

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Synthese und Charakterisierung eines Ein-Elektronen-Donors  
für Studien des Überschusselektronentransfers in DNA**

vorgelegt von  
Christian Trindler  
aus Rheinfelden/Schweiz

2010

### Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsverordnung vom 29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. Thomas Carell betreut.

### Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbstständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 02.07.2010



(Christian Trindler)

Dissertation eingereicht am 02.07.2010

1. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Carell
2. Gutachter: Prof. Dr. Hendrik Zipse

Mündliche Prüfung am 12.08.2010

Success is to go from one failure to another without the loss of enthusiasm.

*Winston Churchill*



## Danksagung

Mein erster Dank gilt *Prof. Dr. Thomas Carell* für die interessante und vielseitige Themenstellung. Seine Begeisterungsfähigkeit und sein Optimismus haben entscheidend zum Erfolg der Arbeit beigetragen. Ich danke zudem für die exzellenten Arbeitsbedingungen, die angenehme Atmosphäre und für die wissenschaftliche Freiheit, die er mir gewährt hat.

Herrn *Prof. Dr. Hendrik Zipse* danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Besonderen Dank geht an *Herrn Prof. Dr. Konstatin Karaghiosoff* für die Aufnahme der Röntgenstrukturanalysen.

Während meiner Dissertation wurde ich vom Marie-Curie Forschungsnetzwerk der EU und von Novartis finanziell unterstützt, für was ich mich ebenfalls sehr bedanken möchte.

*Frau Gärtner* danke ich für die Unterstützung und Hilfe bei organisatorischen Belangen. Grossen Dank auch an *Sabine Voß (mit Scharf-S wohlgemerkt!)* für die synthetische Unterstützung und speziell für die Hilfe bei etwaigen Beschwerdeanrufen, die sie immer sehr schlagkräftig gemeistert hat.

Den Mitarbeitern der Analytikabteilung, *Herrn Werner Spahl* und *Frau Sonja Kosak* für die Anfertigung der Massenspektren, *Frau Claudia Dubler* und *Dr. David Stevenson* für jede Menge Spezialaufnahmen und Erläuterungen rund um die Welt des NMRs.

Allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe danke ich für die angenehme Atmosphäre. Ich werde die Ausflüge und Unternehmungen vermissen. Als letzter Kämpfer des Schuftovich-Labors danke ich *Philipp Gramlich* und *Christian Wirges* für die witzige Zeit und Spass während der Arbeit. Mein ehemaliger Diplomand *Julian Willibald* und meine Ex-Laborkollegen *Stephan Prill*, *Johannes Harder* und *Felix Gnerlich* geben ihr Bestes, die gute Atmosphäre aufrecht zu erhalten. Besonders *Julian* verdanke ich viele gute Diskussionen, wenn es mal wieder um physikalische Aspekte rund um den Elektronentransfer ging. Für die musikalischen Effekte und Gesangs- und Tanzeinlagen haben *Stephan* und ich ein prima Team gebildet. Für synthetische Fragen war der Weg bis ins Biochemie-Labor zwar weit, aber meist rauschte *Martin Münzel* energiegeladen sowieso in und um den HPLC-Raum, so dass der Weg erspart blieb. In diesem Sinne danke ich auch *Daniel Globisch* für die massenanalytischen Debromierungsbestimmungen und seinem erfrischenden Optimismus, der sehr geholfen hat. Auch *Tobias Brückl* danke ich für viele gute synthetische Ideen und wünsche ihm viel Spass und Erfolg bei Phil Baran. *Thomas Reissner* danke ich für all die Kinobesuche der spezielleren Art und für die Unterstützung bei den Auf und Abs während der Dissertation. Gerade die sportlichen Unternehmungen wie Skitouren, Klettern, Segeln und Bergsteigen mit *Eva Bürckstümmer*, *Stephanie Schorr*, *David Kath*, *Emine Kaya*, *Markus Müller*, *David Kuchen* und *Melanie Maul* haben sehr Spass

gemacht, und ich freue mich auf weitere Abenteuer. Auch genoss ich die Zeit mit *Corinna Kaul* und *Stephan Sedlmaier*, wenn es mal wieder darum ging, ein neues Jahr zu feiern. Mit *Malte Winnacker* und *Ralph Strasser* habe ich die richtigen Freunde gefunden, die mich an das Münchner Kulturangebot herangeführt haben. *Sabine Schneider*, der Kristalljongleurin schlechthin, danke ich für die Hilfe bei Theoriefragen rund um die Photolyasen und natürlich für das leckere Spanferkel. *Korbinian Heil* danke ich für seinen erfrischenden Humor und seine offene Art, die meinen Arbeitsalltag immer wieder belebt haben. Genauso möchte ich mich bei Tim Gehrke bedanken, der oft einen guten Spruch auf Lager hatte und bei Problemen sofort zur Stelle war.

Für die Durchführung des Umlaufs danke ich *Slava Gärtner*. Für das Korrekturlesen danke ich Martin Münzel, Julian Willibald und Eva Bürckstümmer.

Grossen Dank gilt meinen Eltern und Eva Bürckstümmer, die stets für mich da waren.

#### **Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:**

- C. Trindler, A. Manetto, J. Eirich, T. Carell, *Chem. Comm.* **2009**, 24, 3583-3584.  
A new ground state single electron donor for excess electron transfer studies in DNA.

#### **Posterpresentationen:**

- C. Trindler, A. Manetto, T. Carell, *ORGCHEM 2008*, Weimar, Deutschland, **2008**. Excess electron transfer in DNA: synthesis of a single electron donor.
- C. Trindler, A. Manetto, T. Carell, *DNATec 09*, Dresden, Deutschland, **2009**. A new ground state donor for excess electron transfer in DNA.
- C. Trindler, A. Manetto, T. Carell, *Synthesefest 2009 „A Celebration of Organic Chemistry“*, München, Deutschland **2009**. Excess electron transfer in DNA: synthesis of a single electron donor.

#### **Weitere Publikationen:**

- Paulini R, Trindler C, Lerner C, Brändli L, Schweizer WB, Jakob-Roetne R, Zürcher G, Borroni E, Diederich F., *ChemMedChem* **2006**, 1(3), 340-357. Bisubstrate inhibitors of catechol *O*-methyltransferase (COMT): the crucial role of the ribose structural unit for inhibitor binding affinity.



## Inhaltsverzeichnis

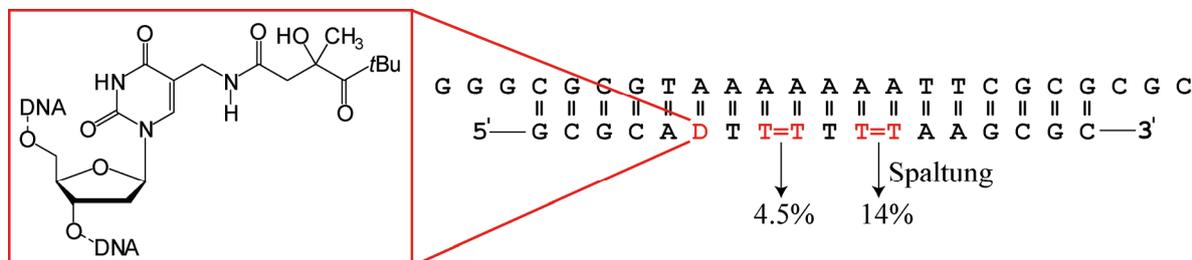
<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>XII</b>
<b>Summary .....</b>	<b>XV</b>
<b>1. Einführung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Relevanz des Ladungstransfers in DNA.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Redoxpotentiale und Ladungstransfer-Typen.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Transfer-Mechanismen .....</b>	<b>8</b>
1.3.1 Das <i>Tunneling</i> und <i>Superexchange</i> -Modell.....	8
1.3.2 Das <i>Hopping</i> -Modell.....	10
1.3.3 Das Polaron-Modell.....	13
1.3.4 Das „ <i>Delocalized Domain</i> “- bzw. konformationskontrollierte <i>Hopping</i> -Modell.....	14
<b>1.4 Reduktiver Ladungstransfer .....</b>	<b>16</b>
1.4.1 Elektronen-Akzeptoren.....	17
1.4.2 Elektronen-Donoren .....	21
<b>2. Aufgabenstellung .....</b>	<b>27</b>
<b>3. Synthese und Charakterisierung von DNA-Doppelsträngen mit dem Ein-Elektronen-Donor 2 und 5-Br-dU .....</b>	<b>29</b>
<b>3.1 Synthese des Ein-Elektronen-Donor-Nukleosids.....</b>	<b>29</b>
3.1.1 Synthese des Donor-Carbonsäure-Bausteins 10 .....	30
3.1.2 Synthese des Donor-Nukleosid-Bausteins.....	33
3.1.3 Einfluss der Amid-Bindung auf die Funktion des Donors.....	36
3.1.4 Synthese und Charakterisierung des Donors 24 mit einer tertiären Amid-Bindung .....	39

