entwicklung der Methodik zum Aufbau solcher 2',3'-Dideoxy-D-allopyranose-Oligonucleotide schien als Einstiegssyntheseproblem besonders geeignet, konnte doch erwartet werden, dass sich diese in enger Anlehnung an die*

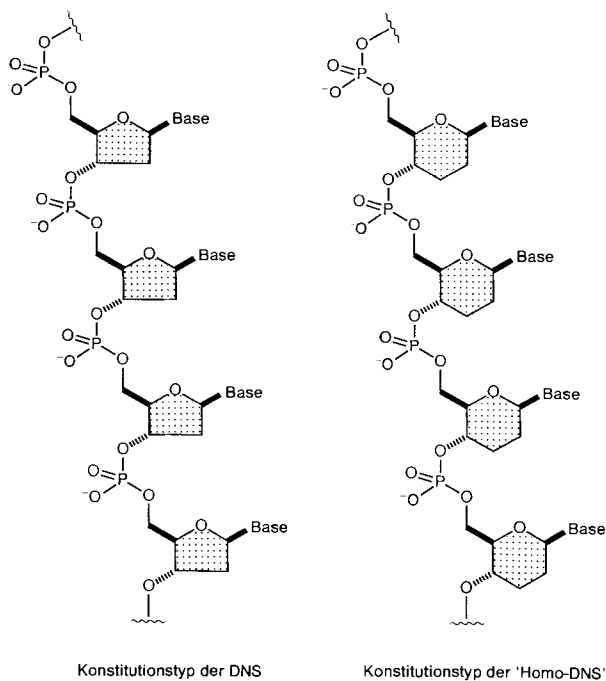


Fig. 4. Konstitutions- und Konfigurationstyp eines Homo-DNS-Einzelstrangs im Vergleich zu einem DNS-Einzelstrang\*)

\*) Constitutional and configurational representation of a homo-DNA oligonucleotide strand as compared to a DNA oligonucleotide strand.

bekanntem Methoden der Synthese von Oligo-2'-deoxyribonucleotiden synthetisieren lassen würden. Diese Erwartung hat sich in der Folge bestätigt und die vorerst folgenden Abhandlungen dieser Reihe behandeln ausschliesslich Ergebnisse, welche die in unserem Laboratorium 1986 begonnenen Arbeiten zu Synthese [25] und Eigenschaften [26] von Oligonucleotiden des Homo-DNS-Typs betreffen. Hierzu ist nun gleich festzuhalten, dass 2,3-Dideoxyribose (im Gegensatz etwa zur 2-Deoxyribose) nicht als potentiell präbiologischer Verbindungstyp zu betrachten ist, und dass demzufolge der Strukturtyp der Homo-DNS-Oligonucleotide vorerst nur als vereinfachtes chemisches Modell einer potentiell natürlichen Hexose-Nucleinsäure zu gelten hat. Nichtsdestoweniger sind die an diesem Modell festgestellten, gegenüber Oligo-2'-deoxyribonucleotiden zum Teil drastisch verschiedenen Paarungseigenschaften [26] für die gestellte Frage von Belang, da diese Unterschiede eine spezifische Konsequenz der Sechsring-Struktur des Zucker-Bausteins darstellen. Über die Synthese und entsprechenden Eigenschaften von Oligonucleotiden, deren Zucker-Bausteine die D-Allose und gegebenenfalls andere Hexosen sind, werden wir in einer späteren Arbeit berichten [27].

Nebst der hier in den Vordergrund gerückten Ausrichtung auf das Problem einer chemischen Rationalisierung des Strukturtyps der Nucleinsäuren sind Untersuchungen über Hexose-Oligonucleotide auch Teil einer Arbeitsrichtung, die eigentlich schon seit

längerer Zeit verfolgt wird, nämlich die im weitesten Sinne biomimetischen Versuche zur Herstellung von künstlichen Oligonucleotid-Analoga, welche die Fähigkeit zur spezifischen Basenpaarung unter sich oder mit natürlichen Nucleinsäuren besitzen und gegebenenfalls von pharmakologischem Interesse sein könnten. Eine umfassende Übersicht auf die Anfänge, Zielsetzungen und Ergebnisse dieses Arbeitsgebiets findet sich in Übersichtsartikeln von *Hoffmann* [28] und von *Jones* [29]) aus dem Jahre 1979. In neuerer Zeit hat diese Arbeitsrichtung durch das medizinisch-chemisch relevante Konzept des Eingriffs in Genexpressionsprozesse mittels künstlicher 'Antisense'-Oligonucleotid-Sequenzen [30] einen sprunghaften Auftrieb und sowohl in struktureller als auch funktioneller Hinsicht eine viel schärfere Ausrichtung erfahren. Zur Zeit werden in diesem Zusammenhang in zahlreichen Laboratorien systematische und strukturell gezielte Modifikationen in praktisch sämtlichen Bezirken der Rückgrat-Struktur der natürlichen Nucleinsäuren vorgenommen, vorderhand mit Erfolg hauptsächlich im Bereich der Phosphodiester-Gruppierung [31]<sup>7)</sup>. Aus diesen medizinisch-chemisch motivierten Bemühungen heraus wird zweifellos eine Fülle von Erfahrungen hervorgehen, aus welchen ebenfalls eine vertiefte Einsicht in jene strukturellen Voraussetzungen resultieren wird, welche eine modifizierte Rückgrat-Struktur erfüllen muss, um als Paarungspartner natürlicher Nucleinsäuren dienen zu können. Unsere Arbeiten über die Chemie von 2',3'-Dideoxyhexapyranose-Oligonucleotide stellen nicht zuletzt auch hierzu einen Beitrag dar. Aus dem sich hier einstellenden Blickwinkel wird übrigens der bemerkenswerte Zusammenhang offenbar, der im Hintergrund zwischen der Suche nach funktionstüchtigen 'Antisense'-Oligonucleotid-Systemen einerseits und der Frage nach dem Ursprung des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren andererseits besteht. Die in ihrer Zielsetzung so unterschiedlichen Arbeitsrichtungen stossen in ihrem chemischen Kern beide auf die Frage, ob die spezielle Rückgrat-Struktur der Nucleinsäuren einen funktionsspezifischen Sonderfall oder nur eine der Möglichkeiten unter vielen darstellt und wie weit gegebenenfalls solche Möglichkeiten strukturell auseinanderliegen und die Fähigkeit zu gegenseitiger Kommunikation durch Basenpaarung besitzen\*).

In den letzten Jahren hat sich die Diskussion über die Frage belebt, ob der Strukturtyp der RNS als die ursprüngliche Form von sich selbst reproduzierenden Biopolymeren zu betrachten sei. Die Diskussion bewegt sich zwischen reger Befürwortung [33], Skepsis [34] [35] bis zu glatter Ablehnung [36], erstere angefacht durch die Entdeckung der Ribozyme [37], die Skepsis hingegen nahegelegt als Folge nüchterner Beurteilung bislang vorliegender experimenteller Erfahrungen über die Bildung von Ribonucleoiden unter potentiell präbiotischen Bedingungen<sup>8)</sup>. Aus dem Lager der Skeptiker sind neulich in diesem Zusammenhang auch Alternativsysteme vorgeschlagen worden, in welchen das Ribose-Strukturelement der RNS als durch strukturformal 'einfachere', Zucker-ähnliche Bau-

<sup>7)</sup> Über ein Beispiel einer tiefgreifenderen (einen sechsgliedrigen Ring verwendeten) Strukturmodifikation vgl. [32].

<sup>8)</sup> Die Beobachtung [1], wonach die Aldomerisation von Glycolaldehyd-phosphat in Gegenwart von Formaldehyd bevorzugt (*rac*) Ribose-2,4-diphosphat geben kann, ist zwar in diesem Zusammenhang von Belang, soll aber die hier in Frage stehende Skepsis nicht ausräumen, da sich letztere nicht allein auf die Bildung des Ribose-Bausteins, sondern auch auf die Stufen der Nucleotidierung bezieht [34] [35]. Über eine Übersicht zu den Erfahrungen zur potentiell präbiotischen Bildung von Nucleotiden vgl. [10], S. 112-117.

\* ) **Anmerkung bei der Korrektur:** Vgl. die Arbeiten von *Rosemeyer* und *Seela* [68] über die Synthese und Paarungseigenschaften von Oligo(2'-deoxy- $\beta$ -D-xylofuranosyl)nucleotiden.

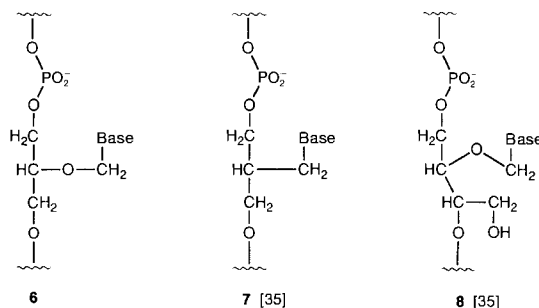


Fig. 5. Zur Debatte über die Frage nach dem Strukturtyp des ersten genetischen Systems [35]\*)

- \*) The recent discovery of ribozymes has revived the debate about the role that the structure type present today in RNA may have played in life's origin. The opinion, strongly held in some quarters, that RNA could have been the first self-replicating biopolymer has been challenged, and rightly so, by those [34] [35] who point to the lack of experimental evidence for RNA's potential for molecular self assembly. Some of these skeptics have proposed alternative systems, in which the ribose component of RNA is replaced by ostensibly simpler sugar-like components (*cf.* Formulae **6–8**) [35]. Apart from the question, whether such aliphatic analogs have the capacity for base pairing, judged by the criterion of constitutional self assembly, they may in fact be more complex than sugar oligonucleotides, including hexose derivatives.

steine ersetzt gedacht ist (vgl. **6–8** in Fig. 5) [35]<sup>9)</sup>). Bislang sind unseres Wissens keine experimentellen Befunde bekannt geworden, die darauf hinweisen würden, dass aliphatische Systeme der vorgeschlagenen Art für eine Selbstkonstituierung geeigneter sein könnten als Oligonucleotid-Systeme mit cyclischen *Pentose*- und wenn schon, dann auch *Hexose*-Bausteinen. Leider waren die Vorschläge nicht von experimentellen Befunden begleitet, welche die interessante Frage nach der Basenpaarungsbereitschaft von Oligonucleotid-Strukturen des vorgeschlagenen Typs hätten beantworten können<sup>10)</sup>.

Es war seinerzeit nicht eigentlich die Frage, ob Hexose-Nucleinsäuren ursprüngliche Träger genetischer Information hätten gewesen sein können, welche zur Initiierung unserer Arbeiten über Homo-DNS-Oligonucleotide geführt hatte; im unmittelbaren Vordergrund stand – und steht auch heute noch – die der Abhandlungsreihe als Titel

<sup>9)</sup> Die von den Autoren [35] beabsichtigte 'Vereinfachung' des Oligonucleotid-Strukturtyps sollte sich vor allem auch auf die Stereochemie beziehen: zwei der vorgeschlagenen Zucker-Bausteine sind (als Monomere) achiral. Damit wird aber weder das Problem der Diastereoselektivität noch jenes der Enantioselektivität der Oligomerisierung umgangen.

<sup>10)</sup> Ansätze zu solchen Befunden finden sich in [38] [39]. Die Befunde von *Schneider* und *Benner* [39], wonach Einbau von Mononucleotid-Einheiten des Typs **6** in Oligo-2'-deoxyribonucleotid-Duplexe deren Schmelztemperatur erniedrigen, illustrieren die Paarungsinkompatibilität der beteiligten Oligonucleotid-Strukturtypen, sagen aber an sich nichts über das Paarungsverhalten des Strukturtyps **6** mit sich selbst aus (so z. B. paaren sich Homo-DNS-Oligonucleotide mit sich selbst, nicht aber mit komplementären DNS-Oligonucleotiden, vgl. [2b] [26]). Zu der bislang vor allem durch die Kenntnis des Paarungsverhaltens der Homo-DNS-Oligonucleotide bestärkten Auffassung, wonach aliphatische Varianten des Oligonucleotid-Strukturtyps eine geringere Paarungsneigung als entsprechende cyclische Oligonucleotide zeigen sollten, hat in unserem Laboratorium eine von *Roth* initiierte und von *Ling Peng* durchgeführte Arbeit [40] einen experimentellen Beitrag geleistet: Oligonucleotide (bis zu Dodecameren) des Strukturtyps der 1',2'-seco-DNS (Me-Gruppe anstelle von CH<sub>2</sub>OH in **8**) mit selbstkomplementären Adenin-Thymin-Sequenzen zeigen keine Paarung unter Bedingungen, bei denen entsprechende DNS-Oligonucleotide Duplexe bilden (vgl. die sich in Vorbereitung befindende Dissertation von *Ling Peng*).

dienende Fragestellung. Doch seither ist der Ruf nach *experimentell begründeten* Vorstellungen über den Strukturtyp des vermutlich ersten genetischen Systems lauter geworden; letztlich wird es die synthetische bioorganische Chemie sein, die auf die in dieser Frage liegende Herausforderung konkret einzugehen haben wird. Die Arbeiten zur Chemie von Hexose-Nucleinsäuren sind in Anbetracht der inzwischen gemachten Befunde über Eigenschaften von Oligonucleotiden des Homo-DNS-Typs als Beitrag auch in dieser Richtung zu betrachten [41].

**3. Qualitative Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Einzelstrangs: Ableitung des bevorzugten Strukturtyps.** – Nicht zuletzt waren es die Ergebnisse qualitativer konformationsanalytischer Betrachtungen gewesen, welche uns seinerzeit ermuntert hatten, das Projekt der Synthese von Oligonucleotiden des Homo-DNS-Typs experimentell anzupacken. Jene Betrachtungen waren auf die Beantwortung der Frage ausgerichtet gewesen, welche Konformationstypen eines Homo-DNS-Einzelstrangs bevorzugt sein würden, und ob gegebenenfalls von solchen die Bereitschaft zu *Watson-Crick* scher Basenpaarung erwartet werden könne. Die von Betrachtungen an mechanischen Modellen<sup>11)</sup> begleitete Konformationsanalyse hat diese Fragen auf überraschend einfache und glaubhafte Art beantwortet; sie hat vor allem dadurch, dass sie zur Voraussage eines (in idealisierter Form) *linearen* statt *helicalen* Konformationstyps des Homo-DNS-Einzelstrangs gelangte und zudem gleich auch noch einen wichtigen, geometrischen Grund für die Helicalität der natürlichen DNS aufzeigte, das Interesse am Verbindungstyp einer Homo-DNS beflügelt. Nachstehend werden der Gang dieser Analyse in ihrer bereinigten Form und ihre Ergebnisse dargestellt.

Dabei ist von vornherein klar, dass die Manier, mit der diese Analyse im Zeitalter des computerunterstützten 'molecular modelling' durchgeführt ist<sup>12)</sup>, von manch einem Leser als überholt betrachtet werden wird, und dies aus formaler Sicht wohl nicht zu unrecht. Trotzdem wird hier der Gang der Analyse explizite wiedergegeben, und zwar vorab um die den Schlussfolgerungen zugrundeliegenden Kriterien offenzulegen, darüber hinaus aber auch, um der Auffassung Ausdruck zu verleihen, dass in der Praxis ein auf qualitativer Ebene durch Faktorisierung erarbeitetes Konformationsverständnis unter Umständen heuristischer sein kann als ein zwar realistischeres, aber passiv durch Abruf gewonnenes Konformationsbild, und dass gegebenenfalls ein letzteres durch den praktizierenden Chemiker eigentlich erst dann verstanden wird, wenn er es auf qualitativer Ebene durchschaut, d. h. es im wesentlichen auf das Zusammenwirken der konformationsbestimmenden Faktoren zurückführen kann. Es versteht sich von selbst, dass eine solche Forderung mit zunehmender struktureller Komplexität der Moleküle auf ihre Grenzen stossen muss. Die Komplexität des Konformationstyps einer natürlichen DNS scheint bereits jenseits dieser Grenze zu liegen; dies insbesondere als Folge der extremen konformationellen Beweglichkeit des fünfgliedrigen Furanose-Rings. Unser seinerzeitiges Unterfangen, eine qualitative Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Strangs zu versuchen, wurde natürlich durch das im Vergleich zum Furanose-Ring bekanntlich viel einfachere konformationelle Verhalten eines sechsgliedrigen Pyranose-Rings ausgelöst. In der Folge zeigte sich dann, dass auf dem Umweg der Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Einzelstrangs auch das konformationelle Verhalten eines DNS-Doppelstrangs qualitativ verständlich wird, und zwar dadurch, dass die Homo-DNS-Konformation als Bezugskonformation für die DNS verwendet wird, und die DNS-Konformation als eine durch die Eigenheiten des fünfgliedrigen Furanose-Rings modifizierte Homo-DNS-Konformation gesehen wird.

*Fig. 6* orientiert über die bei der qualitativen Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Einzelstrangs befolgten Kriterien. Vorab wird eine *idealisiert gestaffelte Konformation* (Torsionswinkel  $\pm 60$  und  $180^\circ$ ) für sämtliche Einfachbindungen der Rückgrat-Kette

<sup>11)</sup> 'HGS Biochemistry Molecular Models', Maruzen Co. Ltd., Tokyo.