<b>3.2 Belichtung des Donors 24.....</b>	<b>42</b>
3.2.1 <i>Norrish-Typ I</i> Reaktion des Donors 24 in MeOH/Wasser und Puffer .....	42
3.2.2 Effizienz des neuen Donors .....	46
<b>3.3 Synthese der DNA-Stränge und erste Debromierungsversuche .....</b>	<b>50</b>
<b>3.4 Ansätze zur Vereinfachung der DNA-Aufreinigung durch stereoselektive Darstellung des Donors und durch Einführung von Schutzgruppen .....</b>	<b>55</b>
<b>3.5 Analytik zu den synthetisierten Strängen .....</b>	<b>60</b>
<b>3.6 Belichtungsexperimente von DNA Doppelsträngen .....</b>	<b>63</b>
3.6.1 Ansätze zur chromatographischen Debromierungsquantifizierung .....	63
3.6.2 Enzymatischer Verdau der modifizierten DNA-Stränge .....	65
3.6.3 Synthese von 5-Br-dU- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> zu massenspektrometrischen Quantifizierung der Debromierung .....	68
<b>3.7 Belichtungsexperimente (I).....</b>	<b>70</b>
<b>3.8 Belichtungsexperimente (II) .....</b>	<b>72</b>
<b>3.9 Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>74</b>
<b>4. Synthese von DNA-Strängen mit dem Ein-Elektronen-Donor 24 und dem CPD-Photoschaden .....</b>	<b>77</b>
4.1 Resultate und Ausblick .....	80
<b>5. Experimenteller Teil .....</b>	<b>81</b>
5.1 Material und Methoden .....	81
5.2 Synthese, Aufreinigung und Verdau der Oligonukleotide .....	85
5.2.1 Synthese.....	85
5.2.2 Aufreinigung.....	85
5.2.3 Enzymatischer Verdau der Oligonukleotide.....	87

<b>5.3 Massenanalytische Quantifizierung von 5-Br-dU .....</b>	<b>88</b>
5.3.1 LC-ESI-MS.....	88
5.3.2 Kalibrierkurven.....	88
<b>5.4 Synthesevorschriften .....</b>	<b>90</b>
<b>6. Abkürzungen .....</b>	<b>120</b>
<b>7. Röntgenstrukturdaten .....</b>	<b>124</b>
7.1 Lacton 8.....	124
7.2 Carbonsäure 10.....	128
<b>8. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>135</b>

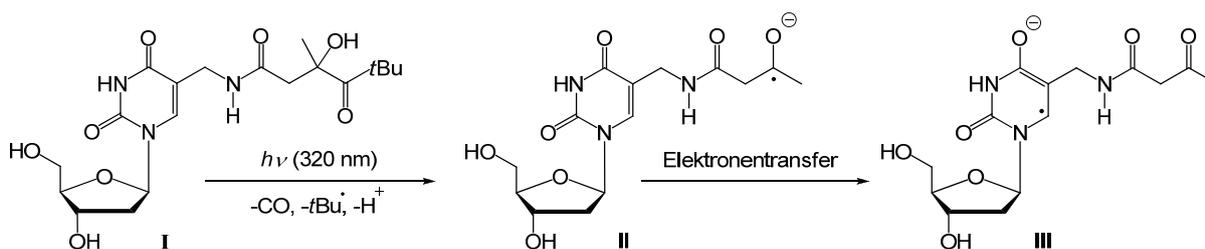
## Zusammenfassung

Schon früh wurde die Basenstapelung der DNA mit ihren dicht aufeinanderliegenden  $\pi$ -Orbitalen als möglicherweise leitendes Medium diskutiert.<sup>[1]</sup> Die hohe biologische Relevanz und die selbst organisierende Fähigkeit der DNA dreidimensionale Strukturen auszubilden sowie das Potential, diese geplant zu kontrollieren,<sup>[2-3]</sup> beflügelten in den letzten 20 Jahren die Ansätze, den Elektronentransfer detailliert zu untersuchen.<sup>[4-5]</sup> Lochtransferdistanzen bis zu 200 Å wurden erreicht, weshalb eine biologische Relevanz wie zum Beispiel Elektronentransfer zur DNA-Schadens-Detektion nicht mehr undenkbar ist.<sup>[6]</sup> DNA Chips wurden entwickelt und konnten über Elektronentransfer elektronisch ausgelesen werden.<sup>[7]</sup> Intensive Untersuchungen zum Überschusselektronentransfer fingen jedoch erst vor zehn Jahren an und sind seitdem in ihrer Menge massiv angewachsen.<sup>[8-9]</sup> Erste hoch definierte Modellsysteme des Überschusselektronentransfers wurden in Kombination mit DNA Photoschäden als Elektronendetektoren entwickelt.<sup>[10]</sup> Zu den DNA Photoschäden wurden weitere irreversible Elektronen-affine Akzeptoren entwickelt, wobei 5-Br-dU sich gut etablierte.<sup>[4]</sup> Die Elektroneninjektion erfolgte dabei meist durch photoangeregte Donoren, deren Elektronen aus dem angeregten Zustand übertragen wurden und daher meist multiplen *Photocycling* unterworfen waren. Für den Ausschluss dieser störenden Prozesse wurde deswegen von Carell und Giese *et al.* ein Grundzustandsdonor entwickelt, der in Kombination mit dem CPD-Photoschaden (T=T Dimer) in die DNA eingebaut wurde (Schema 1).<sup>[11]</sup>



**Schema 1.** Grundzustandsdonor **D** wie er von Giese und Carell in Kombination mit dem CPD-Photoschaden (**T=T-Dimer**) als Elektronenakzeptor entwickelt worden war.<sup>[11]</sup>

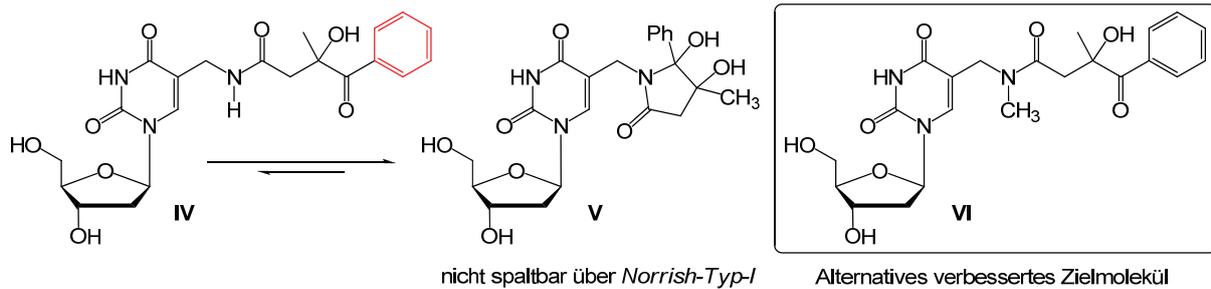
Da dessen Injektionsmechanismus über eine *Norrish-Typ-I* Reaktion bei einer Wellenlänge von 320 nm ausgelöst wird (Schema 2) und 5-Br-dU bis knapp über 300 nm photolytisch gespalten werden kann, konnte dieser Donor nicht zusammen mit dieser effizienten Elektronenfaller verwendet werden.<sup>[12]</sup>



**Schema 2.** *Norrish-Typ-I* Reaktion des bereits etablierten Donors **I**. Durch Photospaltung bei einer Wellenlänge von 320 nm wird ein Ketylradikalanion **II** erzeugt, das ein Elektron auf die DNA bzw. auf die eigene Nukleobase übertragen kann (**III**).

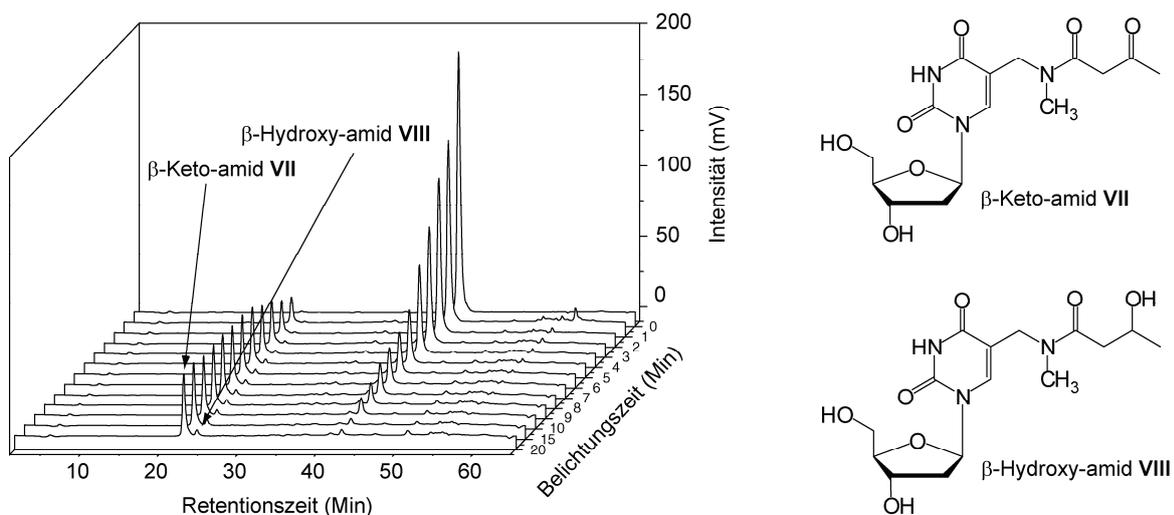
Im Rahmen dieser Arbeit wurde auf Basis dieses Grundzustandsdonors ein neuer Donor entwickelt, der im Gegensatz zu seinem Vorgänger keine *tert*-Butyl-, sondern Phenyl-Funktionalität trägt. Dadurch sollte die *Norrish-Typ-I* Reaktion statt bei 320 nm bei 355 nm ausgelöst werden.

Nach Synthese des neuen Donors **IV** wurde jedoch über HMBC-NMR Experimente festgestellt, dass die *Norrish-Typ-I* Reaktion durch die Ausbildung eines Lactams **V** verhindert wird, weshalb die Synthese des Donors geändert werden musste. Mit dem Einbau einer Methylgruppe bzw. der Synthese eines tertiären Amids (**VI**) wurde die Entstehung eines Lactams verhindert (Schema 3).



**Schema 3.** Im Rahmen dieser Arbeit wurde zuerst Donor **IV** entwickelt, der trotz des neu eingeführten Phenylrestes nicht bei 355 nm gespalten werden konnte. Grund war ein Gleichgewicht zwischen offenkettigem Amid **IV** und Lactam **V**, wobei hauptsächlich letzteres vorlag. Erst die Synthese eines Donors **VI** mit einer Methylgruppe am Amid verhinderte die Lactamisierung und damit eine Donorineffizienz.

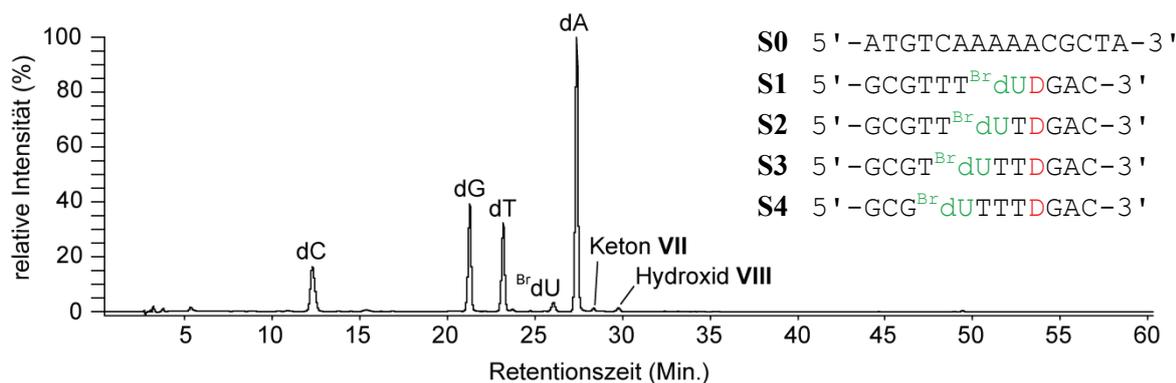
Belichtungen ergaben eine erfolgreiche Spaltung der Acyloins **VI** in zwei verschiedene Produkte.<sup>[13]</sup> Dabei handelte es sich um die erwarteten Zersetzungsprodukte. Zum einem entsteht das Elektronenübertragungsprodukt, Keton **VII**. Zum anderen wird das Quenchingprodukt, Hydroxid **VIII** gebildet (Abbildung 1). Da das Verhältnis der beiden Aufschluss gibt, wie effizient die Elektronenübertragung auf die Thymidin-Funktionalität erfolgt, wurden die beiden Spaltungsprodukte intensiv untersucht. Sowohl das  $\beta$ -Keto-amid **VII** und das  $\beta$ -Hydroxy-amid **VIII** wurden synthetisiert, die Extinktionskoeffizienten vermessen und die Retentionszeiten auf der HPLC verglichen.



**Abbildung 1.** Belichtung des Donors in MeOH/H<sub>2</sub>O und HPLC Analyse der beiden Zersetzungsprodukte **VII** und **VIII**. Es entsteht hauptsächlich das Elektronen-Übertragungsprodukt **VII**.

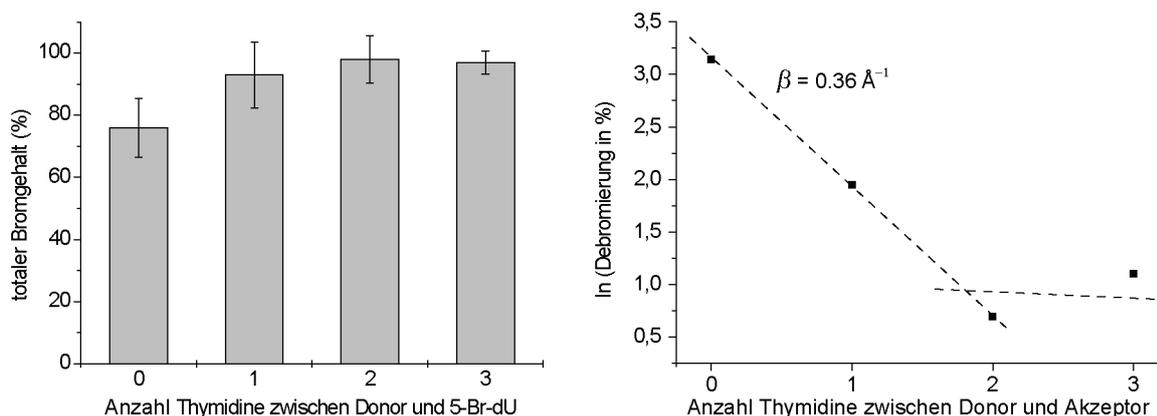
Der Einbau des Donors und von 5-Br-dU in die DNA erfolgte über die typische Phosphoramid-chemie, wobei wie beim Vorgänger-Donor **I** keine Schutzgruppe für die Acyloin-Funktionalität angewendet wurde. Die synthetisierten Stränge **S1-S4** wurden mit HPLC aufgereinigt.

Chromatographische Analysen der Belichtungen ganzer DNA-Stränge führten zu schwer interpretierbaren Produktgemischen. Über enzymatischen Verdau konnten die einzelnen Nucleoside jedoch erhalten und über ihre deutlich unterschiedlichen Retentionszeiten per HPLC einfach aufgetrennt werden (Abbildung 2). Allerdings erschwerten dabei die geringen Konzentrationen an 5-Br-dU eine Debromierungsbestimmung über die relativen Intensitäten der anderen Nucleosidsignale.



**Abbildung 2.** HPL-Chromatogramm nach enzymatischem Verdau des belichteten **S0/S1** Duplex. Rechts ist eine Auswahl der synthetisierten Stränge mit 5-Br-dU und dem neuen Donor **D** dargestellt.

Die Synthese und Zugabe von isotope markiertem 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> erlaubte schließlich eine massenspektrometrische Quantifizierung der Debromierung per HPLC-MS.<sup>[14]</sup> Es konnte dadurch eine schnell abfallende Debromierungseffizienz für kurze Elektronentransferdistanzen bestimmt werden (Abbildung 3), was durch einen  $\beta$ -Wert von  $0.36 \text{ \AA}^{-1}$  repräsentiert wird.

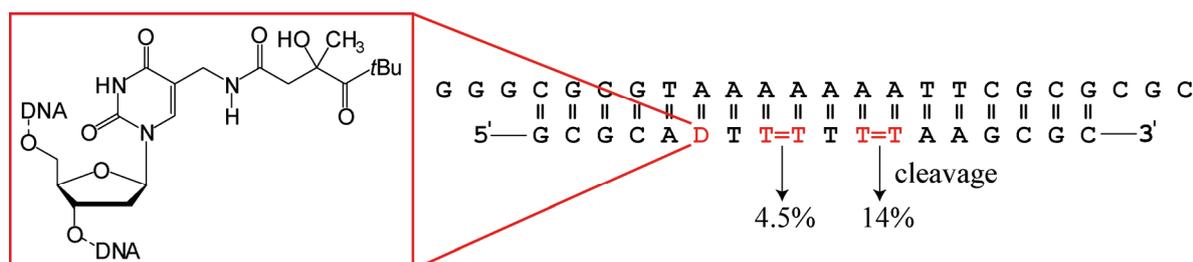


**Abbildung 3.** Debromierungsanalyse der Stränge **S0/S1-S4**. Die Debromierung nimmt mit steigender Anzahl dazwischenliegender Thymidine stark ab. Der grosse  $\beta$ -Wert ( $0.36 \text{ \AA}^{-1}$ ) repräsentiert eine starke Distanzabhängigkeit des  $e^-$ -Transfers.

Die lineare Regression an exponentiell distanzabhängige Daten deutet auf direkte Übertragungsmechanismen hin.<sup>[15]</sup> Für weite Elektronentransferdistanzen zeigte das System jedoch noch zu wenig Auflösungsvermögen, was aber über das Design der Experimente noch verbessert werden könnte. Mit dieser Arbeit wurde ein neuer Donor mit exakt untersuchten Eigenschaften geschaffen, was den Weg für weitere Experimente in Kombination mit 5-Br-dU als effiziente Elektronenfalle geebnet hat.