<sup>12)</sup> In graphischer Hinsicht verwendet die Analyse das bekannte [42], u. a. von *Prelog* und Mitarbeitern [43] schon früh und des öfters verwendete 'Diamantgitterkonzept' der Wiedergabe von Molekül-Konformationen.

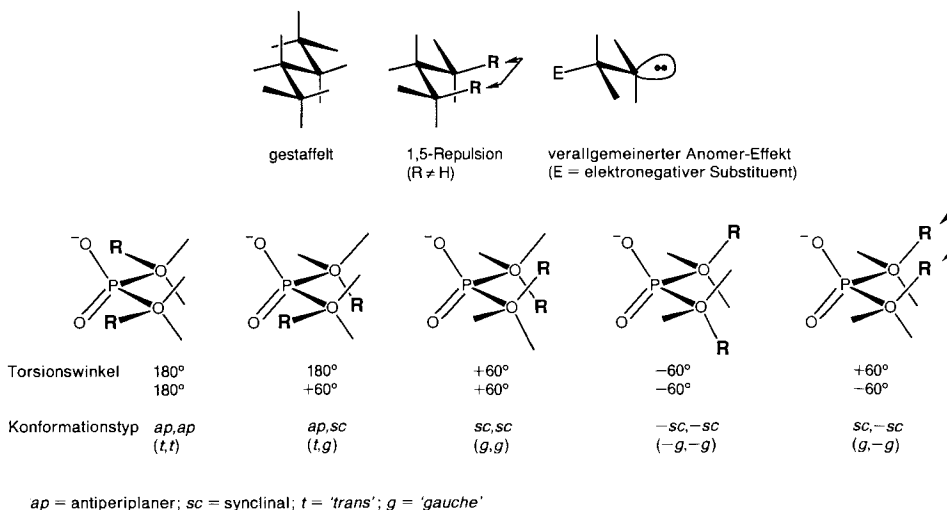


Fig. 6. Qualitative Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Einzelstrangs: Beurteilungskriterien\*)

- \*) Rules for the qualitative conformational analysis of a homo-DNA single strand: 1) Only idealized staggered conformations for all single bonds between centers of idealized tetrahedral geometry are considered, O-atom lone pairs being regarded as virtual bonds (torsional rule). 2) Conformations giving rise to 1,5-repulsions (R = H) are disallowed (steric rule). If a 1,5-repulsion is unavoidable, the least hindered option is selected. 3) That unhindered conformation for the phosphodiester groups is chosen which conforms to the dictates of the generalized anomeric effect (*sc*, *sc* or *-sc*, *-sc*), presuming an RO O-atom to be more electronegative than a semi-negatively charged P–O bond, and showing an electron pair of each RO O-atom antiperiplanar to the other P–OR bond) (stereoelectronic rule).

und eine *idealisierte (tetraedrische)* Geometrie für alle Bindungszentren entlang dieser Kette unterstellt. Im besonderen gilt dies auch für (C–O)- und (P–O)-Bindungen, indem man den O-Zentren im Sinne der bewährten Vorstellung, wonach die beiden Elektronenpaare räumlich zwei virtuelle Bindungen simulieren, eine tetraedrische Geometrie zuordnet. Für den Strukturbezirk zwischen zwei Nucleotid-Bausteinen werden sequentiell für jede Rückgrat-Bindung die drei (einer Rotation um die Bindung entsprechenden) Staffelloptionen betrachtet und nach zwei Kriterien, d. h. einem sterischen und (für die Phosphodiester-Gruppierung) stereoelektronischen Kriterium entweder als 'erlaubt' befunden, oder als 'verboten' ausgeschieden.

Das *sterische Kriterium* betrifft den Ausschluss von Staffelloptionen, welche zu einer '1,5-Repulsion' führen würden, d. h. einer Anordnung, in welcher die Bindungen zu zwei 1,3-ständigen Nicht-H-Atomen bei Staffellung aller Bindungen parallel zueinander liegen<sup>13)</sup> (Fig. 6); wenn dies für keine der drei Staffelloptionen zu umgehen ist, wird die sterisch am wenigsten ungünstige Option *faute de mieux* als 'erlaubt' befunden. Für den Pyranose-Ring wird die Sessel-Konformation mit äquatorialer Anordnung aller drei

<sup>13)</sup> Für die Konformation des Rückgrats von Oligonucleotiden hat – wie im folgenden gezeigt wird – dieser sterische Faktor entscheidende Bedeutung. Aus der Sicht der Geschichte der organischen Stereochemie ist bemerkenswert, dass dieser Faktor der in den 50er Jahren wohlbekanntesten 'rule of six' von Newman [44] entspricht.



Substituenten vorausgesetzt. Die Analyse ignoriert die sonst übliche Berücksichtigung 'synclinaler Anordnungen' vicinaler Substituenten, d. h. behandelt die mit ihnen einhergehenden sterischen Wechselwirkungen als energetisch generell weit weniger ins Gewicht fallend als 1,5-Repulsionen [45].

Das *stereoelektronische Kriterium* bezieht sich auf die Beurteilung der Staffelloptionen im Bereiche der Phosphodiester-Gruppierung. Die formale Übertragung der dem verallgemeinerten Anomer-Effekt entsprechenden konformationellen Forderung (nach antiperiplanarer Anordnung der  $sp^3$ -Orbital-Achse eines nicht-bindenden Elektronenpaares und vicinaler  $\sigma$ -Bindung zu einem elektronegativen Substituenten [46]) auf die Phosphodiester-Gruppierung gibt unter insgesamt fünf Konformationstypen (vgl. Fig. 6) den Typen *sc,sc* und  $-sc,-sc$ <sup>14)</sup> den Vorzug, wobei jedoch der letztere Typ entfällt, da mit ihm – in aliphatischen Systemen – eine 1,5-Repulsion einhergeht. Der Konformationstyp *sc,sc* (oder  $-sc,-sc$ ) ist gegenüber den Typen *ap,sc* und *ap,ap*<sup>14)</sup> (oder *ap,-sc*) deshalb vorzuziehen, weil in ihm jede der beiden Alkoxy-Gruppen antiperiplanar zu einem Elektronenpaar der jeweils anderen Alkoxy-Gruppe steht; unter den vier Phosphodiester-O-Atomen sind die ungeladenen Alkoxy-O-Atome elektronegativer als die (halb) negativ geladenen Oxid-O-Atome<sup>15)</sup>. Inwieweit die Aussage dieses sich formal auf die gängige Interpretation [48] [46] des klassischen Anomer-Effekts beziehenden Postulats mit experimentellen Beobachtungen über den bevorzugten Konformationstyp von Phosphodiestern parallel geht, zeigt das in Fig. 7 wiedergegebene Histogramm<sup>16)</sup>.

Dieses zeigt die relativen Häufigkeiten von (*sc,sc*)- (bzw.  $-sc,-sc$ )- sowie (*ap,sc*)- (bzw. *ap,-sc*)-Konformationen in Phosphodiestern, deren röntgenstrukturanalytische Daten im *Cambridge-File* gespeichert sind [49]. Um zu vermeiden, dass diese Häufigkeiten durch nicht-fragegerechte Faktoren, d. h. insbesondere durch Einbau der Phosphodiester-Gruppierung in den konformationsbeengenden Zusammenhang der Struktur von Oligonucleotid-Duplexen (die bevorzugt ( $-sc,-sc$ )-Konformationen aufweisen [47]) verfälscht werden, sind im Histogramm keine solchen oligonucleotidische Duplex-Strukturen berücksichtigt (über ein entsprechendes Histogramm von Duplex-Strukturen vgl. Kap. 4). Der (*sc,sc*)-Konformationstyp ist bei Phosphodiestern anscheinend intrinsisch bevorzugt; indessen kommen Konformationen des (*sc,ap*)-Typs noch relativ häufig vor, solche des (*ap,ap*)-Typs jedoch anscheinend überhaupt nicht. Die im Histogramm ebenfalls auftretenden Fälle von (*sc,-sc*)-Konformationen wären – falls es sich um aliphatische Phosphodiester handeln würde – aus sterischen Gründen (1,5-Repulsion)

<sup>14)</sup> *sc* = synclinal entspricht *g* = 'gauche', *ap* = antiperiplanar entspricht *t* = 'trans', vgl. [20], S. 16. Für den Vergleich des (idealisierten) Homo-DNS-Konformationstyps mit realen DNS-Konformationen benötigen wir (entsprechend den drei Staffelloptionen pro Einfachbindung) die folgende (vereinfachende) Klassifizierung: *sc*:  $0 \rightarrow 120^\circ$  (Torsionswinkelbereich),  $-sc$ :  $0 \rightarrow -120^\circ$  (bzw.  $240 \rightarrow 360^\circ$ ), *ap*:  $120 \rightarrow 240^\circ$  (bzw.  $\pm 120 \rightarrow 180^\circ$ ).

<sup>15)</sup> Zur Rückführung von Struktur- und Reaktivitätseigenschaften von Phosphorsäure-estern auf stereoelektronische Effekte vgl. insbesondere die systematischen Arbeiten von Gorenstein und Mitarbeitern [47], sowie auch die frühere Abhandlung von Sundaralingam [53]. Nach *ab-initio*- und CNDO/2-Berechnungen [47b] an Dimethyl-phosphat soll die (*sc,sc*)-Konformation eines Phosphodiesters die stabilste sein, sich aber vom (*ap,ap*)-Typ um weniger als 1 kcal/mol unterscheiden.

<sup>16)</sup> Vgl. auch eine entsprechende Zusammenstellung in [53]. Ironischerweise zeigte die erste Röntgenstrukturanalyse eines Phosphodiesters, nämlich die seinerzeit unmittelbar auf die Watson-Crick'sche DNS-Publikation [15] hin von Dunitz und Rollett [50] unternommene Röntgenstrukturanalyse des Phosphorsäure-dibenzylesters keine ( $-sc,-sc$ )-Konformation, sondern die ( $-sc,ap$ )-Anordnung (korrigierte Werte für Torsionswinkel  $-66,6^\circ$  und  $-172,0^\circ$ ). Wir danken Prof. J. D. Dunitz für diesen Hinweis. Rund die Hälfte der im *Cambridge-File* aufgeführten Fälle von (*sc,ap*)-Phosphodiestern stammen aus Röntgenstrukturanalysen von Vitamin B<sub>12</sub> und seinen Derivaten. Dies ist hier deshalb von Belang, weil gemäss einer kürzlich durchgeführten Konformationsstudie [51] eine Schliessung des 19gliedrigen Rings der Nucleotid-Schleife in Vitamin B<sub>12</sub> eine (*sc,ap*)-Konformation der Phosphodiester-Gruppierung räumlich voraussetzt.

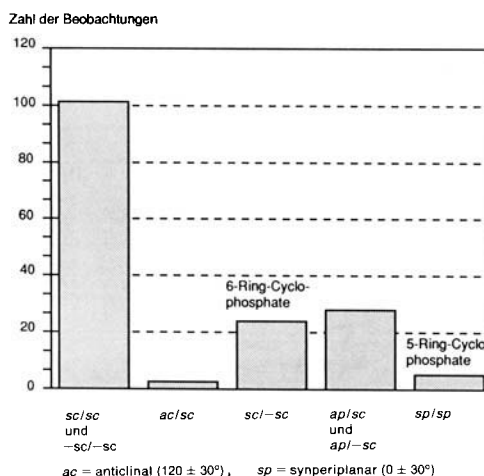


Fig. 7. Phosphodiester-Konformationen\*)

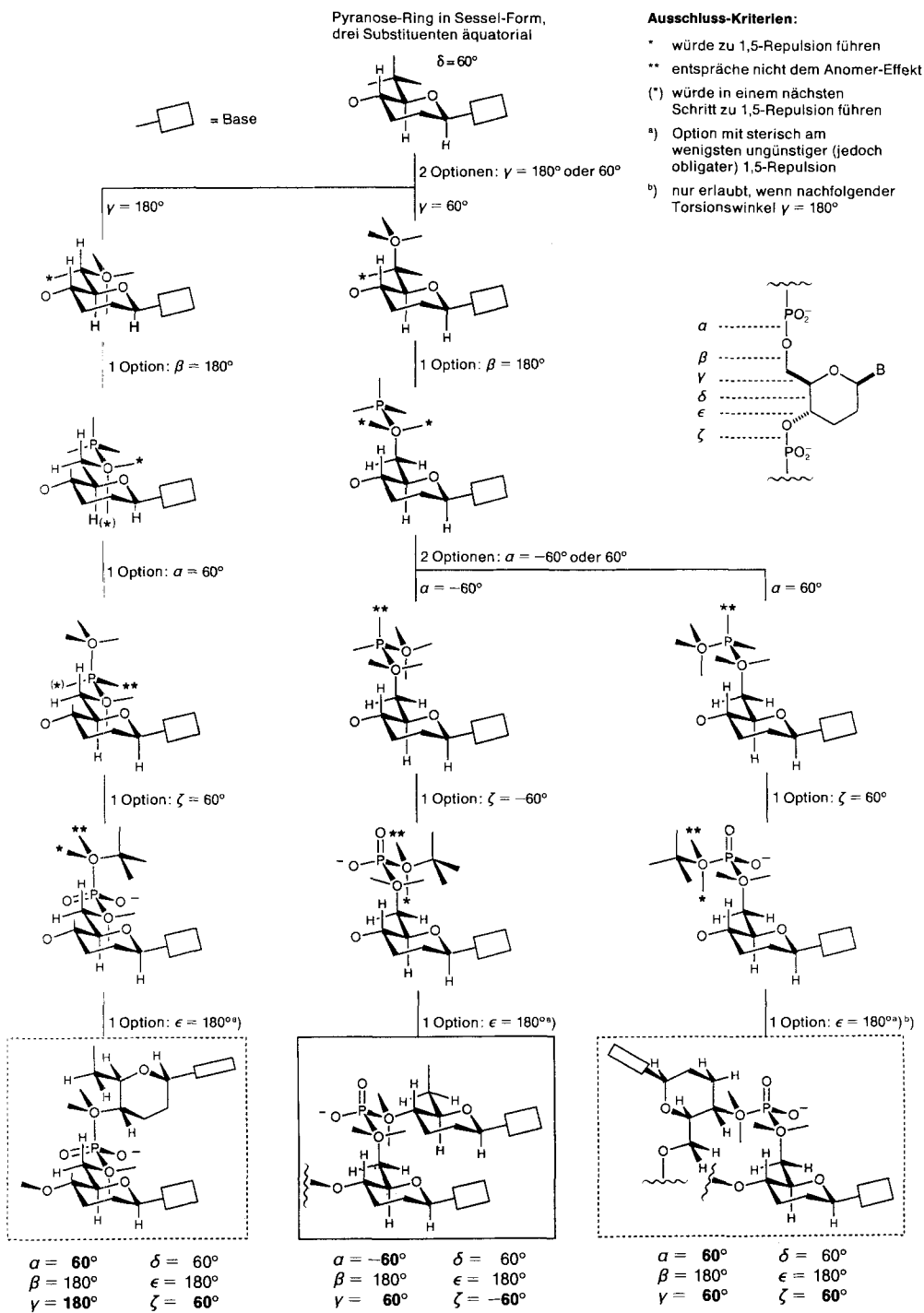
- \*) Histogram showing relative abundances of *sc,sc* (or *-sc,-sc*) and *ap,sc* (or *ap,-sc*) conformations in phosphodiester X-ray structures stored in the *Cambridge Structural Database*. Only non-oligonucleotide duplex phosphodiester structures are considered. All *sc,-sc* cases are found to be phosphodiester which form part of a six-membered ring. In all *sp* cases, the phosphodiester is included in a five-membered ring. About half of the *ap,±sc* cases refer to X-ray analyses of vitamin-B<sub>12</sub> derivatives, in which, for steric reasons, the geometry of the nucleotide loop requires the *ap,-sc* conformation [51].

eigentlich alle 'verboten'; die Identifikation der entsprechenden Röntgenstrukturanalysen zeigt aber, dass in der Tat alle Fälle Phosphodiester-Gruppierungen betreffen, welche Teile eines sechsgliedrigen Ringes sind, worin dieser Konformationstyp oligat ist. Schliesslich enthält das Histogramm noch eine Gruppe von Phosphodiestern, die Torsionswinkel um 0° aufweisen; in allen diesen Fällen ist die Phosphodiester-Gruppierung durchwegs Teil eines fünfgliedrigen Rings.

Von den insgesamt sechs Einfachbindungen (Torsionswinkel  $\alpha$  bis  $\zeta$ , vgl. *Schema 4*), die entlang des Homo-DNS-Rückgrats zwischen einer Phosphat-Gruppe und der nächsten konformationell zu beurteilen sind, befindet sich eine, deren Rotation um die Bindungsachse nicht drei, sondern nur zwei Optionen zulässt: die endocyclische (C–C)-Bindung im Pyranose-Ring. Ihr Torsionswinkel  $\delta$  beträgt im idealisierten und durch drei äquatoriale Substituenten fixierten Pyranose-Ringsessel 60°; der umgeklappte Sessel ist 'verboten', da in ihm zwei der drei axialen Substituenten eine 1,5-Repulsion aufweisen. Es sind insgesamt  $2 \cdot 3^5 = 486$  Konformationen<sup>17)</sup> der Beurteilung durch die beiden festgelegten Kriterien zu unterwerfen: geht man dabei wie in *Schema 4* dargestellt vor, so reduziert sich diese Aufgabe auf insgesamt 11 Entscheidungsschritte, indem man die Analyse auf einem gegebenen Optionsast abbricht, sobald man auf ihm eine nicht-kriteriengerechte Teilkonformation antrifft. So z. B. wird nach dem ersten Optionsschritt (Beurteilung der erlaubten Torsionswinkel  $\gamma$  um C(5')–C(6')) der vom Wert  $\gamma = -60^\circ$  ausgehende Optionsast deshalb abgebrochen, weil die zugehörige Teilkonformation eine 1,5-Repulsion aufweist und diese entlang des ganzen Astes vorhanden sein würde (Abbruch im Formelbild

<sup>17)</sup> Beide Pyranose-Sessel-Optionen mitberücksichtigt.