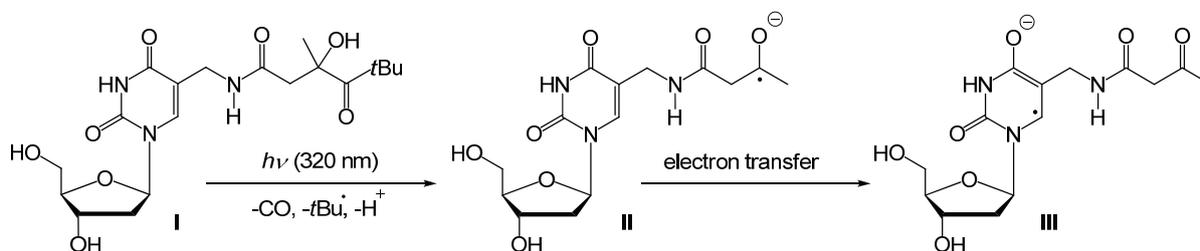
## Summary

Since as early as 1962, the DNA duplex with its densely packed  $\pi$ -orbitals was considered as a possible conductive medium.<sup>[1]</sup> The ability of DNA to self-organise into highly defined 3-dimensional structures and the potential to intentionally create these structures<sup>[2-3]</sup> hastened the scientific community to examine electron transfer along DNA in detail during the last 20 years.<sup>[4-5]</sup> Hole transfer has been shown to occur over distances up to 200 Å, fueling the idea that electron transfer might have important biological roles such as DNA damage detection.<sup>[6]</sup> Furthermore, DNA chips have been developed using electron transfer along DNA as a read out.<sup>[7]</sup> Intensive examinations of excess electron transfer in DNA have, however, only started in the last ten years, when highly defined model systems were developed.<sup>[8-9]</sup> These model systems often contained CPD-photosesions (T=T dimer) as electron detectors.<sup>[10]</sup> In addition to the CPD lesion, new irreversibly electron capturing acceptors such as 5-Br-dU were found to be excellent electron traps.<sup>[4]</sup> In most of the studies on excess electron transfer injection was based on photoexcited donors that can undergo multiple photocycling. To exclude side effects such as back electron transfer, Carell and Giese developed a single electron ground state donor, which was applied in combination with the CPD-photosesion (Figure 1).<sup>[11]</sup>



**Figure 1.** Ground state donor **D** as it was developed by Giese and Carell for the examination of excess electron transfer along DNA. Opening of the CPD (T=T dimer) was used to detect the excess electrons.

The injection mechanism of this donor is triggered by a *Norrish-type-I* reaction at a wavelength of about 320 nm. As 5-Br-dU can be photolytically cleaved at wavelengths up to slightly above 300 nm, the donor could not be applied together with this efficient electron trap (*Scheme 1*).<sup>[12]</sup>

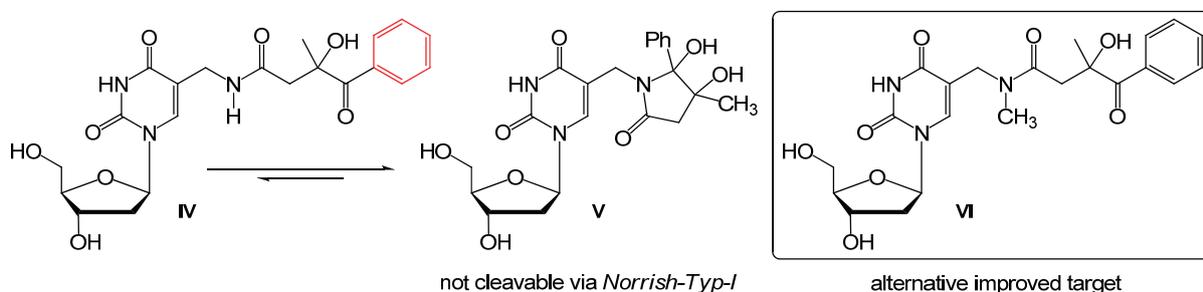


**Scheme 1.** Norrish-type-I reaction of the already established donor **I**. A ketyl radical **II** is generated by photocleavage at a wavelength of 320 nm. The highly reducing ketyl radical can then transfer an electron to the thymine nucleobase (**III**).

This work presents the development of a new donor, whose synthesis is based on the former ground state donor developed by Carell and Giese. In contrast to its precursor the new donor contains a

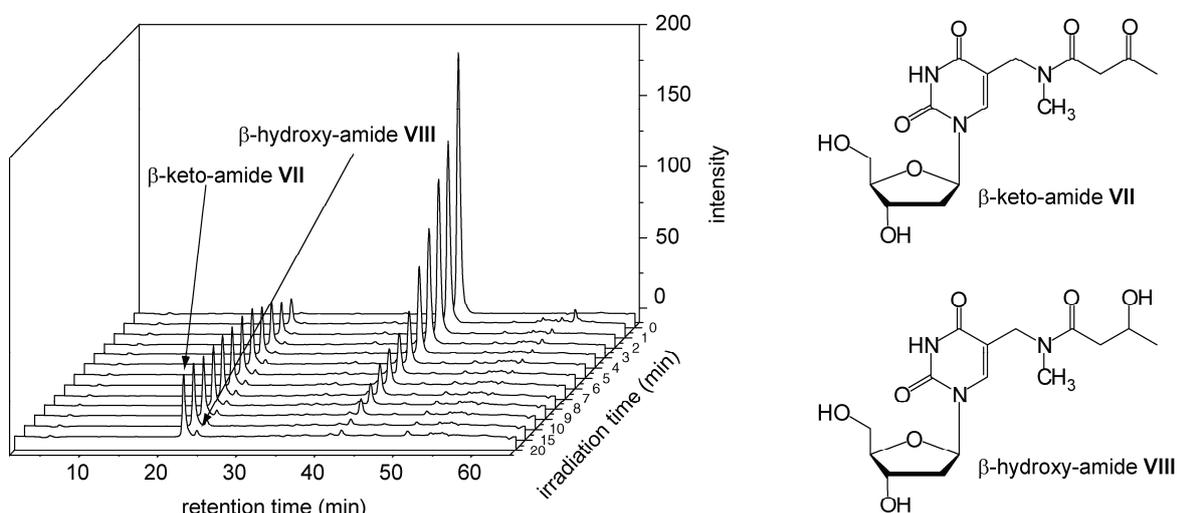
phenone moiety instead of a pivaloyl moiety. The new modification allows the *Norrish-type-I* cleavage to be triggered at 355 nm instead of 320 nm.

The initial design of the new donor **IV** was, however, shown by HMBC-NMR to be ineffective for the photocleavage at 355 nm as the phenone formed an inactive lactam **V** (Scheme 2). The synthesis of a tertiary amide functionality (**VI**) was carried out to inhibit the formation of the lactam.



**Scheme 2.** Within this work a new donor **IV** containing a phenone moiety was synthesized, however, it could not be cleaved at a wavelength of about 355 nm. HMBC-NMR revealed the formation of an inactive lactam **V**. As a consequence the synthesis was modified. The synthesis of a tertiary amide **VI** was carried out to inhibit the formation of the lactam.

Irradiation of the acyloin was indeed successful, giving two expected products.<sup>[13]</sup> The  $\beta$ -keto-amide **VII** was found to be the main product in addition to a minor  $\beta$ -hydroxy-amide product **VIII**. As the ratio of the two products reveals how efficiently electrons are transferred to the thymidine moiety, detailed analyses of the product formation were undertaken. Both products were synthesized, the extinction coefficients were determined and their HPLC retention times were compared (Figure 2).

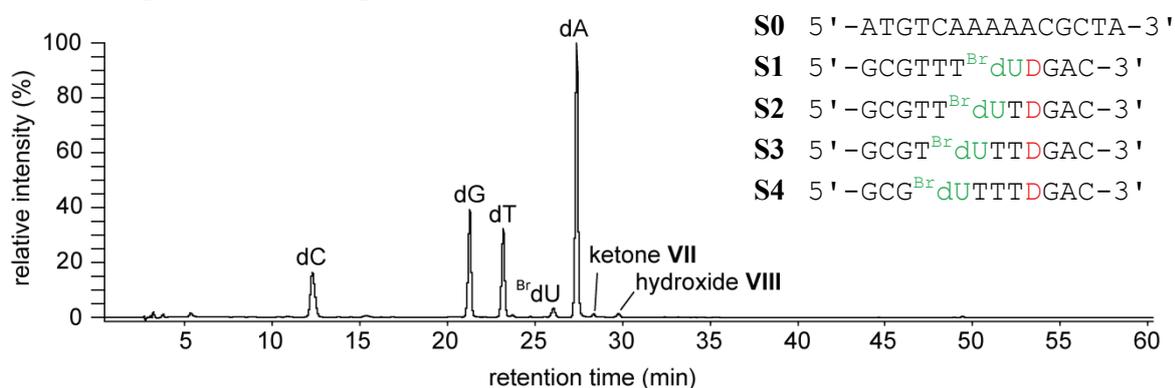


**Figure 2.** Irradiation of the donor in MeOH/H<sub>2</sub>O and subsequent HPLC analyses. Two products were found, the  $\beta$ -hydroxy-amide **VIII** and the  $\beta$ -keto-amide **VII**.

The incorporation of the donor and of 5-Br-dU into DNA was carried out by typical phosphoramidite chemistry with no protecting group applied for the acyloin functionality. The synthesized strands **S1-S4** were purified by HPLC.

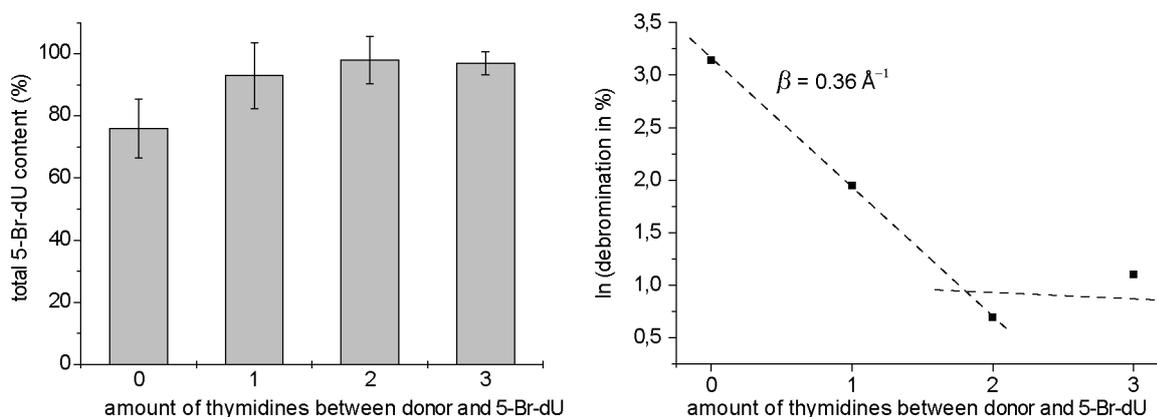
Chromatographic analyses of the irradiated strands revealed product mixtures which were difficult to interpret. As an alternative, the irradiated DNA strands were enzymatically hydrolysed to obtain single

nucleosides which could be separated by HPLC much more easily than the complete DNA strands (Figure 3). However, the low concentration of 5-Br-dU hindered a debromination quantification that could be implemented by comparing the ratios of 5-Br-dU with the other nucleosides.



**Figure 3.** HPL-chromatogram of the S0/S1 Duplex after enzymatic hydrolysis. Right: A selection of the synthesized DNA strands with 5-Br-dU and the new donor D.

Finally, the synthesis and addition of isotopically labeled 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> enabled a quantification by mass spectroscopy.<sup>[14]</sup> A highly distance dependent debromination efficiency was found, which was represented by a  $\beta$ -value of 0.36 Å<sup>-1</sup> (Figure 4).



**Figure 4.** Left: 5-Br-dU content of irradiated strands. The debromination is found to be strongly dependent on the distance to the donor. Right: As an alternative representation the exponential dependence of direct electron transfer is shown by a linear fit. The high  $\beta$ -value of 0.36 Å<sup>-1</sup> corresponds to a highly distance dependent electron transfer.

The high distance dependence corresponds to a direct transfer mechanism such as tunneling or superexchange.<sup>[15]</sup> For longer transfer distances (> 13.6 Å) the new system shows yet insufficient resolution and must be further improved.

In this work a new donor was developed and its photocleavage was examined in detail. The possibility of using this donor in combination with 5-Br-dU as an efficient electron trap paves the way for further research in this area.



## 1. Einführung

Die DNA (*Deoxyribonucleic acid*) ist das Erbgut fast aller existierenden Lebewesen. Ihre Zusammensetzung basiert hauptsächlich auf den vier Nukleotiden (Adenosin, Thymin, Guanin und Cytidin), deren Reihenfolge die Erbinformation ausmacht. Trotz der frühen Entdeckung der DNA im Jahre 1869 durch den Schweizer Friedrich Miescher blieb die Rolle der DNA als Erbgut bis ins Jahre 1944 unbekannt. Oswald Avery entschlüsselte die DNA als Informationsträger bei der Transformation nicht-virulenter Bakterien zu Krankheitserregern, wenn diese mit toten, zuvor infektiösen, Bakterinstämmen zusammengebracht wurden.<sup>[16-17]</sup> Neun Jahre später publizierten Francis Crick und James Watson die Struktur der Doppelhelix<sup>[18]</sup> mithilfe der Daten, die Rosalin Franklin erhalten hatte.<sup>[19]</sup> Ergebnisse von Phoebus Levene (Zusammensetzung der DNA)<sup>[20-21]</sup> und von Alexander Todd (Reaktivität und Synthese von Nukleotiden)<sup>[22]</sup> trugen dabei wesentlich zur Strukturaufklärung bei.

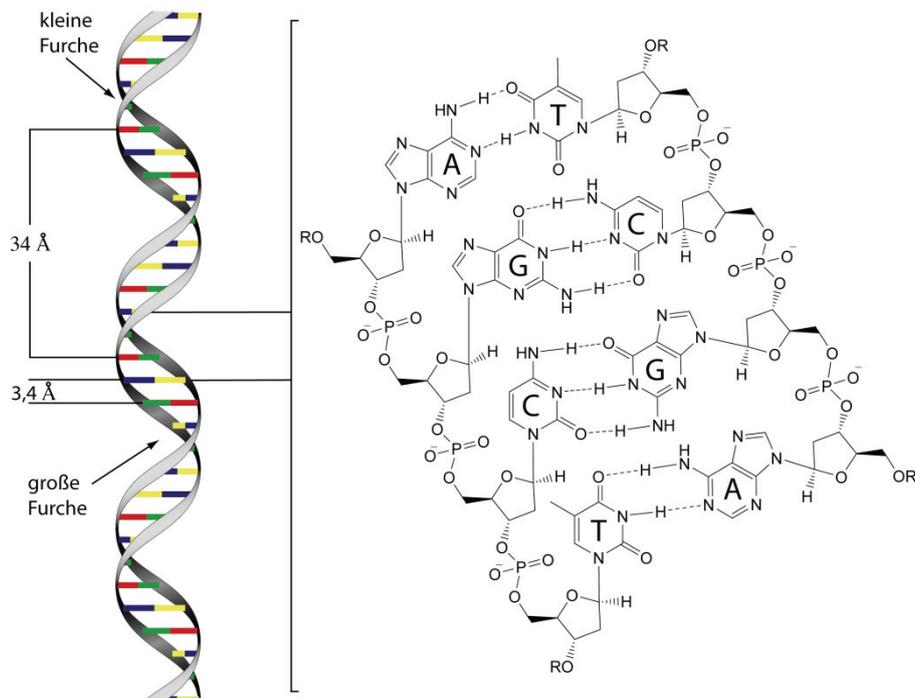


Abbildung 4. Helixstruktur und Basenpaare der DNA.<sup>[23]</sup>

Die Nukleotide sind über Phosphodiester miteinander verknüpft. Zwei dieser Biopolymere bilden einen Duplex in Helixform, wobei die Phosphodiester das Rückgrat bilden. Die apolaren Basen werden durch den hydrophoben Effekt zur Basenstapelung gezwungen. Jeweils zwei Nukleotide bilden Basenpaare (A-T bzw. G-C), die über Wasserstoffbrücken verbunden sind (Abbildung 4). Durch die Präsenz der Basenpaare ist die Erbinformation in jedem Duplex quasi doppelt vorhanden, was das Kopieren des genetischen Materials ermöglicht.<sup>[24]</sup> Trotz dieser Versicherung treten immer wieder DNA-Schäden auf.

## 1.1 Relevanz des Ladungstransfers in DNA

DNA Schäden werden durch eine Vielzahl möglicher Faktoren wie z. B. alkylierende Chemikalien, Oxidantien, UV-Licht, Röntgen-Strahlung oder Replikationsfehler verursacht (Abbildung 5).

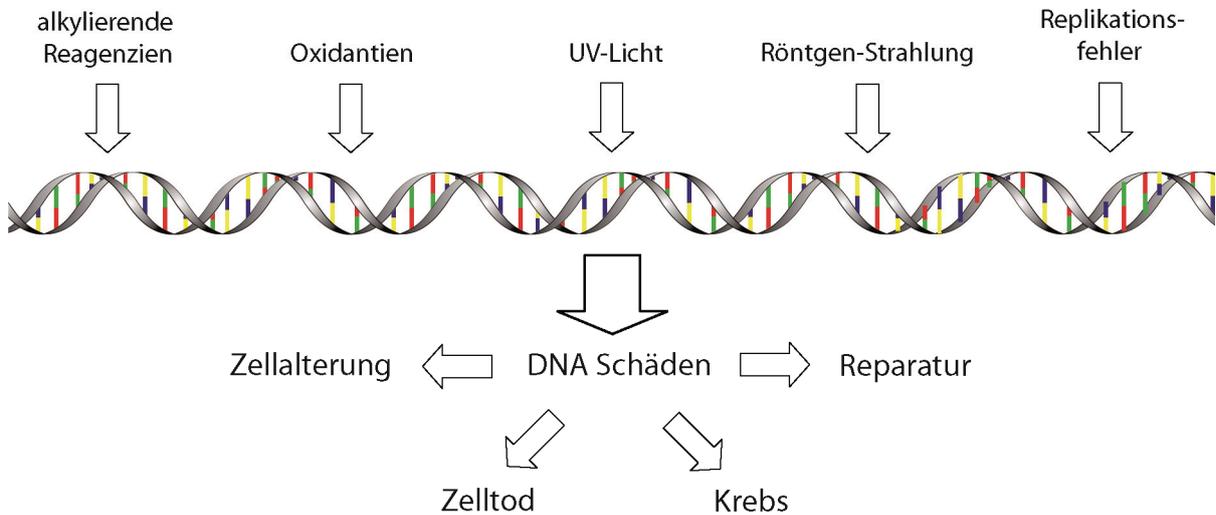
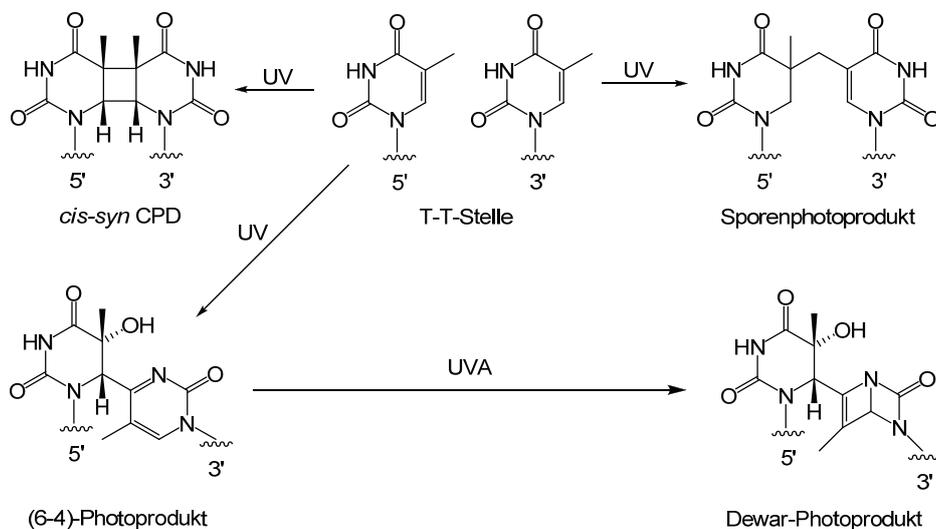