Schema 4. Qualitative Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Einzelstrangs: Durchführung der Analyse\*)



\*) For English Footnote, see p.237.

durch \* angezeigt). Bei der Beurteilung des Torsionswinkels  $\alpha$  sind in allen drei bis dahin nicht abgebrochenen Optionsästen die jeweils mit \*\* markierten Optionen aufgrund des stereoelektronischen Kriteriums 'verboten' und die entsprechenden Optionsäste abzubrechen, weil an diesen Stellen jeweils ein Elektronenpaar plaziert zu sein hat, um der Forderung zu genügen, dass jeder der Phosphodiester-Alkoxy-Substituenten antiperiplanar zu einem Elektronenpaar des jeweils andern Alkoxy-Substituenten zu legen habe. Für den Torsionswinkel  $\varepsilon$  schliesslich gibt es in allen drei verbliebenen Optionsästen keine Möglichkeit, welche nicht sterisch 'verboten' wäre, einfach deshalb, weil jegliche sekundär gebundene Phosphat-Gruppe in einem idealisierten Modell obligat mindestens eine 1,5-Repulsion aufweist. Im vorliegenden Fall unterscheiden sich die jeweils drei Möglichkeiten in sterischer Hinsicht sehr deutlich: eine der drei Möglichkeiten weist zwei 1,5-Repulsionen auf, die zwei restlichen nur eine. Die in den drei Optionsästen jeweils gewählte Anordnung (Schema 4) enthält die von den beiden Möglichkeiten jeweils sterisch am wenigsten ungünstige 1,5-Repulsion.

*Als überraschend einfaches Resultat der mit nur zwei Auswahlkriterien geführten Suche nach sterisch und stereoelektronisch 'erlaubten' (idealisierten) Konformationen einer Homo-DNS-Rückgrat-Einheit ergibt sich, dass von insgesamt 486<sup>17)</sup> formal möglichen Konformationen nur deren drei kriteriengerecht 'erlaubt' sind (Fig. 8). Unter diesen ist nur eine einzige konformationell repetitiv, d. h. nur eine erfüllt formal die strukturelle Voraussetzung für die Möglichkeit einer Basenpaarung im Polymer mit einem Mononucleotid<sup>18)</sup> als repetitive Einheit. Mit den beiden konformationell nicht-repetitiven Formen ( $\gamma = 180^\circ$ ,  $\alpha = 60^\circ$  und  $\gamma = 60^\circ$ ,  $\alpha = 60^\circ$ ) lassen sich keine unbehinderten Oligomer-Stränge konstruieren; innerhalb der Spanne von drei Nucleotid-Einheiten weisen sie eine *quasicyclische* Form auf, in der sie sich intramolekular sterisch behindern. Der zu Basenpaarung im Oligomer befähigte Konformationstyp  $\alpha = -60^\circ$ ,  $\beta = 180^\circ$ ,  $\gamma = +60^\circ$ ,  $\delta = +60^\circ$ ,  $\varepsilon = 180^\circ$ ,  $\zeta = -60^\circ$ ,  $(-sc,ap,+sc,+sc,ap,-sc)^{14)}$  weist parallel liegende Basenebenen auf, welche – wenn dieselben synplanar zu den (H–C(1'))-Bindungen liegen (Torsionswinkel  $\chi = -120^\circ$ ) – in einem Orthogonal-Abstand von ca. 5 Å aufeinanderfolgen. Das Modell kann diesen (für eine Basenstapelung zu grossen) Abstand sowohl durch gleichsinnige Drehung benachbarter Basen um die (C(1')–N)-Bindungsachsen, als auch durch Abweichungen in den Rückgrat-Torsionswinkeln von ihrem Idealwert verringern.*

<sup>18)</sup> Polynucleotide könnten als repetitive Elemente auch höhere Oligonucleotid-Einheiten aufweisen. So z. B. wäre der Konformationstyp  $\zeta = -60^\circ$ ,  $\alpha = 180^\circ$ ,  $\sigma = 60^\circ$  in *Fussnote 19* als Tetranucleotid-Einheit konformationell repetitiv.

\*) Conformational analysis of a single-strand homo-DNA oligonucleotide unit. The procedure starts with the idealized chair conformation of the dideoxypyranose ring, all three substituents equatorial. Thus, the torsion angle  $\delta$  of the endocyclic backbone bond is set at  $60^\circ$ . One proceeds by considering in sequence along the backbone the bond torsion angles,  $\gamma$ ,  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\zeta$ ,  $\varepsilon$ , applying the rules of Fig. 6 to the three idealized staggered conformations at each bond. If a partial conformation does *not* satisfy the rules, its entire branch is examined no further. Branch 'stops' are indicated by star symbols: \* = position which engenders 1,5-repulsion; \*\* = position which disobeys the stereoelectronic rule; (\*) = position which compels 1,5-repulsion in the *next* decision step. The Figure follows the path to its conclusion: out of 486 ( $= 2 \cdot 3^5$ , chair inversion included) conformations, there are three, and only three, least strained conformers. Note that these are strained as well: they display the 1,5-repulsion unavoidable in all options for the secondary junction of the phosphate group. In each of the three cases, the option chosen ( $\varepsilon = 180^\circ$ ) is the *least unfavorable*.

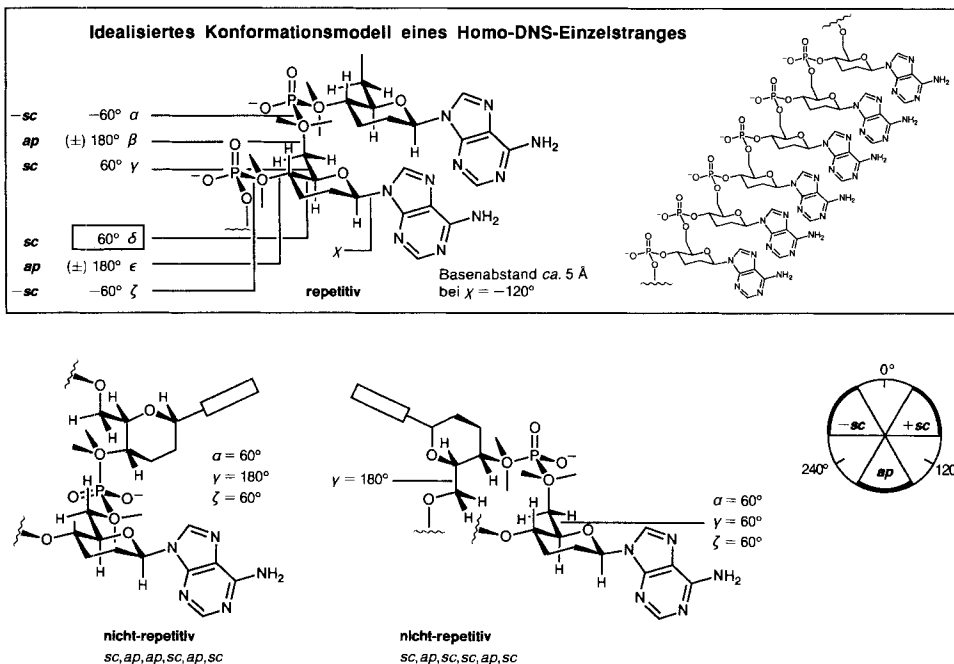


Fig. 8. Qualitative Konformationsanalyse eines Homo-DNS-Einzelstrangs: Analyse-Ergebnis\*)

- \*) Among the three least strained conformers, the one with the (idealized) torsion angles  $\alpha = -60^\circ$ ,  $\beta = 180^\circ$ ,  $\gamma = +60^\circ$ ,  $\delta = +60^\circ$ ,  $\epsilon = 180^\circ$ ,  $\zeta = -60^\circ$  (-sc, ap, +sc, +sc, ap, -sc) is unique in that its conformation is *repetitive* within a single mononucleotide unit, as required for (the simplest form of) base pairing in an oligomer (pairing rule). Oligomer strands constructed with this unique (idealized) conformation of the backbone unit possess a *linear* (rather than a *helical*) overall structure.

*Footnote 19* refers to the result of the analysis, when the stereoelectronic rule is relaxed to allow inclusion of not only sc, sc, but also sc, ap (but not ap, ap) conformations of the phosphodiester group. Four extra 'least strained' conformers are found, of which again only one is conformationally repetitive. It, too, has a linear secondary structure, but it differs from the repetitive -sc, -sc conformation by having the planes of succeeding bases farther apart (ca. 6 Å as opposed to ca. 5 Å, when torsion angle  $\alpha = -120^\circ$ ).

In reality, a homo-DNA single strand will be only *quasilinear*, since every deviation from the ideal values of the bond and torsional angles will lead, by virtue of its repetition in the oligomer, to a helical form for the strand; and presumably, the torsion angles  $\epsilon$ ,  $\zeta$ , and  $\alpha$  will deviate from their linearity values in order to relieve the strain inherent in the idealized conformation of the secondary phosphate-group junction. Furthermore, in a homo-DNA duplex, the backbone could cooperatively adjust to the requirement that the bases approach each other, until stacking distance is achieved.

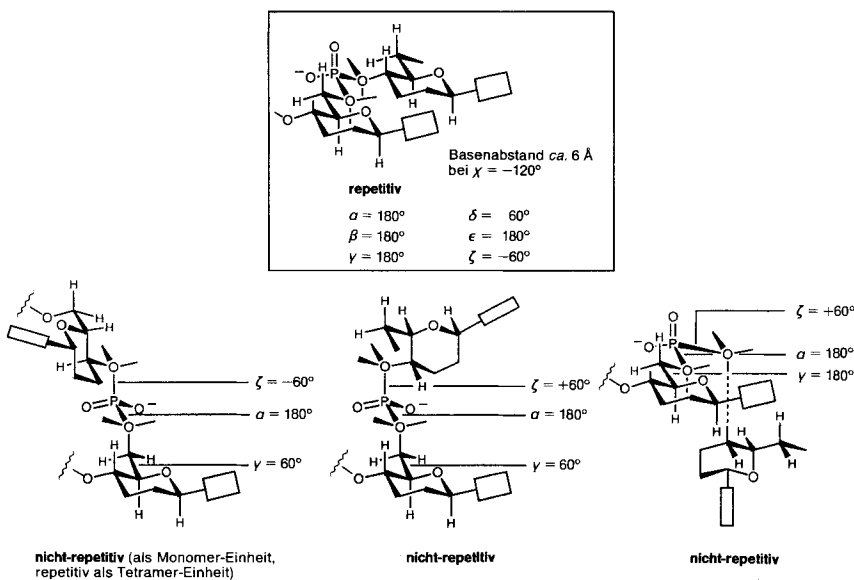
Somit braucht es insgesamt vier konformationsanalytische Postulate, um unter insgesamt  $2 \cdot 3^5$  formal möglichen (idealisierten) Konformationen einer Mononucleotid-Einheit einen *einzig* Konformationstyp zu selektionieren, der sowohl geringste Spannung aufweist als auch Oligomer-paarungsfähig erscheint (s. Fig. 8), nämlich 1) alle Konformationen um Einfachbindungen seien gestaffelt, 2) 1,5-Repulsionen seien ausgeschlossen, ausgenommen dort, wo sie aus konstitutionellen Gründen unumgänglich sind, 3) die

Phosphodiester-Konformation sei  $-sc, -sc^{14}$ , d. h. Anomer-Effekt-konform<sup>19)</sup>, und schliesslich, 4) der Konformationstyp sei innerhalb einer Mononucleotid-Einheit repetitiv. Dieses Resultat ist besonders aus zwei Gründen bemerkenswert. 1) *Der selektionierte Konformationstyp erweist sich als identisch mit demjenigen, welcher (in relaxierter Form) in DNS-Duplexen des A-Typs vorkommt* (dieser Aspekt wird weiter unten im Kap. 4 noch eingehender behandelt). 2) *Das Modell eines Homo-DNS-Einzelstrangs, welches aus lauter Mononucleotid-Einheiten dieses (idealisierten) Konformationstyps aufgebaut ist, besitzt im Gegensatz zur DNS nicht eine helicale, sondern eine lineare Sekundärstruktur.*

Ein linearer Konformationstyp ist bei Nucleinsäuren zumindest seit der Entdeckung des *Watson-Crick*-Modells unseres Wissens nie zur Diskussion gestanden. Ein in der Anfangsphase unserer Beschäftigung mit Homo-DNS-Strukturmodellen durchgeführter Versuch, *de novo* das (mechanische) Modell der *linearen* Version einer Pentose-DNS zu konstruieren, um dessen Dimensionen mit jenen des linearen Homo-DNS-Modells vergleichen zu können, hat uns denn auch mit einer zunächst überraschenden Tatsache konfrontiert: Baut man sich in der Pentose-DNS-Reihe ein mechanisches Einzelstrang-Modell unter (anscheinend) peinlicher Einhaltung der Konformationsregeln, welche in

<sup>19)</sup> Erweitert man den Rahmen der Voraussetzungen der Analyse dahin, dass man nicht nur Phosphodiester-Konformationen des  $(sc,sc)$ -Typs, sondern auch solche des  $(sc,ap)$ -Typs (nicht aber des  $(ap,ap)$ -Typs) zulässt, so resultieren zusätzlich vier 'geringst-gespannte' Konformationstypen, von welchen wiederum nur ein einziger als Mononucleotid-Einheit konformationell repetitiv ist (vgl. Formelbilder). Dieser Typ ( $\gamma = 180^\circ$ ,  $\alpha = 180^\circ$ ,  $\zeta = -60^\circ$ ) gleicht äusserlich dem ursprünglich selektionierten, repetitiven Typ ( $\gamma = 60^\circ$ ,  $\alpha = -60^\circ$ ), der Abstand seiner Basenebenen beträgt *ca.* 6 Å statt der früheren *ca.* 5 Å. In diesem Zusammenhang ist die Tatsache erwähnenswert, dass in sämtlichen bislang röntgenstrukturanalytisch untersuchten Oligonucleotiden mit Interkalatoren die Phosphodiester-Gruppen zwischen den Interkalator-flankierenden Basen eine  $(sc,ap)$ -Konformation aufweisen. Wir danken Dr. *M. Egli* (MIT) für die Zusammenstellung und Überlassung der hierfür relevanten Daten.