Abbildung 5. Ursachen von DNA-Schäden und mögliche Folgen.

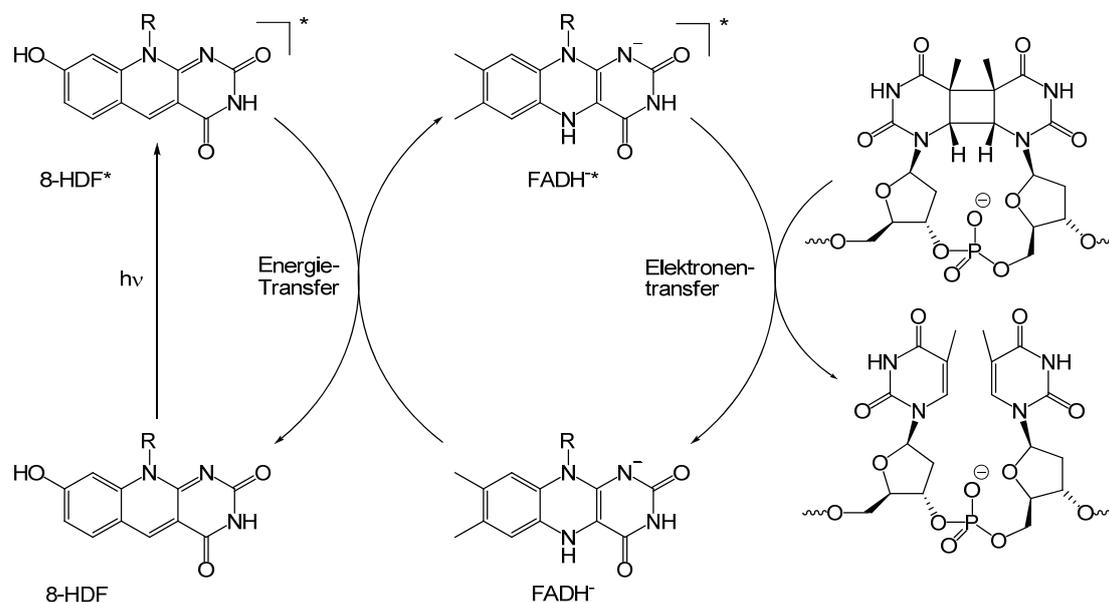
In Abhängigkeit des Schadens stehen der Zelle verschiedene Reparaturmechanismen zur Verfügung. Diese beinhalten Basen- bzw. Nukleotid-Exzisionsreparatur, homologe Rekombination, nicht-homologe Enden-Verknüpfung und direkte Reparaturmechanismen.<sup>[25]</sup> Können Schäden nicht repariert werden, führt dies zu Zelltod, irreversiblen Zellteilungsstillstand oder unkontrolliertem Wachstum (Krebs).<sup>[26-28]</sup> Besonders bei Hautkrebs ist das Cyclo-Pyrimidin-Dimer (CPD bzw. T=T-Dimer) der prominenteste Photoschaden, gefolgt vom (6-4)-Photoprodukt und dem daraus entstehenden Dewar-Photoprodukt.<sup>[29-30]</sup> Das Sporenphotoprodukt ist unter den UV-Schäden ein Spezialfall, der bisher nur in Sporen vorgefunden wurde (Schema 4).<sup>[31]</sup>



Schema 4. Die häufigsten UV-Schäden aus benachbarten Thyminen.

## 1. Einleitung

Im Falle des T=T-Dimers ließen sich bisher zwei Reparaturwege feststellen. Zum einen handelt es sich um die Nukleotidexzisionreparatur und zum anderen um die direkte Reparatur durch Photolyase-Enzyme.<sup>[32-34]</sup> Letztere und insbesondere ihre sequenzhomologen Verwandten, die Cryptochrome, wurden in allen Teilen des phylogenetischen Baumes (Bakterien, Archea und Eukaryoten)<sup>[35]</sup> vorgefunden. Das deutet auf ihre enorme biologische Relevanz hin.<sup>[33]</sup> In ihren aktiven Zentren tragen diese Enzyme Cofaktoren, die durch Lichtanregung in einen reduzierten Zustand gelangen können. Bekannte Cofaktoren sind Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), 8-Hydroxy-5-Deazariboflavin (8-HDF) oder 5,10-Methenyltetrahydrofolat (MTHF). Die Reduktion von FAD durch Photooxidation ist wichtig um den FAD Cofaktor in den aktiven  $\text{FADH}^-$ -Zustand zu überführen. Für diesen Prozess sind Tryptophane entscheidend.<sup>[33, 36]</sup>



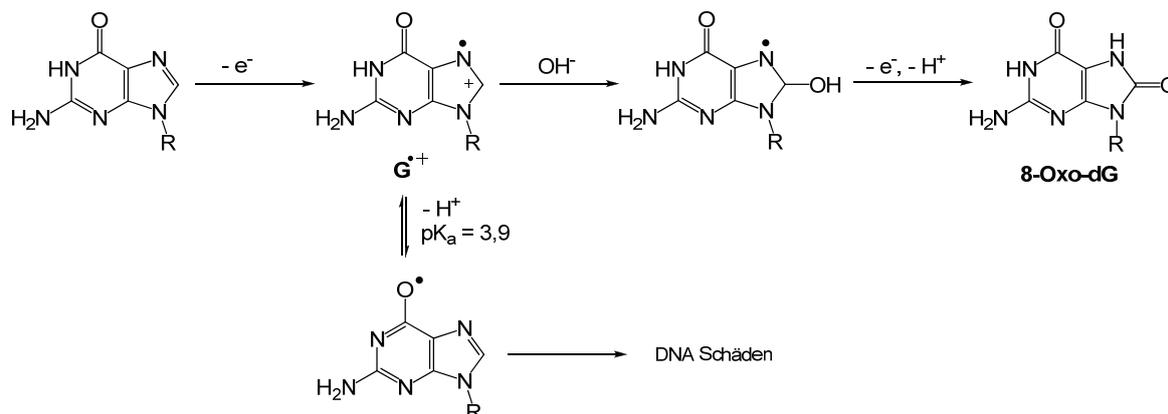
**Schema 5.** Reparaturmechanismus in Photolyasen. Energietransfer von angeregten 8-HDF\* zum  $\text{FADH}^-$ , was zu einer Reduktion und anschließender Öffnung des CPD-Schadens führen kann.<sup>[37]</sup>

Das resultierende  $\text{FADH}^-$  kann schließlich in einer weiteren Photoanregung (meist durch gekoppelten Energietransfer von einem anderen Cofaktor) Elektronen auf den Photoschaden übertragen werden, wodurch dieser sich in das entsprechende Dipyrimidin-Dinukleotid (in Schema 5 am Beispiel vom CPD-Schaden) zurücköffnet. Dieser sogenannte Überschuss- bzw. reduktive Elektronentransfer steht dem Loch- bzw. oxidativen Transfer gegenüber, wobei angemerkt werden muss, dass es sich bei der Schadensreparatur wegen der hohen Katalysegeschwindigkeit wahrscheinlich nicht um einen Elektronentransfer entlang der DNA sondern auf den Schaden selber handelt.<sup>[38]</sup>

Lochtransfer wird durch Oxidation der DNA ausgelöst, was oxidative DNA-Schädigung zur Folge haben kann. Auslöser der Oxidation sind ionisierende Strahlung, Photosensibilisatoren, UV- oder Sonnenlicht oder verschiedene Mutagene.<sup>[39]</sup> Diese Oxidationsmittel erzeugen meist durch Elektronenabstraktion Guanosinradikalkationen, die mit einem pKa von 3.9 bei physiologischem pH deprotonieren können.<sup>[40-41]</sup> In einer Folgereaktion kann das neutrale Radikal mit den Oxidantien rekombinieren und den entsprechenden DNA-Schaden bilden. Alternativ kann das erzeugte

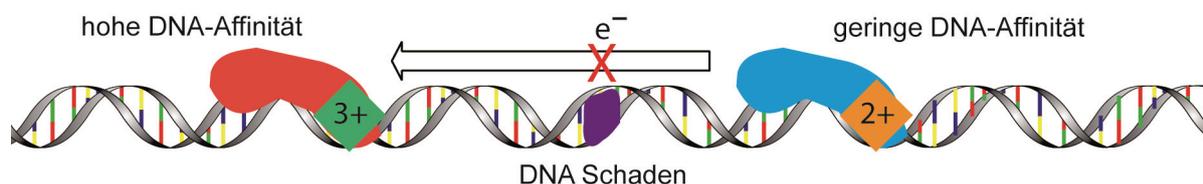
## 1. Einleitung

Radikalkation weiterwandern, wodurch die Position des potentiell resultierenden Schadens von der Stelle der ursprünglichen Oxidation abweicht (Schema 6).



**Schema 6.** Bildung des Guanidinradikalkations  $G^+$  und mögliche Zersetzungsweg insbesondere zum häufig gebildeten 8-Oxoguanosin 8-Oxo-dG. Langstrecken-Lochtransfer kann auf Stufe des Radikalkations  $G^+$  stattfinden.

Loch-Transferdistanzen bis zu  $200 \text{ \AA}$ <sup>[42-43]</sup> wurden gemessen, weshalb der oxidative Elektronentransfer als Signalübertragungsmechanismus über Langstrecken fungieren könnte.<sup>[44]</sup> Redox-aktive Basen-Exzision-Reparatur-Enzyme könnten so zum Beispiel untereinander kommunizieren und die DNA nach Schäden scannen (Abbildung 6). In anderen Fällen wird diskutiert, ob oxidative DNA Schäden den Transkriptionsfaktor SoxR aktivieren und damit die Transkription von SoxS auslöst.<sup>[6]</sup> Letzteres induziert eine massive Zellantwort auf oxidativen Stress.

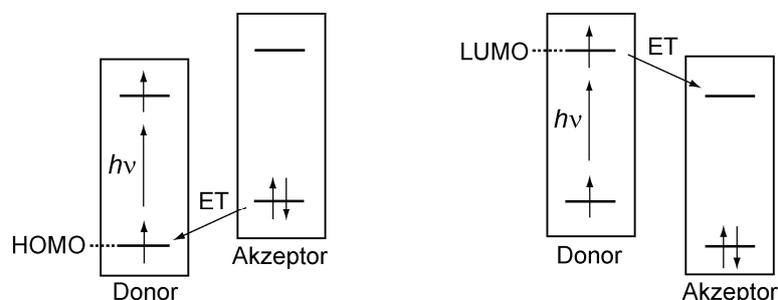


**Abbildung 6.** Redox-aktive Basen-Exzision-Enzyme könnten untereinander über Lochtransfer kommunizieren und die DNA nach Schäden (violett) absキャンen. Der Scanprozess ließe sich über ein Elektronenhopping zwischen 3+ Protein und 2+ Protein beschreiben, die je nach Oxidationszustand fest oder nur kaum an die DNA gebunden sind. Ein Schaden würde zu einem schlechteren Lochtransfer und zu einer Akkumulation des DNA-affinen 3+ Proteins am Schaden führen, da dieses sich nicht mehr von der DNA lösen kann. Somit könnten Reparaturmechanismen an der Schadenstelle eingeleitet werden.<sup>[6]</sup>

Die potentielle Leitfähigkeit und das Verständnis des selbstorganisierenden Charakters der DNA, das in Rothemunds Origamikonstrukten<sup>[2]</sup> beeindruckend demonstriert worden ist, schürt die Hoffnungen der Forscher, das Biopolymer als Baustein von komplexen elektrischen Schaltkreisen im unteren Nanometerbereich einzusetzen.<sup>[3, 45-46]</sup> Obwohl die Leitfähigkeit der DNA zu solchen Zwecken wohl zu gering ist,<sup>[47]</sup> konnten bereits einfache elektrochemische DNA-Sensoren für Mutationen, Basenschäden und Proteinbindung entwickelt werden.<sup>[7, 48]</sup> Dabei muss angemerkt werden, dass je nach Experiment die DNA als Isolator,<sup>[49]</sup> Halbleiter,<sup>[50]</sup> elektrischer Leiter,<sup>[51]</sup> molekularer Draht<sup>[52]</sup> oder gar als Supraleitung<sup>[53]</sup> tituliert wird. Die extreme Bandbreite an Ansichten zeigt die Unsicherheit innerhalb des Gebiets.<sup>[54]</sup>

## 1.2 Redoxpotentiale und Ladungstransfer-Typen

Welcher Art von Elektronentransfer vorliegt (Überschuss- bzw. Lochtransfer), hängt von den beteiligten Orbitalen bzw. vom Ladungsdonor ab. Lochtransfer ist ein HOMO-kontrollierter Prozess, wobei aus dem energiereichsten Orbital ein Elektron entfernt wird. Dagegen steht der Überschuss-transfer, dessen Elektronen über die LUMO Orbitale transportiert werden (Abbildung 7).



**Abbildung 7.** Orbitalkontrolle der Lochgenerierung (l.) bzw. Elektroneninsertion (r.) bei photoangeregten Donoren.

Die Abstraktion eines Elektrons aus einem HOMO-Orbital entspricht einer Oxidation, weshalb der Lochtransfer über das am einfachsten zu oxidierende DNA-Nukleosid Guanosin abläuft. Aus dem gleichen Grund finden die meisten oxidativen Schäden am Guanosin statt. Die Reduktion der DNA, also die Übertragung eines Elektron in ein LUMO-Orbital, findet jedoch an den Cytidinen und Thymidinen statt. Die experimentell bestimmten Oxidations- und Reduktionspotentiale von DNA-Nukleosiden weichen stark untereinander ab, was den unterschiedlichen Messmethoden und Bedingungen geschuldet ist (Tabelle 1).

Methode	Lsgm.	Nukleosid-Ox.-Potentiale (V vs. NHE)				Ref.
		dG	dA	dC	dT	
Pulse-Radiolyse	H <sub>2</sub> O, pH 7	1.29	1.42	1.6	1.7	[55]
elektrochemisch	CH <sub>3</sub> CN	1.49	1.96	2.14	2.11	[56]
elektrochemisch	DMSO	1.44				[57]
	CHCl <sub>3</sub>	1.62				[57]
	CHCl <sub>3</sub> + dC	1.28				[57]
Zeit-aufgelöstes Quenchen	H <sub>2</sub> O	0.97	1.20			[58]
elektrochemisch	DMF	1.52				[59]
Pulse-Radiolyse	H <sub>2</sub> O, DNA	1.22				[60]
elektrochemisch	H <sub>2</sub> O, pH 7	1.07	1.18	1.26	1.21	[61]
DFT	organisch	1.88	2.01	2.18	2.25	[62]
	organisch + dC	1.48				[62]
	organisch + dT		1.81			[62]

**Tabelle 1.** Experimentelle und berechnete Oxidationspotentiale der Nukleoside. Gerade Messungen in wässrigen Pufferlösungen müssen sehr vorsichtig betrachtet werden, da Protonen gekoppelte Reduktionen stattfinden können.

## 1. Einleitung

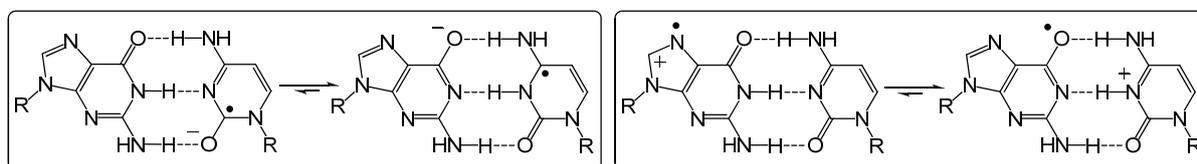
Wasserstoffbrücken, pH-Wert, Basenstapelung und protonengekoppelter Elektronentransfer, etc. beeinflussen die Potentiale massiv, was je nach Anwendung berücksichtigt werden muss.