Homo-DNS-Konformationen (idealisiert) mit  $ap/sc$ -Phosphodiester-Gruppierungen



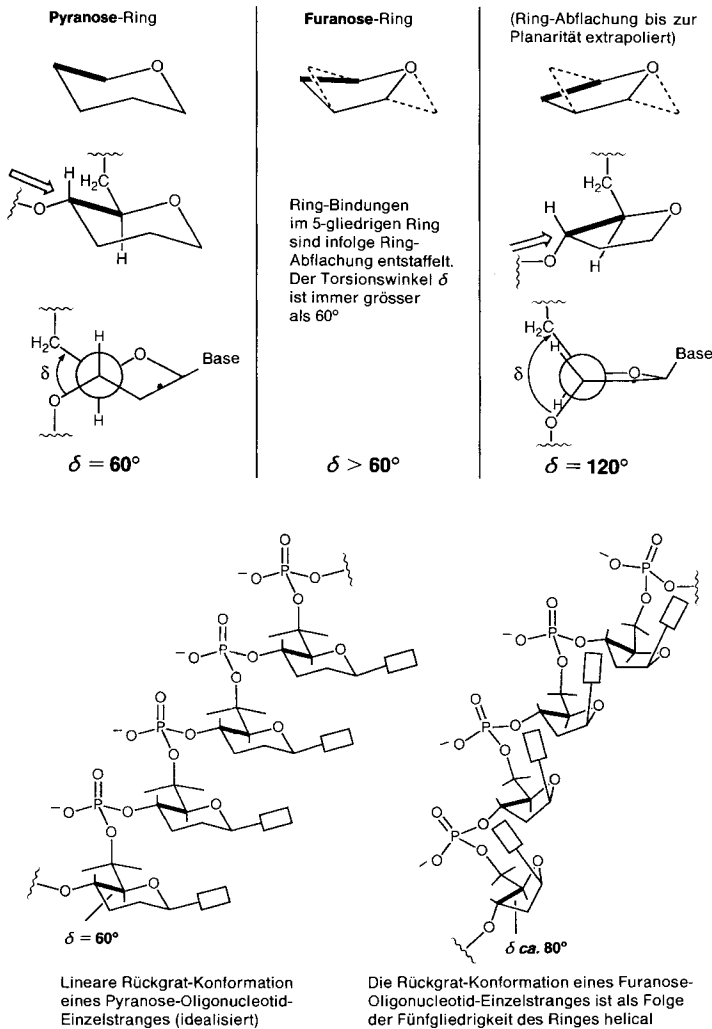


Fig. 9. Zur spezifischen Bedeutung des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$  für die Rückgrat-Konformation eines DNS- (oder RNS)-Einzelstrangs aus der Sicht des (idealisierten) Homo-DNS-Modells\*)

\*) The linearity of the idealized model of the homo-DNA single strand is a consequence of the compensating torsion angles  $+60^\circ$  ( $\gamma, \delta$ ),  $-60^\circ$  ( $\alpha, \zeta$ ), and  $(\pm) 180^\circ$  ( $\beta, \epsilon$ ). The endocyclic torsion angle  $\delta$  in the idealized pyranose chair is  $60^\circ$ , while the corresponding angle in a furanose, as a result of the intrinsic flattening of the ring, must be greater. This alone enforces a helical conformation (right-handed, if the sugar unit has the D-configuration) for a single strand model of an oligopentofuranose nucleotide, if idealized staggering would otherwise be strictly maintained. The very five-memberedness of the furanose ring is in itself determinative of the helicity of natural nucleic acids. Fig. 9 illustrates idealized models of single strands of an oligohexopyranose nucleotide with  $\delta = 60^\circ$  and an oligopentofuranose nucleotide with  $\delta$  set to be ca.  $80^\circ$ , all other parameters of the two models being equal.

der Homo-DNS-Reihe ein Einzelstrang-Modell mit *linearer Sekundärstruktur* erzeugen, so erhält man unausweichlich und wider bessere Absicht ein Modell mit rechtshändig *helicaler Sekundärstruktur*. Diese 'Erfahrung' hat uns auf einen durch seine Einfachheit und geometrische Natur bemerkenswerten und anscheinend bislang nicht bewusst gemachten Aspekt der Frage nach den strukturellen Gründen der Helicalität der DNS-Doppelhelix hingewiesen: *der DNS-Einzelstrang ist aus sich heraus aus geometrischen Gründen schon deshalb helical, weil der Zucker-Baustein ein fünfgliedriger Ring ist; d. h. weil der endocyclische Torsionswinkel  $\delta$  in einem fünfgliedrigen Ring nicht den Wert von  $60^\circ$  annehmen kann (Fig. 9)*. Die Linearität des Homo-DNS-Strangs ist die einfache Konsequenz der Tatsache, dass sein Modell lauter idealisierte Torsionswinkel von  $+60^\circ$ ,  $-60^\circ$  und  $(\pm) 180^\circ$  aufweist, wobei die Torsionswinkel-Summe über eine (repetitive) Mononucleotid-Einheit hinweg  $0^\circ$  beträgt. Im besonderen ist der endocyclische Torsionswinkel  $\delta$  in einem (idealisierten) Pyranose-Sechsrings-Sessel obligat  $60^\circ$ ; der entsprechende Winkel in einem (auch mechanischen) Modell des Furanose-Rings beträgt als Folge der Ring-Abflachung obligat *mehr als  $60^\circ$* . Dies allein – *ceteris paribus* – erzeugt eine rechtsdrehende Helix des Einzelstrangs (bei D-Konfiguration des Zucker-Bausteins und einer Mononucleotid-Einheit als repetitivem Strukturelement). Wie man die in natürlichen DNS-Duplexen auftretenden Rückgrat-Konformationen aus der Sicht der idealisierten Homo-DNS-Einzelstrang-Konformation qualitativ interpretieren kann, wird im nachstehenden Kapitel dargestellt.

Von vornherein ist zu erwarten, dass in der Realität ein Homo-DNS-Einzelstrang nur *quasi*linear sein wird, denn jegliche Abweichung von den idealisierten Werten der Bindungs- und Torsionswinkel wird kraft repetitiver Wiederholung in fortschreitenden Mononucleotid-Einheiten eine helicale Form des Einzelstrangs erzeugen. Für den Konstitutionsbezirk der sekundären Bindungsstelle der Phosphodiester-Gruppierung gibt es einen wichtigen Grund für eine Entidealisierung durch Entstaffelung, nämlich die 1,5-Repulsion zwischen der  $\text{CH}_2(3')$ -Gruppe des Pyranose-Rings und der sekundären Bindungsstelle der Phosphodiester-Gruppierung (vgl. Fig. 8 sowie Fig. 16 in Kap. 4). Die in der Realität zu erwartende Relaxation dieser 1,5-Repulsion wird eine partielle Entstaffelung zumindest der die Torsionswinkel  $\zeta$  und  $\alpha$  betreffenden Bindungen bewirken. Bereits Modellbetrachtungen zeigen, dass sich die kritischen ( $\text{O} \cdots \text{H}$ )- und ( $\text{H} \cdots \text{H}$ )-Distanzen (vgl. Fig. 16) dadurch effizient vergrössern, dass sich die Werte von  $\zeta$  und  $\alpha$  von  $-60^\circ$  nach negativeren Werten verschieben. Die hier anstehenden Fragen entziehen sich allerdings einer Behandlung mit qualitativen Mitteln, ihre Beantwortung ist einem zunftgerechten 'molecular modelling' vorbehalten<sup>20)</sup>.

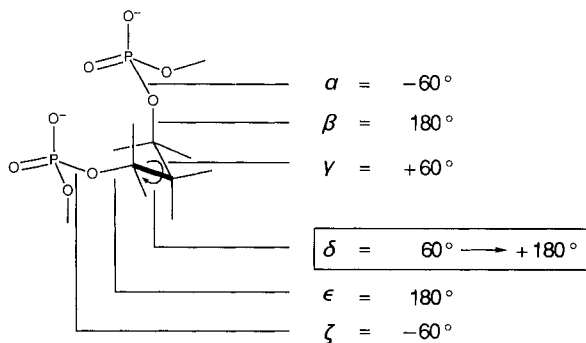
**4. Über Zusammenhänge zwischen dem (idealisierten) linearen Modell des Homo-DNS-Einzelstrangs und den (realen) Rückgrat-Konformationstypen in A- und B-DNS-Duplexen.** – Die mit qualitativen konformationsanalytischen Kriterien gewonnene Einsicht, dass das idealisierte Modell eines Homo-DNS-Einzelstrangs in seiner geringstgespannten und zugleich paarungsfähigen Konformation linear ist, ein entsprechend

<sup>20)</sup> Prof. K. Müller (F. Hoffmann-La Roche AG, Basel) hat seinerzeit für den Konstitutionstyp eines Homo-DNS-Einzelstrangs ein orientierendes 'molecular modelling' durchgeführt (Relaxation der Bindungs- und Torsionswinkel der idealisierten Konformation) und dabei gefunden, dass die Helix des Homo-DNS-Einzelstrangs rechtshändig ist und eine Ganghöhe von ca. 120–130 Å aufweisen dürfte (ungefähr das Vierfache einer B-DNS-Doppelhelix).



idealisiertes Modell des DNS-Einzelstrangs dies jedoch schon infolge der Fünfgliedrigkeit seines Deoxyribofuranose-Rings nicht sein kann, sondern (rechtshändig) helical sein müsste, hat uns veranlasst, den Beziehungen zwischen dem Konformationstyp eines Homo-DNS-Einzelstrangs und den Konformationen real existierender DNS-Stränge, wie sie in *doppelsträngigen* Oligo-2'-deoxynucleotiden des A- und B-Typs experimentell beobachtet werden, aus geometrischer Sicht näher nachzugehen. Vorerst behandeln wir die Frage, wie die Helix-Parameter einer bezüglich aller anderen Torsionswinkel idealisierten Rückgrat-Konformation vom Wert des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$  abhängen und wie sich die Achsen von Rückgrat-Helices zu den Abweichungen der Torsionswinkel von deren 'Linearwerten' verhalten. Anschliessend erörtern wir eine Möglichkeit, wie die für Oligo-2'-deoxyribonucleotide des A- und B-DNS-Typs röntgenographisch beobachteten Rückgrat-Konformationstypen aus der Sicht des linearen Homo-DNS-Modells interpretiert werden können, d. h. wie die idealisiert lineare Rückgrat-Konformation als Bezugskonformation für eine qualitative Herleitung und Rationalisierung der bei natürlichen Nucleinsäure-Duplexen vorkommenden Rückgrat-Konformationen dienen kann.

Die Fig. 10–12 illustrieren ein *geometrisches* Experiment, in welchem ein *aliphatisches* Rückgrat-Element mit der idealisierten Konformation  $\alpha = -60^\circ$ ,  $\beta = 180^\circ$ ,  $\sigma = 60^\circ$ ,  $\delta = 60^\circ$ ,  $\epsilon = 180^\circ$  und  $\zeta = -60^\circ$  ( $-sc, t, +sc, +sc, t, -sc$ ) und Standardbindungsängen sowie idealisiert tetraedrischen Bindungswinkeln *ohne Beengung durch einen Ring* vorgegeben wird. Man oligomerisiert diese Einheit und lässt dabei sämtliche Torsionswinkel unverändert, mit Ausnahme des Winkels  $\delta^{21}$ , den man (repetitiv) im Bereich von  $60$ – $180^\circ$



Verwendete Standardbindungsängen:

C–C 1,53 Å

C–O 1,45 Å

P–O 1,60 Å

alle Bindungswinkel tetraedrisch

Fig. 10. Geometrisches Experiment zur Bedeutung des Torsionswinkels  $\delta^*$ )

\*) Geometrical experiment in which an aliphatic oligonucleotide backbone is assigned standard bond lengths, tetrahedral bond angles, and the idealized conformation  $-sc, ap, +sc, ap, -sc$  with no constraint due to a ring. The torsion angle  $\delta$  is varied through the range  $60$ – $180^\circ$ , while the rest of the array is left unchanged.

<sup>21)</sup> Infolge der konstitutionellen und konformationellen Symmetrie des hier betrachteten Rückgrat-Elements würden die aus der Variation des Torsionswinkels  $\delta$  erhaltenen Daten analog für den Torsionswinkel  $\gamma$  gelten.

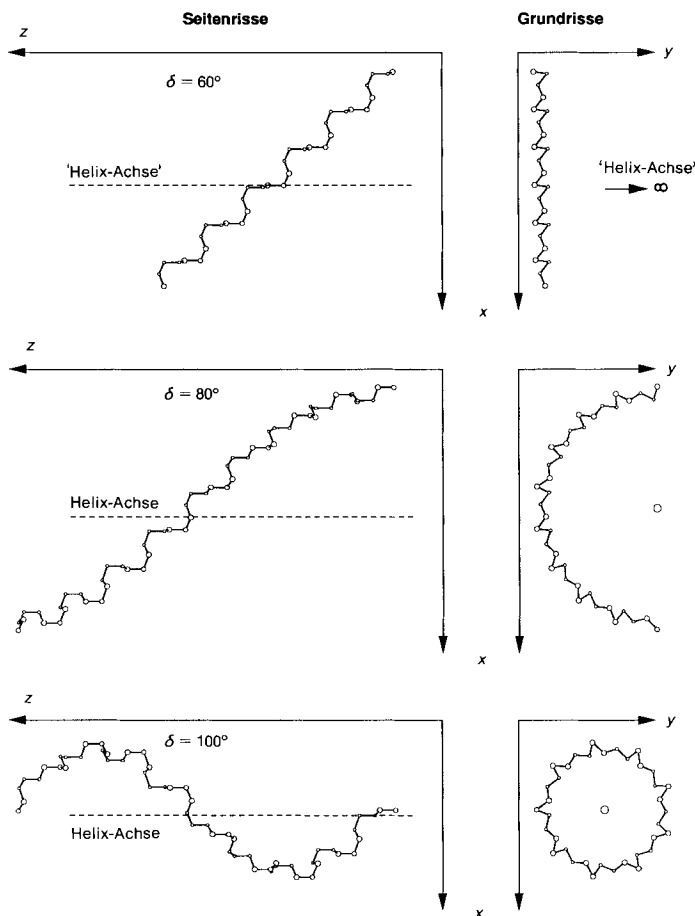


Fig. 11. Geometrisches Experiment zur Bedeutung des Torsionswinkels  $\delta$ : Entstehung von (idealisiert) helicalen Rückgrat-Konformationen aus einer (idealisiert) linearen Rückgrat-Konformation bei Abweichung des Torsionswinkels  $\delta$  vom Linearwert  $\delta = 60^\circ$ \*)

- \*) Top and side views of right-handed helices emerging from a linear strand ( $\delta = 60^\circ$ ) as  $\delta$  is increased. The linear strand is to be visualized as climbing in the  $xz$  plane at an angle of  $62^\circ$  (see side view). For the top views, the  $\delta$  rotation axis is perpendicular to the  $xy$  plane, as are the helical axes. With increasing  $\delta$  these axes approach the  $xz$  plane leftwards from infinity. The planes of successive backbone elements, rising along the  $z$  axis, are  $4.17 \text{ \AA}$  apart, independent of the value of  $\delta$ , each backbone element maintaining its level independent of the diameter of the helix, which shrinks as  $\delta$  increases. The number  $n$  of backbone elements per helix turn is equal to  $360^\circ/(\delta - 60^\circ)$ ; the helix pitch (the rise per  $360^\circ$  turn) is  $n \cdot 4.17 \text{ \AA}$ . Fig. 11 shows the stages  $\delta = 60^\circ$  (linear strand),  $\delta = 80^\circ$  (helix diameter ca.  $24 \text{ \AA}$ ), and  $\delta = 100^\circ$  (helix diameter ca.  $13 \text{ \AA}$ ).

variiert (Fig. 10). Legt man die diesem Torsionswinkel zugehörige Bindung senkrecht zur Betrachtungsebene, so rotieren bei Änderung des Torsionswinkels  $\delta$  alle übrigen Rückgrat-Atome in parallel zur Betrachtungsebene liegenden Ebenen, wobei die Ebenen korrespondierender Atome aufeinanderfolgender Rückgrat-Elemente unabhängig vom Wert des Winkels  $\delta$  um  $4,17 \text{ \AA}$  auseinanderliegen. Die sukzessive Veränderung von  $\delta$  nach

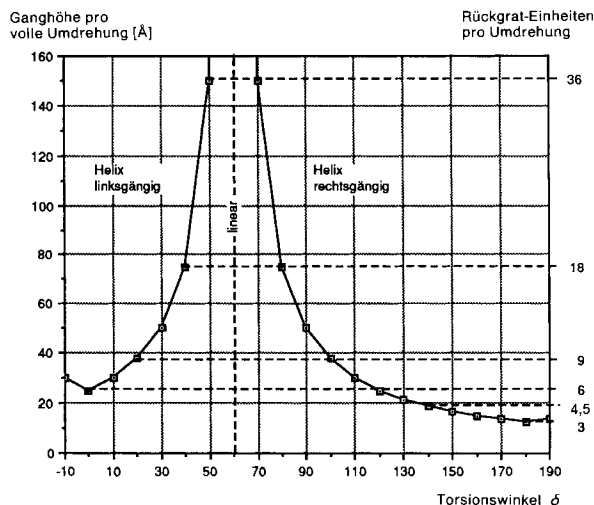


Fig. 12. Geometrisches Experiment zur Bedeutung des Torsionswinkels  $\delta$ : Helix-Parameter von Einzelstrang-Rückgrat-Helices in Abhängigkeit vom Torsionswinkel  $\delta$ \*)

- \*) Parameters of idealized helices as a function of the torsion angle  $\delta$  for the entire range  $\delta = 0^\circ - 180^\circ$ . Values of  $\delta$  larger than  $60^\circ$  (clockwise) generate right-handed helices; values smaller than  $60^\circ$ , left-handed helices. Whereas, for high values of  $\delta$ , this purely geometrical exercise produces helices that are physically prohibited, the parameters of the helix having  $\delta = 100^\circ$  (9 monomer units per turn, pitch 38 Å, diameter ca. 13 Å; see the Table) are found to be similar to the helix parameters observed for single strands in duplexes of A-DNA (see Fig. 13 for a visual comparison). The value of  $100^\circ$  for the torsion angle  $\delta$  happens to be the average value of the X-ray crystallographically determined  $\delta$  values of all of the oligonucleotide units dealt within the histograms of Fig. 15. The analysis illuminates the specific role of the five-membered ring in generating a helical conformation.

grösseren Werten (Uhrzeigersinn) erzeugt rechtsdrehende Helices, deren Achsen sich aus unendlicher Entfernung sukzessive nähern und parallel zur Bindungsachse des Torsionswinkels  $\delta$  stehen. Die Zahl der Rückgrat-Einheiten pro volle Helix-Umdrehung beträgt  $n = 360: (\delta - 60)$  und die Ganghöhe einer vollen Umdrehung (Helix-pitch)  $n \cdot 4,17$  Å. Fig. 11 illustriert dies im Grundriss und Seitenriss ( $\delta$ -Bindungsachse sowie Helix-Achse senkrecht zur Grundriss-Ebene bzw. parallel zur Seitenriss-Ebene) für die drei Werte  $\delta = 60^\circ$  (linearer Strang, 'Helix-Durchmesser' unendlich),  $\delta = 80^\circ$  (Helix-Durchmesser ca. 24 Å) und  $\delta = 100^\circ$  (Helix-Durchmesser ca. 13 Å). Die Übersicht über die Helix-Parameter in Abhängigkeit zum gesamten Torsionswinkelbereich  $\delta = 0^\circ \rightarrow 180^\circ$  geben Fig. 12 und die Tabelle. Das rein geometrische Experiment nimmt letztlich auf die molekulare Realität keinerlei Rücksicht und erzeugt ausgehend vom linearen Strang-Modell mit  $\delta = 60^\circ$  bei zunehmend steigenden (bzw. fallenden)  $\delta$ -Werten Helix-Parameter, die realen Molekülen aus sterischen Gründen verwehrt sein würden. Indessen ist festhaltenswert, dass ein idealisiert linearer Rückgrat-Einzelstrangs durch alleinige Einstellung des Torsionswinkels  $\delta$  auf den Wert von  $100^\circ$  eine Helix bilden, deren Parameter (Ganghöhe ca. 38 Å, 9 Monomer-Elemente pro volle Umdrehung, Durchmesser ca. 13 Å) den Helix-Parametern ähnlich sind, die man für die Oligonucleotid-Stränge in Duplexen des A-

Tab. Geometrische Daten der Modell-Helices (vgl. Fig. 12)

$\sigma$ [°]	Rückgrat-Einheiten pro Umdrehung	Ganghöhe [Å] pro volle Umdrehung	Helix-Durchmesser [Å] <sup>a)</sup>
60	linear	$\infty$	$\infty$
70	36	150,2	45,8
80	18	75,1	24,2
90	12	50,1	17,0
100	9	37,6	13,4
110	7,2	30,1	11,3
120	6	25,0	9,8
130	5,14..	$\sim 21$	8,7
140	4,5	18,8	7,9
150	4	16,7	7,3
160	3,6	15,0	6,7
170	3,27..	$\sim 13,6$	6,3

a) Durchmesser eines Kreises durch die Projektion der P-Atome entlang der Helix-Achse

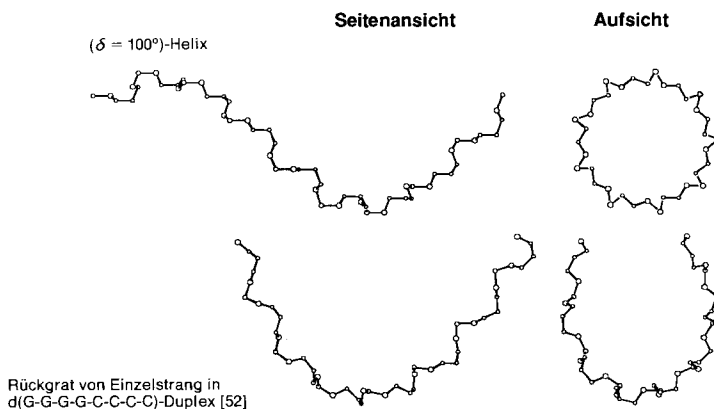


Fig. 13. Geometrisches Experiment zur Bedeutung des Torsionswinkels  $\delta$ : Vergleich der (idealisierten)  $(\delta = 100^\circ)$ -Helix mit der (realen) Rückgrat-Konformation eines A-Typ-Oligonucleotid-Duplexes\*)

\*) Comparison of the helical shape of the idealized helix having  $\delta = 100^\circ$  with the experimentally observed shape of the backbone strand of the A-DNA oligonucleotide d(G-G-G-G-C-C-C-C)<sub>2</sub> [52].

DNS-Typs beobachtet. In Fig. 13 ist diese idealisierte  $\delta = 100^\circ$ -Einzelstrang-Helix der aus einer Röntgenstruktur-Analyse bekannten Konformation des A-Typ-DNS-Octanucleotid-Duplexes d(G-G-G-G-C-C-C-C)<sub>2</sub> [52] in Auf- und Seitenansicht gegenübergestellt. Der Durchschnittswert für den Torsionswinkel  $\delta$  in den Nucleotid-Einheiten dieses A-DNA-Octanucleotid-Duplexes beträgt  $80,0^\circ$  (ohne End-Gruppen). Sicherlich zum Teil, aber wohl keineswegs völlig zufällig, entspricht der Wert  $\delta = 100^\circ$  gerade ungefähr dem Durchschnitt der röntgenographisch ermittelten  $\delta$ -Werte der im einschlägigen Histogramm der Fig. 15 (s. unten) behandelten Gruppen von A- und B-Typ DNS-Oligonucleotiden.

Die am Beispiel des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$  gegebene Illustration des Zusammenhangs zwischen linearer und helicaler Rückgrat-Konformation kann offen-

sichtlich verallgemeinert werden, indem Helices mit anderen Achsenrichtungen auf analoge Art durch Rotation um die restlichen Bindungsachsen des linearen Rückgrat-Elements erzeugt werden, vorab um die Bindungsachsen, welche den Torsionswinkeln  $\beta, \gamma$  und  $\varepsilon$  entsprechen. Die Achsen der Torsionswinkel  $\alpha$  und  $\zeta$  stehen – solange  $\varepsilon$  und  $\beta$  ihren Linearwert von  $180^\circ$  beibehalten – parallel zu den Achsen  $\gamma$  bzw.  $\delta$ , dementsprechend auch die Achsen von Helices, welche durch Drehung um die zugehörigen Bindungsachsen zustande kommen. Von Interesse ist dieser Sachverhalt u. a. deshalb, weil – wie weiter unten noch auszuführen sein wird – z. B. eine rechtsgängige Drehung um die endocyclische  $\delta$ -Bindungsachse durch eine entsprechend linksgängige Drehung um die  $\zeta$ -Bindungsachse (bei Beibehaltung des Linearwerts für  $\varepsilon$ ) kompensiert werden kann, was die Erhaltung der Strang-Linearität – bzw. im Falle eines helicalen Strangs – Beibehaltung der Helix-Parameter und Ausrichtung der Helix-Achse bedeutet<sup>22)</sup>.

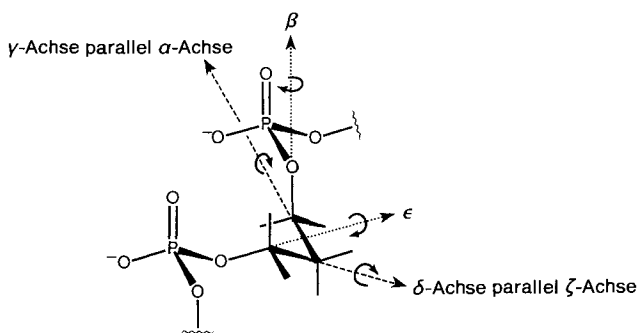


Fig. 14. Analog wie für  $\delta$  wären Rückgrat-Helices auch durch Abweichungen der anderen Rückgrat-Torsionswinkel von ihren Linearwerten herleitbar.\*)

\*) What has been said about the derivation of helices as a function of torsion angle  $\delta$  is applicable to the other five torsion angles as well. The four bond axes  $\alpha, \beta, \delta,$  and  $\varepsilon$  ( $\gamma$  parallel to  $\alpha$ ;  $\zeta$  parallel to  $\delta$ ) represent four directions in space which define a square pyramid whose apical angle is the difference between  $180^\circ$  and the tetrahedral angle.

Die Auswirkung (bzw. Funktion) des Anbaus einer Ringstruktur an eine der Bindungsachsen des aliphatischen Linear-Rückgrat-Modells der Fig. 10 ist die Einschränkung der Torsionswinkel-Werte der betroffenen Bindung auf einen bestimmten Bereich. Dadurch, dass bei den natürlichen Nucleinsäuren ein fünfgliedriger Furanose-Ring angebaut ist, wird der ansonsten durch den Trend zur Staffelung auf  $60^\circ$  tendierende Torsionswinkel  $\delta$  als nunmehr endocyclischer Drehwinkel auf einen Bereich festgelegt, der – *ceteris paribus* – eine (bei D-Konfiguration der Ribose rechtsgängige) helicale Konformation der Rückgrat-Kette erzeugt. Als sozusagen geometrischer Garant dergestaltiger Rückgrat-Helizität kann ein fünfgliedriger (gegebenenfalls auch ein vier- und dreigliedri-

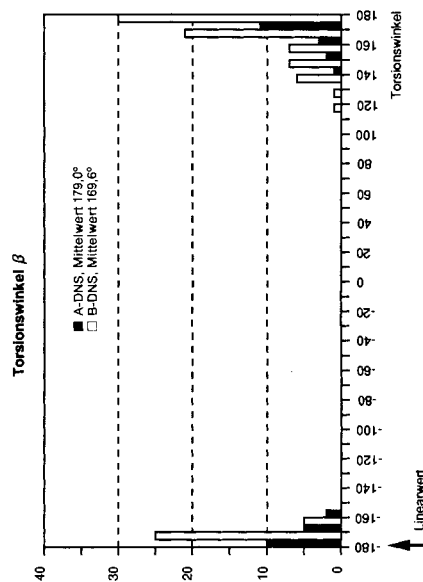
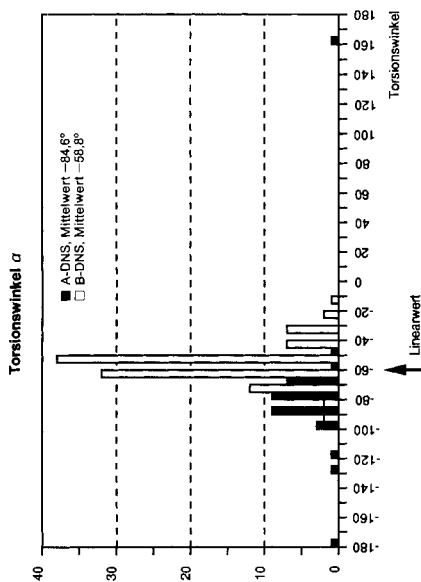
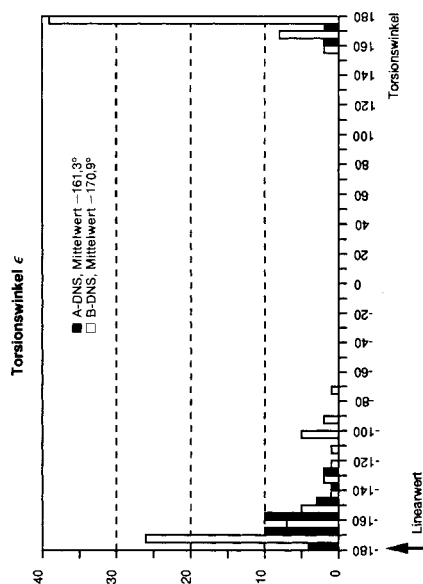
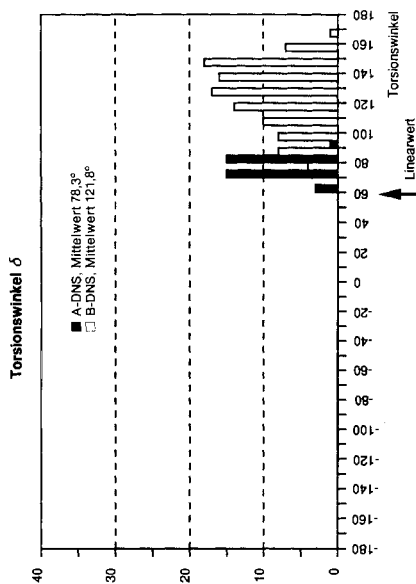
<sup>22)</sup> Der Bezug von Helix-Parametern auf die Homo-DNS-Linearwerte der Torsionswinkel des Oligonucleotid-Rückgrats wirft geometrische Fragen über den Zusammenhang zwischen räumlicher Ausrichtung von Oligonucleotid-Helix-Achsen und Rückgrat-Torsionswinkeln auf, auf welche wir zu einem späteren Zeitpunkt zurückzukommen hoffen.

ger), nicht aber ein sechsgliedriger Ring dienen. *Die dem Torsionswinkel  $\delta$  entsprechende endocyclische Bindung des fünfgliedrigen Rings des Zucker-Bausteins erscheint als eine entscheidende formbildende Schaltstelle der natürlichen Oligonucleotid-Struktur.*

Wie im vorangehenden Kapitel erwähnt, ist der mit Hilfe von vier konformationsanalytischen Kriterien aus  $2 \cdot 3^5$  Konformationen selektionierte lineare Rückgrat-Konformationstyp eines Homo-DNS-Einzelstrangs (vgl. Fig. 8) identisch mit dem Konformationstyp<sup>14)</sup>, der in der natürlichen Reihe – mit entsprechenden entidealisierten Torsionswinkel-Abweichungen – in A-DNS-Duplexen vorkommt. In Fig. 15 ist diese bemerkenswerte Entsprechung durch Daten aus Röntgenstrukturanalysen<sup>23)</sup> näher belegt. Die sechs Histogramme zeigen die Häufigkeit der Torsionswinkel-Werte, wie sie an insgesamt 34 bzw. 103 Oligo-2'-deoxyribonucleotid-Einheiten in Duplexen des A- bzw. B-Typs beobachtet wurden<sup>24)</sup>. Die jeweiligen Durchschnittswerte und damit die durchschnittlichen Torsionswinkel-Abweichungen von den Bezugswerten der linearen Konformation sind ebenfalls aufgeführt<sup>23)</sup>. *Gemäss den sechs Histogrammen fallen die Torsionswinkel-Werte des linearen Homo-DNS-Modells alle innerhalb des jeweiligen Torsionswinkel-Streubereichs der DNS-Oligonucleotide, mit der wichtigen (und erwarteten) Ausnahme des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$ .* Oligonucleotid-Duplex-Strukturen des A- und B-DNS-Typs unterscheiden sich im Ausmass dieser Abweichung; in der Tat ist aus der Sicht des Homo-DNS-Modells der Unterschied in der Abweichung  $\Delta\delta$  des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$  vom Bezugswert  $60^\circ$  (Linearwert) das Charakteristikum des Rückgrat-Konformationsunterschieds zwischen A- und B-DNS; diese Art der Differenzierung geht der üblichen Art parallel, welche sich auf die Konformation des Furanose-Rings (C(3')-endo ( $^3E$ ) und C(2')-endo ( $^2E$ )) und damit implizite ebenfalls auf den Torsionswinkel  $\delta$  bezieht [20]. Der Durchschnittswert aller Abweichungen  $\Delta\delta$  vom Linearwert  $60^\circ$  beträgt für die A-DNS-Strukturen  $+18^\circ$ , für die B-DNS-Strukturen  $+62^\circ$  (Fig. 15). Mit diesem charakteristisch grossen Unterschied  $\Delta\Delta\delta$  zwischen A- und B-DNS einher geht in *inverser* Richtung ein solcher beim Torsionswinkel  $\zeta$  ( $\Delta\zeta = -7^\circ$  bzw.  $-46^\circ$ ). Dies ist deshalb von Bedeutung, weil im Bezugsmodell die Drehachsen der Torsionswinkel  $\delta$  und  $\zeta$  parallel liegen, d. h. Helices, die aus entsprechenden Drehungen hervorgehen, bei gleichen Drehwerten identische Helix-Achsen und gleiche Helix-Parameter besitzen (vgl. Fig. 14). Bei der B-DNS wird der hohe *rechtsdrehende* Helicalisierungsbeitrag der grossen  $\delta$ -Abweichung (bezüglich dem Linearwert  $\delta = 60^\circ$ ) im Uhrzeigersinn durch eine entsprechend grosse  $\zeta$ -Abweichung im Gegenuhrzeigersinn (bezüglich des Linearwerts  $\zeta = -60^\circ$ ) soweit kompensiert, dass der (in der Summe nach wie vor rechtsdrehende) Helicalisierungsbeitrag der beiden Torsionswinkelabweichungen einen ähnlichen Wert erreicht, wie er bei der A-DNS aufweist, nämlich  $\Delta(\delta + \zeta) = +11^\circ$  für B-DNS, und  $+16^\circ$  für A-DNS (aus Durchschnittswerten). Die Argumentation setzt voraus, dass die  $\varepsilon$ -Werte in der Nähe ihres Linearwerts von  $180^\circ$  bleiben; ihr Durchschnitt liegt bei  $-171^\circ$  bei den B-Duplexen und bei  $-161^\circ$  bei den A-Duplexen. Die durchschnittlichen Abweichungssummen  $\Delta(\gamma + \alpha)$  für die Torsionswinkel  $\gamma$  und  $\alpha$  (deren Achsen im linearen Bezugsmodell  $C_2$ -

<sup>23)</sup> Die in dieser Übersicht verwendeten Strukturen stammen aus der *Brookhaven Protein Data Bank (BPDB)* [54]. *BPDB*-Codes der Strukturen: 1ANA, 2ANA, 3ANA, 9DNA (A-DNS-Typ), 1BNA, 2BNA, 3BNA, 4BNA, 7BNA (B-DNS-Typ), Endnucleotid-Einheiten ('dangling ends') nicht berücksichtigt. Bei den verwendeten Strukturen handelt es sich um Oligonucleotid-Duplexe ohne zusätzliche komplexierte Komponenten.

<sup>24)</sup> Vgl. analoge Übersichten über die Streuung der Torsionswinkel-Werte  $\alpha$  bis  $\zeta$  röntgenographisch bestimmter Oligonucleotide des DNS- und RNS-Typs in [53] [64] und [20] (S. 89).



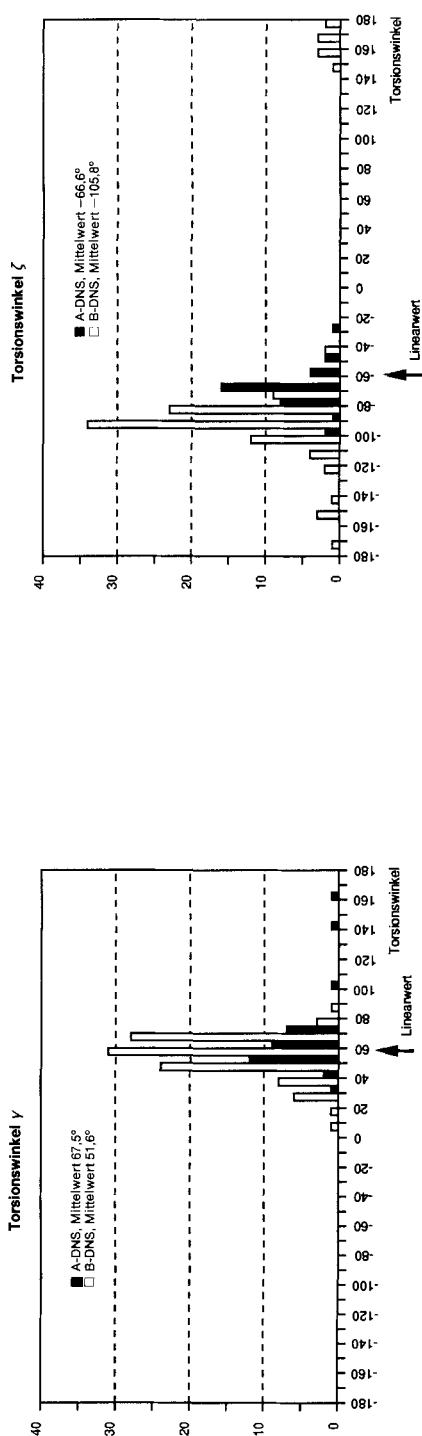


Fig. 15. Vergleich zwischen den Linearwerten der Rückgrat-Torsionswinkel des (idealisierten) Homo-DNS-Modells und den in DNS-Oligonucleotid-Duplexen des A- und B-Typs röntgenanalytisch beobachteten Rückgrat-Torsionswinkelwerten

\*) Histograms depicting the abundances of torsion-angle values observed in 34 and 103 backbone units of A-DNA and B-DNA oligonucleotide duplexes, respectively, taken from the *Brookhaven Protein Data Bank* (dangling ends omitted). The torsion-angle values of the idealized homo-DNA backbone model in each case fall within the scatter of the values for the DNA oligonucleotide structures, with the expected exception of the endocyclic torsion angle  $\delta$ . With the linear homo-DNA model as a reference structure, the A and B types of DNA structures are characterized by the magnitude of deviation of their endocyclic torsion angle  $\delta$  from the linearity value of 60° (average values of deviation: +18° for A-DNA vs. +62° for B-DNA). Note that this difference in deviation from the reference value appear to be largely compensated by deviations of opposite sign for the angle  $\zeta$  ( $\Delta\zeta = -7^\circ$  for A-DNA vs.  $-46^\circ$  for B-DNA) (rotational axes for  $\delta$  and  $\zeta$  are parallel in the reference system and largely remain so in the B-DNA duplexes; Fig. 14). The similarity of the sums of the two deviations ( $\Delta\delta + \Delta\zeta = +11^\circ$  for A-DNA vs.  $+16^\circ$  for B-DNA) is an expression of the similarity of the helical parameters in A- and B-DNA.



symmetrisch zu den Achsen von  $\delta$  und  $\zeta$  liegen) betragen  $-7^\circ$  für die B-, und  $-14^\circ$  für die A-Duplexe; dabei sind die in diesem Zusammenhang relevanten (durchschnittlichen) Abweichungen des Torsionswinkels  $\beta$  vom Linearwert  $180^\circ$  für den B-Typ  $-1^\circ$ , und für den A-Typ  $-10^\circ$ . Diese (sehr grobe) Analyse deutet an, dass die Helix-Achsen von Duplexen des A- und B-Typs eine ähnliche Ausrichtung relativ zur (fiktiven) Rückgrat-Achse des linearen Bezugsmodells aufweisen; eine Eigenschaft, die im Zusammenhang mit der Hybridisierbarkeit beider Helix-Typen Interesse erheischt. Es erscheint angebracht, hier daran zu erinnern, dass RNS-Duplexe Helices des A-Typs bilden [20], und dass die Ähnlichkeit der Helix-Parameter von B-DNS und RNS biologisch bedeutungsvoll ist.

Die Abweichungen der Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\varepsilon$  und  $\zeta$  von ihren Linearwerten beim Vergleich der idealisierten Homo-DNS-Konformation mit den Konformationstypen der A- und B-DNS müssen im Zusammenhang mit der Tatsache gesehen werden, dass im idealisierten Homo-DNS-Modell der Konstitutionsbezirk der sekundär gebundenen Phosphoester-Gruppe in Stellung C(4') Sitz obligater Spannung ist (1,5-Repulsion, vgl. Kap. 3). In der Realität weichen Phosphoester-Strukturbezirke dieser Spannung aus; sie tun dies u. a. durch partielle Entstaffelung betroffener Bindungen. Die Torsionswinkel-Histogramme von A- und B-DNS-Oligonucleotid-Strukturen (Fig. 15) zeigen in der Tat, dass es (abgesehen von  $\delta$ ) die Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\varepsilon$  und  $\zeta$  sind, welche im Durchschnitt am deutlichsten von den Bezugswerten der idealisierten Homo-DNS-Konformation abweichen. Fig. 16 illustriert dies. Hiezu sind drei Rückgrat-Einheiten von Oligonucleotid-Duplexen mit repräsentativen Werten des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$  herausgegriffen, nämlich ein typisches A-DNS-Strukturelement mit  $\delta = 78,7^\circ$  (C(3')-endo), sowie zwei B-DNS-Duplex-Strukturelemente, deren Torsionswinkel  $\delta$  aus Bereichen stammen, die gemäss Histogramm der Fig. 15 bei B-DNS besonders häufig vorkommen:  $\delta$  von  $121,9^\circ$  (C(1')-exo<sup>25</sup>) und  $140,4^\circ$  (C(2')-endo<sup>25</sup>). Fig. 16a zeigt die dem idealisierten Homo-DNS-Modell eigenen (H···H)- und (H···O)-Distanzen, welche im Konstitutionsbereich der sekundären Bindungsstelle der Phosphodiester-Gruppierung bei idealer Staffellung als Folge deutlicher Unterschreitungen von *van-der-Waals*-Summen zu Spannung Anlass geben. Fig. 16b–d zeigen die entsprechenden Distanzen in den drei herausgegriffenen DNS-Strukturen und veranschaulichen, wie die Drehrichtungen der gegenüber dem Homo-DNS-Modell eingetretenen Veränderungen der Torsionswinkel  $\varepsilon$ ,  $\zeta$  und  $\alpha$  dem Abbau der in Fig. 16a angedeuteten sterischen Repulsionen entsprechen.

Wie schon angesprochen und durch Vergleich der Fig. 16a–d deutlich zutage tretend, ist die Verwandtschaft zwischen dem Konformationstyp des Homo-DNS-Einzelstrangs und den Rückgrat-Konformationstypen der natürlichen DNS-Duplexe für den A-DNS-Typ am augenfälligsten; die Entsprechung betrifft den Konstitutionsbezirk des Furanose-(bzw. Pyranose)-Rings, welcher die beiden Rückgrat-Substituenten trägt. Die für die A-DNS typische (C(3')-endo)-Konformation [20] des Furanose-Rings entspricht dem Pyranose-Sessel des Homo-DNS-Modells. Formal gelangt man vom letzteren zum Modell des A-DNS-Furanose-Rings dadurch, dass man die Positionen C(2') und O–C(5') des Homo-DNS-Pyranose-Sessels unter Ausstossen von C(1') kurzschliesst, die Nucleo-

<sup>25</sup>) Vgl. die Struktur des *Dickersonschen* Dodecamers d(C-G-C-G-A-A-T-T-C-G-C-G) [55] und [20] (S. 266): dieser erste röntgenographisch aufgeklärte Oligonucleotid-Duplex des B-Typs weist von insgesamt 24 Furanose-Ringen deren neun in der (C(2')-endo)- und deren elf in der (C(1')-exo)-Konformation auf.

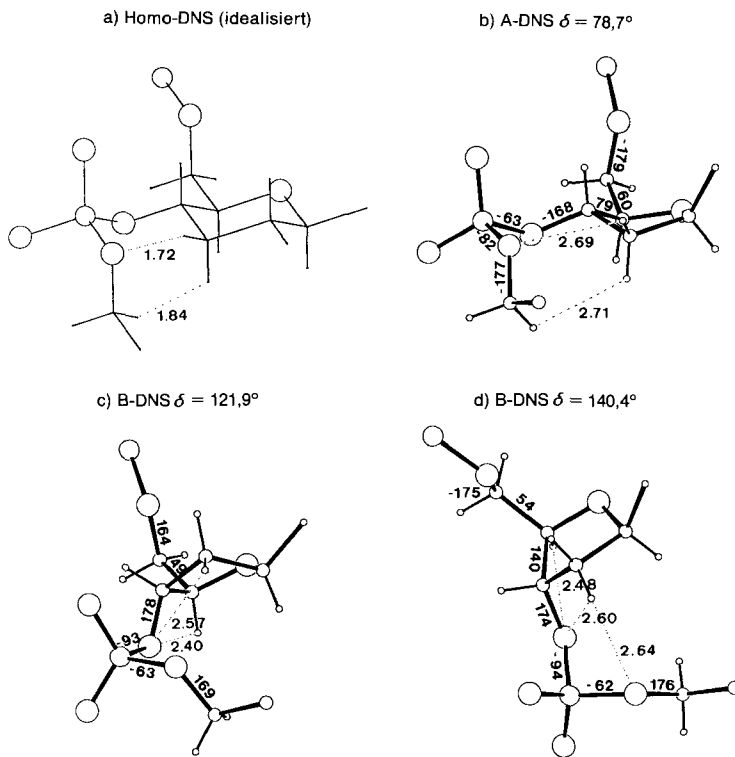
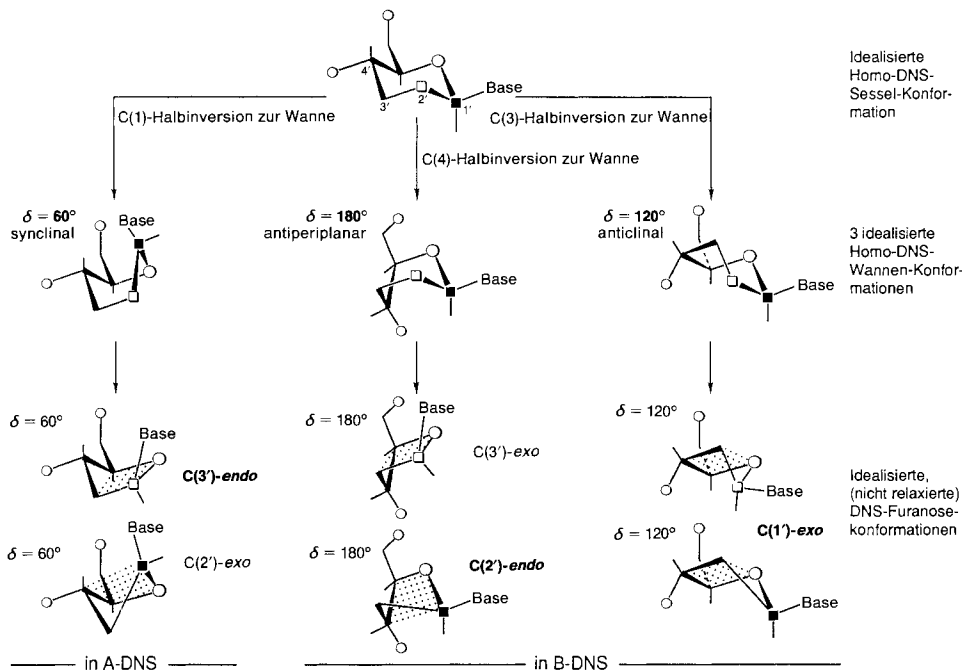


Fig. 16. Vergleich der Rückgrat-Einheit des (idealisierten) Homo-DNS-Modells mit Rückgrat-Einheiten ausgewählter, röntgenanalytisch untersuchter DNS-Oligonucleotid-Duplexe\*)

\*) Juxtaposition of the idealized linear homo-DNA model with three representative backbone conformations taken from DNA duplex X-ray structures: a) Linear homo-DNA model. b) A-DNA duplex (C(3')-endo-conformation,  $\delta = +78.7^\circ$ ). c) B-DNA duplex (C(1')-exo-conformation,  $\delta = +121.9^\circ$ ). d) B-DNA duplex (C(2')-endo-conformation,  $\delta = +140.4^\circ$ ). Note the close conformational similarity between the homo-DNA model and the A-DNA conformation, as well as the relaxed H···H and O···H distances in the A-DNA as opposed to the (idealized) homo-DNA conformation.

base in der  $\beta$ -Stellung an die Position C(2') disloziert (Pyranose-Numerierung) und schliesslich das Modell zwecks Abbau sowohl der Ringspannung (durch Veränderung u. a. des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$ ) als auch der 1,5-Repulsion (durch Veränderung der Torsionswinkel  $\varepsilon$ ,  $\zeta$  und  $\alpha$ ) relaxieren lässt. Die Anpassung des Winkels  $\delta$  an die Fünfgliedrigkeit des Rings (Ausflachung der Envelope-Konformation gegenüber dem Pyranose-Sessel) ist bei D-Konfiguration des Zucker-Bausteins immer eine Rotation der endocyclischen Bindung nach positiveren  $\delta$ -Werten (vgl. auch Fig. 9), und für die Winkel  $\varepsilon$ ,  $\zeta$  und  $\alpha$  gilt, dass sie bei den meisten der strukturell bekannten A-DNS-Fragmenten einseitig nach positiveren ( $\varepsilon$ ) bzw. negativeren ( $\zeta$  und  $\alpha$ ) Werten verschoben sind. Diese Veränderungen können – wie bereits erwähnt – spezifisch einer Ausweitung der kritischen Abstände im Bereiche der sekundären Bindungsstelle der Phosphodiester-Gruppierung und damit dem Abbau der dort im idealisierten Modell vorkommenden Repulsionen dienend interpretiert werden.

Schema 5. Formale Metamorphose des Pyranose-Ringbezirks des Homo-DNS-Modells in (idealisierte) Modelle des Furanose-Ringbezirks von A- und B-DNS\*)



\*) Metamorphosis of models. The pyranose chair in the idealized homo-DNA model transforms into the idealized C(3')-endo-furanose conformation of A-DNA, if the C(1')-atom (pyranose numbering) is extruded and the base is reset. On the other hand, the conformational mobility of furanose rings in DNA is reminiscent of the mobility which would be expected for a homo-DNA model with pyranose rings in boat and twist conformations. *Schema 5* outlines the formal relationships among an ensemble of pyranose boat conformations and the family of (idealized) furanose conformations corresponding to A-DNA (C(3')-endo ( ${}^3E$ ),  $\delta = 60^\circ$ ) and B-DNA (C(1')-exo ( ${}_1E$ ),  $\delta = 120^\circ$  and C(2')-endo ( ${}^2E$ ),  $\delta = 180^\circ$ , see *Footnote 25*).

Der im Hinblick sowohl auf die konformationelle Beweglichkeit des Furanose-Fünfrings als auch auf die Herleitung von B-DNS-Varianten konsequente Weg der Ableitung der A-DNS-C(3')-endo-Furanose-Konformation aus dem Homo-DNS-Modell ist der in *Schema 5* wiedergegebene: er führt zuerst durch Sessel-Halbinversionen C(1') zur entsprechenden Wanne und von dort durch Extrusion von C(1') (unter Verschiebung der Nucleobase) wie oben zur (noch nicht relaxierten) C(3')-endo-Konformation der Furanose, oder durch Extrusion von C(2') (Pyranose-Numerierung ohne Verschiebung der Nucleobase) zur C(2')-exo-Konformation des Furanose-Rings. Konformationelle Relaxation führt zu jenen zwei Furanose-Konformationen (C(3')-endo und C(2')-exo), die *via* die C(2')-exo-C(3')-endo-Twist-Konformation beinahe barriereelos ineinander übergehen [56] [20] (S. 60).

Für die formale Herleitung der für B-DNS-Duplexe charakteristischen Furanose-Konformationstypen C(2')-endo und C(1')-exo<sup>25</sup> aus dem idealisierten Homo-DNS-Modell kann man analog wie bei der Herleitung der A-DNS-Furanose-Konformation (Variante *via* die Wanne) vorgehen, mit dem Unterschied, dass man durch alternative Möglichkeiten der Halbinversion des Homo-DNS-Sessels alternative Homo-DNS-Wannen erzeugt, die durch formalen Ausschluss von C(1')- oder C(2') entsprechend alternative (noch idealisierte) Furanose-Konformationen ergeben, die dann noch konformationell zu entspannen sind. Die drei ausgewählten Wannen unterscheiden sich durch ihren endocyclischen Torsionswinkel  $\delta$ , dieser nimmt die Werte  $60^\circ$ ,  $120^\circ$  und  $180^\circ$  ein, was einer *synclinalen*, *anticlinalen* und *antiperiplanaren* Anordnung der vicinalen Rückgrat-Substituenten in A- und B-DNS-

Modellen entspricht. Die solcherart aus dem idealisierten Homo-DNS-Modell hergeleiteten (noch idealisierten) A- und B-DNS-Modelle sind in Fig. 17 den Konformationsbildern der drei repräsentativen DNS-Oligonucleotid-Realstrukturen (Fig. 16) gegenübergestellt.

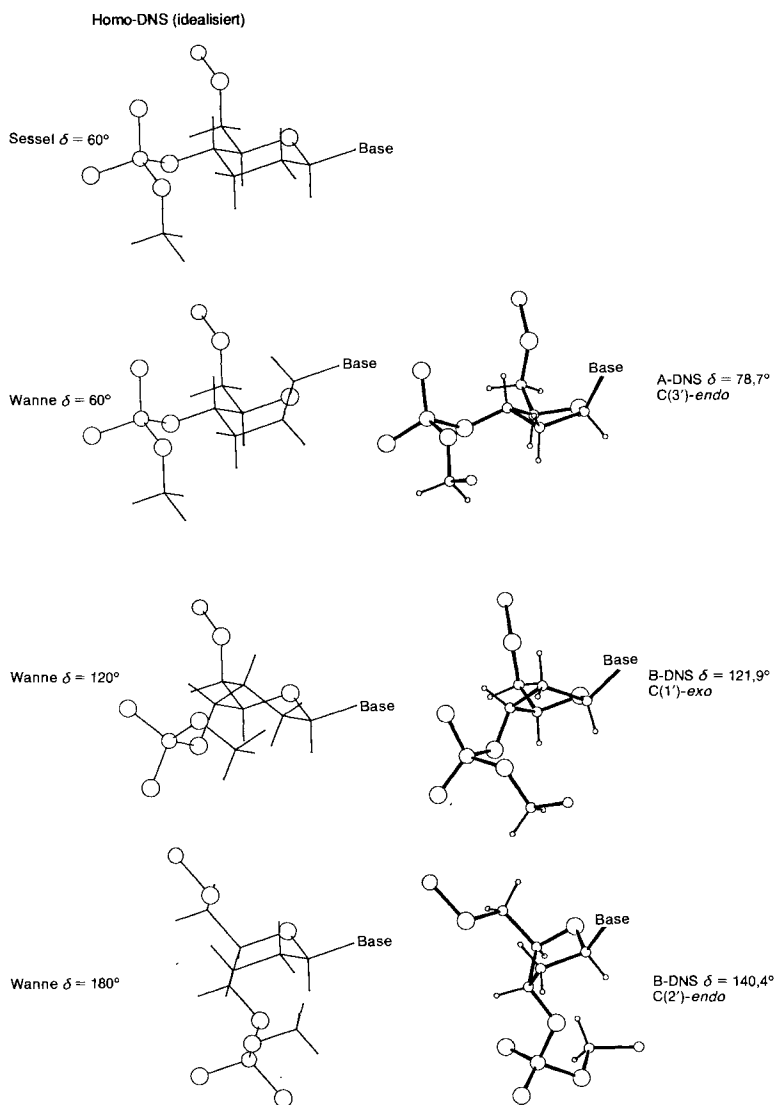


Fig. 17. Inversion des Pyranose-Sessels des Homo-DNS-Modells in Pyranose-Wannen mit  $\delta = 60^\circ$ ,  $120^\circ$  und  $180^\circ$  sowie deren Gegenüberstellung mit typischen Rückgrat-Einheiten von A- und B-DNS-Duplexen\*)

\*) Ensemble of idealized pyranose boat conformations juxtaposed for visual comparison with the three previously selected oligonucleotide units of A- and B-DNA type, having  $\delta$  torsion angles of  $+78.7^\circ$ ,  $+121.9^\circ$ , and  $+140.4^\circ$  (cf. Fig. 16).

Zusammenfassend sind unsere Folgerungen aus dem in *Fig. 16* und *17* und *Schema 5* erläuterten Zusammenhang zwischen dem idealisierten Homo-DNS-Einzelstrang-Modell und den in natürlichen DNS-Duplexen des A- und B-Typs beobachteten Rückgrat-Konformationen die folgenden: Innerhalb des Kontinuums der DNS-Furanose-Konformationen entspricht der (C(3')-endo)-Konformationstyp der A-DNS der Sessel-Konformation des Homo-DNS-Pyranose-Rings; der Rückgrat-Konformationstyp der A-DNS ist unter allen Konformationstypen der natürlichen DNS der Homo-DNS am ähnlichsten. Qualitativ lässt sich die in A-DNS-Duplexen vorkommende Rückgrat-Konformation aus dem linearen Homo-DNS-Modell durch zwei transparente Modifikations-schritte herleiten: erstens durch die obligate Anpassung des endocyclischen Torsionswinkels  $\delta$  an die Fünfgliedrigkeit des Furanose-Rings (Vergrösserung von  $\delta$ , der Ring-Abflachung entsprechend), und zweitens durch eine ebenfalls obligate partielle Entstaffelung von Bindungen im Bereiche der sekundären Bindungsstelle der Phosphodiester-Gruppierung zwecks Relaxation der (dem idealisierten Modell inhärenten) 1,5-Repulsion. Die beiden Interpretationsschritte stellen zusammen mit den sterischen, stereoelektronischen und paarungstopologischen Argumenten, welche das lineare Homo-DNS-Modell begründen (vgl. *Kap. 3*), sozusagen eine qualitative *ab-initio*-Rationalisierung der Rückgrat-Konformation der A-DNS dar. *Der Rückgrat-Konformationstyp der A-DNS erscheint aus dieser Sicht als hauptsächlich sterisch-stereoelektronisch und nur in untergeordnetem Ausmass auch paarungstopologisch bestimmt.* Demgegenüber zeigen die kraft der Beweglichkeit des Furanose-Rings leicht zugänglichen Konformationstypen der B-DNS-Familie beträchtliche Abweichungen von der Homo-DNS-Bezugskonformation. Die jeweils gewichtigsten dieser Abweichungen sind indessen dergestalt, dass sie sich in Richtung und Betrag tendenziell kompensieren. Im Sinne der Auffassung, dass sie dies zwecks Erhaltung einer paarungsfähigen Topologie des Rückgrats tun, wäre der Anteil, zu welchem die Rückgrat-Konformation in DNS-Duplexen paarungstopologisch bestimmt wird, bei der B-DNS höher als bei der A-DNS.

Die bemerkenswerte Entsprechung zwischen dem konformationsanalytisch bevorzugten Strukturtyp eines (Homo-DNS)-Einzelstrangs und der Rückgratkonformation natürlicher DNS-Duplexe, insbesondere des A-Typs, impliziert das Postulat, dass Oligo-2'-deoxyribonucleotid-Einzelsträngen eine helicale Konformation zusteht<sup>26</sup>), die ihrer Konformation in Duplexen ähnlich ist. Dies sollte zu jenem Ausmass gelten, als die Rückgrat-Konformationen in den DNS-Duplexen nicht vorwiegend durch die H-Verbrückungs- und  $\pi$ -Stapelungsbedürfnisse der Basenpaarung, sondern durch die sterisch-stereoelektronischen Kontrollfaktoren der Rückgrat-Konformation bestimmt sind. In der Literatur findet bisher die Frage nach den strukturbestimmenden Faktoren der DNS-Doppelhelices Antworten und Kommentare, die bezüglich der relativen Bedeutung der Faktoren Basenpaarung, Basenstapelung und intrinsische Rückgrat-Konformation den Schwerpunkt ganz unterschiedlich legen [57] [53] [58] [60]. Die sich auf die Homo-DNS-Bezugsstruktur abstützenden konformationellen Überlegungen, die (mit einer Ausnahme<sup>27</sup>)) keinen Bezug auf die Basenpaarung nehmen und dennoch die in DNS-Duple-

<sup>26</sup>) Experimentell ist über die Konformation von DNS-Einzelsträngen bislang wenig bekannt; über Beobachtungen, die auf helicale Konformationen hinweisen, vgl. z. B. [58] [59] [20] (S. 312 und 298) [60].

<sup>27</sup>) Es betrifft dies die Selektion eines einzigen Konformeren aus einem Ensemble von deren drei auf Grund des Kriteriums der konformationellen Repetitivität (*Fig. 8*).

zen des A-Typs vorkommenden Rückgrat-Konformationstypen qualitativ zu rationalisieren imstande sind, sprechen mit Nachdruck für jene Auffassung, nach welcher der *strukturellen Präorganisation des Einzelstrangs* eine wichtige Rolle für die Existenz der DNS-Doppelhelices zukommt [53] [60] [58] [61]<sup>28)</sup>.

Die frühere Literatur über die Struktur von Oligonucleotiden und Nucleinsäuren weist Ansätze zur Systematisierung und (zum Teil) Rationalisierung der in *Duplexen* des A- und B-DNS sowie RNS vorkommenden Rückgrat-Konformationstypen auf. Von einer umfassenden empirischen Sichtung damals vorhandener, röntgenanalytisch ermittelter Strukturdaten von Mono-, Di- und Oligonucleotiden ausgehend [53] [64]<sup>29)</sup> und zum Teil durch sterische Argumente [53] sowie Molekül-mechanische Berechnungen [58] gestützt, gelangten *Sundaralingam* und Mitarbeiter [53] [63] [58] sowie *Arnott* und *Hukins* [64] (vgl. auch *Kim et al.* [65] zu einem Systematisierungskonzept, das in der Oligonucleotid-Literatur als 'rigid nucleotide' Konzept bekannt ist<sup>30)</sup>). Dieses besagt, dass den Torsionswinkeln einer Rückgrat-Einheit von Oligonucleotiden *de facto* nur ein relativ enger Variationsbereich zusteht, d. h. sich dieser nebst der Flexibilität des Furanose-Rings im wesentlichen auf die Konformation der Phosphodiester-Gruppierung beschränkt. Sowohl *Sundaralingam* [53] [58] als auch *Arnott* und *Hukins* [64] erkannten den (*-sc, -sc*)-Konformationstyp<sup>14)</sup> der Phosphodiester-Gruppierung als Voraussetzung einer Basenstapelung in Oligonucleotid-Ketten und beide wiesen auf die Existenz eines Norm-Satzes von Torsionswinkelwertbereichen für die Rückgrat-Konformation von Oligonucleotid-Duplexen hin. Der diesem Normsatz entsprechende (im wesentlichen für A-DNS geltende) Rückgrat-Konformationstyp erweist sich im Rückblick als jener, der aus der qualitativen Konformationsanalyse des (idealisierten) Homo-DNS-*Einzelstrangs ab initio* mit Hilfe von drei organisch-chemischen Selektionskriterien hervorgeht<sup>31)</sup>.

**5. Schlussbemerkungen.** – Wiewohl die vorstehenden Ausführungen vorab als Einleitung zu einer Abhandlungsreihe über experimentelle Ergebnisse der Chemie von Hexose-Nucleinsäuren gedacht sind, enthalten sie bereits für sich einige Folgerungen, auf die hier abschliessend nochmals hingewiesen werden soll. Die Folgerungen haben sich im wesentlichen daraus ergeben, dass man den Strukturtyp der Homo-DNS einer qualitativen Konformationsanalyse aus der Sicht der organischen Chemie unterwarf. Voran steht die Einsicht in die zentrale und spezifische Rolle der Fünfgliedrigkeit des Rings des Zucker-Bausteins, d. h. im wesentlichen des endocyclischen Rückgrat-Torsionswinkels  $\delta$ , für die intrinsische (rechtsgängige<sup>32)</sup>) Helicalität der Rückgrat-Kette der natürlichen Nucleinsäuren. Als in zweiter Linie formbildendes konstitutionelles Element erweist sich die

<sup>28)</sup> Vgl. eine entsprechende Aussage in [20] (S. 298) und insbesondere die kürzlich erschienene Arbeit von *Vesnayer* und *Breslauer* [61].

<sup>29)</sup> Über einen früheren Versuch zu einer qualitativen *de-novo*-Konformationsanalyse des Oligonucleotid-Rückgrats vgl. [62].

<sup>30)</sup> Über einen früheren Hinweis auf die Notwendigkeit einer eher flexiblen Handhabung dieses Konzepts vgl. z. B. [66].

<sup>31)</sup> Dass indessen die von *Sundaralingam* in [53] [58] anscheinend vertretene Zurückführung der Helicalität eines Oligonucleotid-Strangs auf die Bevorzugung der (*-sc, -sc*)-Konformation die Phosphodiester-Gruppierung nicht haltbar ist, dürfte aus den Ausführungen in den *Kap. 3* und *4* der vorliegenden Arbeit klar hervorgehen.

<sup>32)</sup> Der von *Wang, Rich* und Mitarbeitern [67] erstmals beobachtete, linksgängige DNS-Helix-Typ, die sogenannte Z-DNS, weist anstelle einer Mononucleotid-Einheit eine Dinucleotid-Einheit als repetitives Strukturelement auf (vgl. [20] (S. 283ff.)).

*sekundäre* Phosphodiester-Verknüpfung an diesem Ring, und zwar kraft der Minimisierung der dieser Verknüpfung inhärenten 1,5-Repulsion. Die Verwendung des (in seiner idealisierten Form) *linearen* Modells des Homo-DNS-Einzelstrangs als Bezugskonformation bietet eine einfache Möglichkeit der qualitativen und transparenten Herleitung bzw. Begründung der in DNS-Duplexen, insbesondere des A-Typs vorkommenden Rückgrat-Konformationstypen; dabei erweist sich das Bezugsmodell durch seine Linearität für eine Spezifikation und Interpretation der Helicalität solcher Strukturen als besonders geeignet. Es fällt auf, dass die konformationsanalytische Herleitung enthalpisch günstigster und gleichzeitig konformationell repetitiver Rückgrat-Konformationen für einen Oligonucleotid-*Einzelstrang* zu einem Konformationstyp führt, der sich in der Realität – in relaxierter Form – im Rückgrat gepaarter DNS-*Doppelstränge* (des A-Typs) findet. Akzeptiert man die verwendeten konformationsanalytischen Kriterien, so muss diese Entsprechung zwischen abgeleitetem und beobachtetem Konformationstyp heissen, dass die Duplex-Bildung bei den natürlichen Nucleinsäuren kinetisch und thermodynamisch durch *konformationelle Präorganisation* des Rückgrats der Einzelstränge begünstigt ist. Der hier angesprochene Aspekt des Konformationsvergleichs zwischen Einzel- und Doppelstrang verdient im Hinblick auf eine Quantifizierung der Zusammenhänge besondere Beachtung. Es geht um die Frage, inwieweit sich der Strukturtyp der natürlichen Oligonucleotide dadurch auszeichnet, dass in ihm Rückgrat-Konformationsoptima der ungepaarten Einzelstränge den Rückgrat-Konformationsoptima der Doppelstränge, welche zusätzlich den räumlichen Anforderungen der Basenpaarung unterliegen, ähnlich sind. Eine begründete Beantwortung dieser Frage wird einen wesentlichen Bestandteil der chemischen Rationalisierung der Struktur der natürlichen Nucleinsäuren ausmachen.

Dem Unterfangen, die Rückgrat-Konformationstypen der DNS aus der Sicht des linearen Homo-DNS-Einzelstrangmodells zu interpretieren, liegt nicht zuletzt die Absicht zugrunde, diesen Naturstoff-Typ in den der qualitativen organisch-chemischen Konformationsanalyse zugänglichen Bereich zu rücken. Ein Konformationsproblem vom Gehalt und der Bedeutung des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren sollte eigentlich den ihm gebührenden Platz in elementaren Lehrbüchern der organischen Chemie einnehmen können. Auf dieses Ziel ausgerichtet mag der beschrittene Weg der DNS-Konformationsanalyse der Überprüfung und der Ergänzung bzw. Quantifizierung durch problemgerechte moderne Mittel der Konformationsherleitung und Strukturdarstellung bedürfen; doch hat dabei die Forderung erfüllt zu bleiben, dass zwischen dem Strukturbild der Theorie und den faktorisierenden Konzepten und Begriffen des experimentierenden organischen Chemikers jene Art des kohärenten Zusammenhangs erkennbar bleibt, der für den Chemiker qualitatives 'Verstehen' der Konformation einer Struktur bedeutet.

Die Titelfrage 'warum Pentose- und nicht Hexose-Nucleinsäuren' kann nicht in der Erwartung auf eine abschliessende Antwort gestellt sein; die Aufgabe der Frage ist die eines Wegweisers, der entlang einer fortschreitenden Untersuchung immer wieder die Richtung des experimentellen Weges weist, auf dem man zu begründeten Teilantworten und damit sukzessive zu vertiefter Einsicht in die Natur und die Gründe der Sonderstellung des Strukturtyps der natürlichen Nucleinsäuren gelangt. Bereits die konformationsanalytische Gegenüberstellung der Strukturtypen der Homo-DNS und DNS, wie sie in dieser einleitenden Abhandlung durchgeführt ist, deutet durch die Eruierung der spezifischen Rolle der Fünfgliedrigkeit des Furanose-Ringes für die Helicalität der natürlichen

DNS auf eine solche Teilantwort hin, wiewohl gleich vermerkt werden muss, dass z. B. die spezifischen biologischen Vorteile der Helix-Parameterwerte einer DNS im Vergleich zu den Strukturparametern einer Homo-DNS wohl vielleicht vermutet, aber keineswegs etwa einfachhin durchschaut werden können. Massgeblich für die spezifische Bedeutung der Fünfgliedrigkeit des Zucker-Rings in der DNS dürfte vor allem auch die im Vergleich zum 'starren' Pyranose-Ring hohe konformationelle Beweglichkeit des Ringes sein; die im *Teil III* dieser Abhandlungsreihe beschriebenen Unterschiede in den Eigenschaften von Oligonucleotiden des Homo-DNS *vs.* DNS-Typs stellen u. a. erste experimentelle Vergleichsdaten und Belege für diese Prognose dar. Für die Beurteilung der Daten wird man sich allerdings zu erinnern haben, dass der Zucker-Baustein der Homo-DNS noch keinesfalls als potentiell präbiotischer Naturstoff zu betrachten ist und dass demnach dem Homo-DNS-Projekt hinsichtlich der Titelfrage nur der Rang einer Modellstudie zukommt; von direkterem Belang für die Titelfrage werden erst die Ergebnisse analoger Untersuchungen sein, die wir mit eigentlichen  $(\text{CH}_2\text{O})_6$ -Hexopyranosen durchführen bzw. durchzuführen beabsichtigen.

Die Arbeiten über Hexose-Nucleinsäuren wurden grosszügig unterstützt vom *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* sowie von der *Ciba-Geigy AG*, Basel, und der *Firmenich SA*, Genf. Wir danken Prof. Dr. *Claude Wintner* für seine wertvolle Mitarbeit bei der Abfassung der Zusammenfassungen in Englisch, Dr. *Kaspar Zimmermann* für die Ausführung zahlreicher Abbildungen und Prof. Dr. *K. Müller*, Basel, für die Erlaubnis, Ergebnisse seines orientierenden Homo-DNS-'Modellings' hier erwähnen zu dürfen. Das in *Fig. 1* wiedergegebene Modell stammt aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. *J. D. Dunitz*, dem wir für die Überlassung des Modells und für Diskussionen danken.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] D. Müller, S. Pitsch, A. Kittaka, E. Wagner, C. E. Wintner, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1410.  
 [2] a) M. Böhringer, H. J. Roth, J. Hunziker, M. Göbel, R. Krishnan, C. Leumann, A. Eschenmoser, 'Oligonucleotide mit 2',3'-Dideoxyglucopyranose-Bausteinen ('Homo-DNA's'): Synthese und Charakterisierung', Kurzfassung der Vorträge, Herbstversammlung der Schweiz. Chem. Ges., Bern, 20. Okt. 1989, S. 30; b) C. Leumann, H. J. Roth, M. Böhringer, J. Hunziker, F. Giger, M. Göbel, R. Krishnan, A. Eschenmoser, 'Oligonucleotide mit 2',3'-Dideoxyglucopyranose-Bausteinen ('Homo-DNS's'): Paarungseigenschaften', *ibid.*, 1989, S. 31; c) H.-J. Roth, C. Leumann, A. Eschenmoser, G. Otting, K. Wüthrich, 'Homo-DNA: Untersuchungen zur räumlichen Struktur eines Purin-Pyrimidin-gepaarten Duplexes', Kurzfassung der Vorträge, Herbstversammlung der Schweiz. Chem. Ges., Bern, 18. Okt. 1991, S. 7; d) J. Hunziker, K. Groebke, L. Peng, M. Böhringer, U. Diederichsen, W. Fraser, F. Giger, C. Leumann, A. Eschenmoser, 'Homo-DNA: Purin-Purin-Paarungen', *ibid.*, 1991, S. 8; e) A. Eschenmoser, 'Kon-Tiki Experimente zur Frage nach dem Ursprung von Biomolekülen', in Verh. Ges. Dtsch. Naturforsch. Ärzte, 'Vom Elementaren zum Komplexen', 116. Versammlung, Berlin 1990, Wiss. Verlagsges. mbH, Stuttgart 1991, S. 135; f) A. Eschenmoser, 'Warum Pentose- und nicht Hexose-Nucleinsäuren?', *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1991**, *39*, 795; g) A. Eschenmoser, 'Chemie potentiell präbiologischer Naturstoffe', *Nova Acta Leopoldina, Neue Folge* **1991**, *Bd. 67*, Nr. 281; h) A. Eschenmoser, E. Loewenthal, 'Chemistry of Potentially Prebiological Natural Products', *Chem. Soc. Rev.* **1992**, im Druck.  
 [3] V. Prelog, *Naturwiss. Rundsch.* **1985**, *38*, 259.  
 [4] A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 5; *ibid. Int. Ed.* **1988**, *27*, 5.  
 [5] A. I. Oparin, 'The Origin of Life' (englische Übersetzung der russischen Originalabhandlung aus dem Jahre 1924, in J. D. Bernal, 'The Origin of Life', Weidenfeld & Nicholson, London, 1967, S. 197); J. B. S. Haldane, 'The Origin of Life', *Ration. Annu.* **1929**, *148*, 3 (Nachdruck in J. D. Bernal *op. cit.*, S. 242); A. I. Oparin, 'The Origin of Life', McMillan Company, 1938; 2. Aufl., Dover Publications Inc., N.J., 1953.  
 [6] M. Eigen, *Naturwissenschaften* **1971**, *58*, 465; M. Eigen, P. Schuster, *ibid.* **1977**, *64*, 541; *ibid.* **1978**, *65*, 7, 341; H. Kuhn, *Angew. Chem.* **1972**, *84*, 838; *ibid. Int. Ed.* **1972**, *11*, 798; H. Kuhn, *Naturwissenschaften* **1976**, *63*, 68.



- [7] S. L. Miller, *Science* **1953**, *117*, 528; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2351; *Biochem. Biophys. Acta* **1957**, *23*, 480; *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1987**, *52*, 17.
- [8] J. Oró, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1960**, *2*, 407; J. Oró, A. P. Kimball, *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, *94*, 217; *ibid.* **1962**, *96*, 293; J. Oró, *Adv. Space Res.* **1983**, *3*, 77.
- [9] a) J. P. Ferris, L. E. Orgel, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1074; b) J. P. Ferris, W. J. Hagan, Jr., *Tetrahedron* **1984**, *40*, 1093; c) L. E. Orgel, R. Lohrmann, *Acc. Chem. Res.* **1974**, *7*, 368.
- [10] S. L. Miller, L. E. Orgel, 'The Origins of Life on the Earth', Prentice-Hall, Englewoods Cliffs, N.J., USA, 1974.
- [11] G. Ksander, G. Bold, R. Lattmann, C. Lehmann, T. Früh, Yi-Bin Xiang, K. Inomata, H.-P. Buser, J. Schreiber, E. Zass, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1115.
- [12] G. V. Fazakerley, L. C. Sowers, R. Eritja, B. E. Kaplan, M. F. Goodman, *Biochemistry* **1987**, *26*, 5641.
- [13] D. A. Usher, *Nature New Biol.* **1972**, *235*, 207; D. A. Usher, *Science* **1977**, *196*, 311; D. A. Usher, *Nature (London)* **1979**, *278*, 582.
- [14] M. M. Dhingra, R. H. Sarma, *Nature (London)* **1978**, *272*, 798; *ibid.* **1979**, *278*, 582.
- [15] a) J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature (London)* **1953**, *171*, 737; b) F. H. C. Crick, J. D. Watson, *Proc. R. Soc. London, [Ser.] A* **1954**, *223*, 80.
- [16] Y. Kyogoku, R. C. Lord, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1967**, *57*, 250; C. Cheong, I. Tinoco, Jr., A. Chollet, *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 5115.
- [17] H. R. Rackwitz, K. H. Scheit, *Eur. J. Biochem.* **1977**, *72*, 191.
- [18] J. A. Piccirilli, T. Krauch, S. E. Moroney, S. A. Benner, *Nature (London)* **1990**, *343*, 33.
- [19] M. D. Kirnos, I. Y. Khudyakow, N. I. Alexandrushkina, B. F. Vanyushin, *Nature (London)* **1977**, *270*, 369; M. Szekeres, A. V. Matveyev, *FEBS Lett.* **1987**, *222*, 89.
- [20] W. Saenger, 'Principles of Nucleic Acid Structure', Springer-Verlag, Berlin, 1984.
- [21] A. M. Corelson, C. Monny, R. A. Laursen, N. J. Leonard, *Biochim. Biophys. Acta* **1966**, *119*, 258; L. Pauling, R. B. Corey, *Arch. Biochem. Biophys.* **1956**, *65*, 164; J. Donohue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1956**, *42*, 60; G. Felsenfeld, D. R. Davies, A. Rich, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2023.
- [22] C. Switzer, S. E. Moroney, S. A. Benner, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8322.
- [23] P. Strazewski, C. Tamm, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 37; *ibid. Int. Ed.* **1990**, *29*, 36.
- [24] a) L. E. Orgel, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1987**, *52*, 9 (Review); b) G. F. Joyce, *ibid.* **1987**, *52*, 41 (Review).
- [25] 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*, in Vorbereitung.
- [26] a) J. Hunziker, H. J. Roth, M. Böhringer, A. Giger, M. Göbel, R. Krishnan, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, in Vorbereitung; b) H. J. Roth, C. Leumann, A. Eschenmoser, G. Otting, M. Billeter, K. Wüthrich, *ibid.*, in Vorbereitung.
- [27] R. Fischer, A. Helg, A. Giger, C. Leumann, A. Eschenmoser, in Vorbereitung.
- [28] S. Hoffmann, *Z. Chem.* **1979**, *19*, 241.
- [29] A. S. Jones, *Int. J. Biol. Macromol.* **1979**, *1*, 194.
- [30] a) J. S. Cohen, Ed., 'Oligonucleotides: Antisense Inhibitors of Gene Expression', McMillan Press, Scientific & Medical, 1989; b) E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 543.
- [31] a) M. H. Caruthers, in [30a], S. 7; b) P. S. Miller, in [30a], S. 79; c) C. A. Stein, J. S. Cohen, in [30a], S. 97.
- [32] E. P. Storchak, J. E. Summerton, D. D. Weller, *Nucleic Acids Res.* **1989**, *17*, 6129.
- [33] P. Sharp, *Cell* **1985**, *42*, 397; W. Gilbert, *Nature (London)* **1986**, *319*, 618; S. A. Brenner, A. D. Ellington, A. Tauer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1989**, *86*, 7054.
- [34] R. Shapiro, *Origins Life* **1984**, *14*, 565; R. Shapiro, *Origins Life Evol. Biosphere* **1988**, *18*, 71; R. Shapiro, 'Origins – A Sceptic's Guide to the Creation of Life on Earth', Summit Books, N.J., 1986.
- [35] A. W. Schwartz, L. E. Orgel, *Science* **1985**, *228*, 585; G. F. Joyce, A. W. Schwartz, S. L. Miller, L. E. Orgel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 4398; L. E. Orgel, 'Was RNA the First Genetic Polymer?' in 'Evolutionary Tinkering in Gene Expression', Eds. M. Grunberg-Manago, B. F. C. Clark, and H. G. Zachan, Plenum Publ. Corp., 1989, S. 215.
- [36] A. G. Cairns-Smith, *J. Theor. Biol.* **1966**, *10*, 53; A. G. Cairns-Smith, 'Genetic Takeover and the Mineral Origins of Life', Cambridge University Press, Cambridge, 1982.
- [37] A. J. Zaugg, T. R. Cech, *Science* **1986**, *231*, 470; T. R. Cech, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 745; *ibid. Int. Ed.* **1990**, *29*, 759; C. Guerrier-Takada, K. Gardiner, T. Marsh, N. Pace, S. Altman, *Cell* **1983**, *35*, 849; S. Altman, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 735; *ibid. Int. Ed.* **1990**, *29*, 749.
- [38] N. Usman, C. D. Juby, K. K. Ogilvie, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4831.
- [39] K. C. Schneider, S. A. Benner, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 453.

- [40] H. J. Roth, Ling Peng, A. Eschenmoser, unveröffentlicht; Ling Peng, Diss. ETH Zürich, in Vorbereitung.
- [41] K. Groebke, W. Fraser, U. Diederichsen, J. Hunziker, Ling Peng, C. Leumann, A. Eschenmoser, in Vorbereitung.
- [42] J. C. Speakman, *J. Chem. Soc.* **1941**, 490.
- [43] J. D. Dunitz, V. Prelog, *Angew. Chem.* **1960**, *72*, 896; V. Prelog, *J. Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 119; H. Dutler, J. L. van der Baan, E. Hochuli, Z. Kis, K. E. Taylor, V. Prelog, *Eur. J. Biochem.* **1977**, *75*, 423; V. Prelog, M. Kovacevic, M. Egli, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 1173; *ibid. Int. Ed.* **1989**, *28*, 1147.
- [44] M. S. Newman, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4783.
- [45] E. L. Eliel, N. L. Allinger, S. J. Angyal, G. A. Morrison, 'Conformational Analysis', Interscience Publ., New York, 1965.
- [46] A. J. Kirby, 'The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen', Vol. 15 of 'Reactivity and Structure Concepts in Organic Chemistry', Springer-Verlag, Berlin, 1983.
- [47] a) D. G. Gorenstein, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 1047 und daselbst zit. Lit.; b) D. G. Gorenstein, J. B. Findlay, B. A. Luxon, D. Kar, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3473; c) V. A. Roongta, C. R. Jones, D. G. Gorenstein, *Biochemistry* **1990**, *29*, 5245.
- [48] C. Altona, Thesis, Leiden, 1964; C. Altona, C. Romers, *Acta Crystallogr.* **1963**, *16*, 1225.
- [49] *Cambridge Crystallographic Data Center*, Structural Database.
- [50] J. D. Dunitz, J. S. Rollett, *Acta Crystallogr.* **1956**, *9*, 327.
- [51] F. Kreppelt, 'Regioselektive Rekonstituierung von Vitamin B<sub>12</sub> durch Nukleotidierung von Cobyrynsäureheptakis(cyanmethyl)ester', Dissertation Nr. 9458, ETH Zürich, 1991.
- [52] M. McCall, T. Brown, O. Kennard, *J. Mol. Biol.* **1985**, *183*, 385.
- [53] M. Sundaralingam, *Biopolymers* **1969**, *7*, 821.
- [54] F. C. Bernstein, T. F. Koetzle, G. J. B. Williams, E. F. Meyer, Jr., M. D. Brice, J. R. Rodgers, O. Kennard, T. Shimanouchi, M. Tasumi, *J. Mol. Biol.* **1977**, *112*, 535.
- [55] R. E. Dickerson, H. R. Drew, *J. Mol. Biol.* **1981**, *149*, 761; H. R. Drew, R. M. Wing, T. Takano, C. Broka, S. Tanaka, K. Itakura, R. E. Dickerson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1981**, *78*, 2179.
- [56] M. Levitt, A. Warshel, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2607.
- [57] H. De Voe, I. Tinoco, Jr., *J. Mol. Biol.* **1962**, *4*, 500; J. Brahms, A. M. Michelson, K. E. Van Holde, *ibid.* **1966**, *15*, 467; D. H. Turner, M. Petersheim, D. De Prisco Albergo, T. G. Dewey, S. M. Freier, 'Biomolecular Stereodynamics', Ed. R. H. Sarma, Adenine Press, New York, 1981, Vol. I, S. 429; C. R. Calladine, *J. Mol. Biol.* **1982**, *161*, 343; R. E. Dickerson, *ibid.* **1983**, *166*, 419; C. R. Calladine, H. R. Drew, *ibid.* **1984**, *178*, 773; A. Sarai, J. Mazur, R. Nussinov, R. L. Jernigan, *Biochemistry* **1988**, *27*, 8498.
- [58] N. Yathindra, M. Sundaralingam, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1974**, *71*, 3325.
- [59] N. Camerman, J. K. Fawcett, A. Camerman, *J. Mol. Biol.* **1976**, *107*, 601.
- [60] E. K. Achter, G. Felsenfeld, *Biopolymers* **1971**, *10*, 1625.
- [61] G. Vesnaver, K. J. Breslauer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, *88*, 3569.
- [62] R. S. Morgan, *Disc. Faraday Soc.* **1958**, *25*, 193.
- [63] M. Sundaralingam, in 'Conformations of Biological Molecules and Polymers', Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, 1973, S. 417.
- [64] S. Arnott, D. W. L. Hukins, *Nature (London)* **1969**, *224*, 886; S. Arnott, *Progr. Biophys. Mol. Biol.* **1970**, *21*, 267.
- [65] S.-H. Kim, H. M. Berman, N. C. Seeman, M. D. Newton, *Acta Crystallogr., Sect. B* **1973**, *29*, 703.
- [66] A. Jack, A. Klug, J. E. Ladner, *Nature (London)* **1976**, *261*, 250.
- [67] A. H.-J. Wang, G. J. Quigley, F. J. Kolpak, J. L. Crawford, J. H. van Boom, G. van der Marel, A. Rich, *Nature (London)* **1979**, *282*, 680.
- [68] H. Rosemeyer, F. Seela, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 748; H. Rosemeyer, M. Krečmerova, F. Seela, *ibid.* **1991**, *74*, 2054.