Generell lässt sich eine Tendenz in der Reduzierbarkeit der Nucleoside in folgender Reihenfolge feststellen:  $dU > dT \sim dC > dA > dG$ , wobei es sich für die Oxidation genau umgekehrt verhält. In der Literatur gibt es viel weniger Daten zu den Reduktionspotentialen. In Tabelle 2 erkennt man zudem extreme Differenzen von über einem ganzen Volt. Da die Messung des -1.1 V Reduktionspotentials von Steenken *et al.*<sup>[63]</sup> in Wasser gemessen wurde, ist ein protonengekoppelter Elektronentransfer wahrscheinlich<sup>[56, 64-65]</sup> und die negativeren Werte von -2.14 bzw. -2.19 V realistischer für Überlegungen rund um den Überschuss-Elektronentransfer in DNA. Der protonengekoppelte Elektronentransferprozess hat massive Auswirkungen auf die Überschuss-Elektronentransfer-effizienz innerhalb der DNA. In mehreren Gruppen wurde ein sequenzabhängiger Überschusselektronen-

Methode	Lsgm.	Nucleosid-Red.-Potentiale (V vs. NHE)						Ref.
		dG	dA	dC	dT	U	<sup>Br</sup> dU	
Pulse-Radiolyse	H <sub>2</sub> O, pH ~8.6			-1.15	-1.15			[63]
Fluoreszenz-Quenching	CH <sub>3</sub> CN			-2.17	-2.16			[66]
elektrochemisch	DMF	-2.76	-2.45	-2.23	-2.14	-2.07		[56]
elektrochemisch	DMF			-2.48	-2.35	-1.86	-1.82	[67]
polarographisch	H <sub>2</sub> O, pH ~7.0						-1.64	[68]
DFT	organisch	-3.0	-2.71	-2.56	-2.32			[62]
	organisch + A						-2.19	[62]

**Tabelle 2.** Experimentelle und berechnete Reduktionspotentiale. Die Reduktionspotentiale bei -1.15 V werden auf einen Protonen-gekoppelten Elektronentransfer zurückgeführt.

transfer vorgefunden, wobei GC-Paare den Transfer bremsten.<sup>[69-72]</sup> In ähnlicher Art und Weise findet beim Lochtransfer eine Protonenübetragung (Schema 7) zwischen Guanosinradikalkation und Cytidin statt.<sup>[73]</sup> Die Reversibilität dieses Prozesses spiegelt sich in dem Fakt, dass der Lochtransfer über



**Schema 7.** Protonierungsgleichgewichte im Überschuss- (links) und Lochtransfer (rechts).

einzelne GC-Basenpaare zwar verlangsamt aber nicht blockiert wird, sondern geradezu diese Basenpaare als Schlüsselpositionen benutzt. Die Mobilität eines „Lochs“ ist zudem in Poly-GC-Sequenzen immer noch höher als in gemischten Sequenzen.<sup>[74]</sup> Die pH-Abhängigkeit<sup>[55-56, 62]</sup> der Redoxpotentiale passt dabei mit den vorgefundenen Sequenzabhängigkeiten perfekt ins Bild.

## 1. Einleitung

---

Nicht nur die Basenpaarbildung und Protonentransfer zwischen den Nucleosiden haben Einfluss auf die Redoxpotentiale, sondern auch die benachbarten Basenpaare. Das Redoxpotential eines Nucleotids ändert sich je nach Sequenz. Derartige Beobachtungen wurde sowohl errechnet als auch direkt beobachtet (Tabelle 3).<sup>[75-78]</sup> Die Absenkung des Oxidationspotentials hat zur Folge, dass in G-reichen

Basenfolge	$E^{\circ}_{\text{ox}}$ vs. NHE (V)
5'- <u>G</u> T-3'	1.16
5'- <u>G</u> C-3'	1.15
5'- <u>G</u> A-3'	1.00
5'- <u>G</u> G-3'	0.82
5'- <u>G</u> GG-3'	0.64

**Tabelle 3.** Einfluss der Sequenz auf das Oxidationspotential von Guanidin.

Sequenzen vermehrt oxidative Schäden auftreten. Solche „Kationenfallen“ könnten eine Rolle beim Schutz der DNA spielen, indem per Ladungstransfer Löcher von wichtigen Gensequenzen in diese energetischen Senken gelenkt werden.<sup>[79-80]</sup>

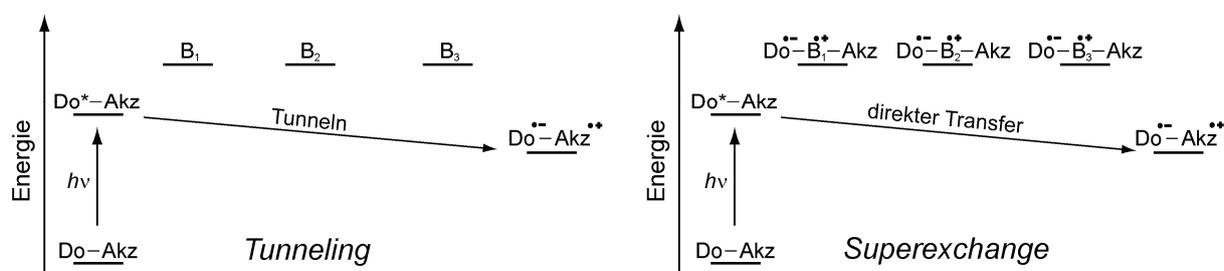
G-reiche Sequenzen wurden speziell in Introns<sup>[81]</sup> und den Telomeren<sup>[82]</sup> vorgefunden, wodurch die Exons und im entfernten Sinne die Proteinsynthesen, vor Mutationen geschützt werden könnten.

### 1.3 Transfer-Mechanismen

Das Gros des Wissens über die Mechanismen des Elektronentransfers stammt von Lochtransferstudien. Obwohl der Transfer über die Basen der DNA breit akzeptiert ist,<sup>[15]</sup> wird der Transfer über das Phosphatrückgrat immer wieder diskutiert.<sup>[83]</sup> Die nachgewiesene Delokalisierung eines „Lochs“ auf ein einzelnes Phosphat bekräftigt zwar diese Theorie, aber ob dieser Prozess zur Leitfähigkeit der DNA beiträgt bleibt unklar. In Vergleichsmessungen konnte zudem diese Delokalisierung nicht nachgewiesen werden.<sup>[84]</sup> Weiter sprechen die oxidativen Schäden, die vorallem an den DNA-Basen vorgefunden werden, gegen das Phosphatrückgrat-Leitvermögen. Berechnungen der HOMO-Orbitale von Nukleotiden konnten diese klar auf den Nukleobasen lokalisieren.<sup>[85]</sup> Massive Einbrüche in der Leitfähigkeit durch DNA-Schäden, die die Basenstapelung stören, unterstützen auch das Basenleitmodell.<sup>[86-87]</sup> Alternativ ließe sich auch eine molare Leitfähigkeit entlang der DNA erklären, da diese von mehreren Lagen hochpolarisierten Wassermolekülen und hydratisierten Kationen und Anionen umgeben ist.<sup>[88]</sup> Diese Art von Leitfähigkeit kann stattfinden und muss natürlich bei Experimenten ausgeschlossen werden können.<sup>[89]</sup> Eine geringe Abhängigkeit des Weitstrecken-Elektronentransfers von Ionenstärke, pH oder Salzkomponenten deuten ebenfalls klar auf den Transfer durch die Nukleobasen hin.<sup>[64]</sup> Welche Mechanismen dem zugrundeliegen könnten, wird in den folgenden Kapiteln diskutiert.

#### 1.3.1 Das Tunneling und Superexchange-Modell

Viele Transferexperimente zeigen für Kurzstreckentransfer eine weitaus höhere Distanzabhängigkeit als bei Weitstreckentransfer. Das fällt besonders in Systemen auf, in denen Donoren und Loch- bzw. Elektronakzeptoren nahe beieinanderliegen, wodurch ein direkter Elektronentransfer von Donor zu Akzeptor (bzw. umgekehrt) ermöglicht wird. Eine andere Beobachtung von Giese *et al.* zeigte, dass die Schädigung durch Lochtransfer in einem GGG-Sequenzabschnitt mit jedem zusätzlichen AT-Basenpaar um das 10-fache absinkt, was ebenfalls auf einen direkten Transfer zwischen entfernt liegenden GC-Basenpaaren ohne Lokalisierung des Lochs in den überbrückenden AT-Paaren hindeutet (Schema 8).<sup>[90]</sup>



**Schema 8.** Lochtransfer mit einem angeregten Donor. Links: Tunneling durch eine im Vergleich zum Donor und Akzeptor höher-liegende DNA-Brücke, wobei die Ladung nicht auf der Brücke lokalisiert wird. Rechts: Superexchange mit virtuellen Ladungslokalisierungen auf den Brücken-Nukleobasen. (Do = Donor, Akz = Akzeptor, B = DNA-Brücken)

## 1. Einleitung

---

Damit ein Loch bzw. Elektron beim Tunneling-Mechanismus direkt von Donor zu Akzeptor bzw. Guanosin zu Guanosin springt, müssen die Energieniveaus miteinander gekoppelt sein, so wie es durch die  $\pi$ -Stapelung gegeben ist. Je grösser die Distanz zwischen den Aufenthaltsorten, umso geringer die Kopplung bzw. umso kleiner die Elektronentransferrate  $k$ . Die *Marcus-Levich-Jortner*-Beziehung beschreibt dieses Verhalten in Abhängigkeit von der Brückenlänge  $r$ :

$$k = \frac{2\pi}{\hbar} V_0^2 (FC) e^{-\beta r}$$

(FC = Franck-Condon-Faktor,  $V_0$  = Energiekopplungsterm,  $\beta$  = Distanzabhängigkeitsfaktor)

Der Superaustausch-Mechanismus ist eine Alternative zum Tunneling, wobei eine virtuelle Lokalisierung der Ladung auf der Brücke zugelassen wird, obwohl diese energetisch höher liegt als das Ausgangsniveau.<sup>[91]</sup> Ähnlich zur *Marcus-Levich-Jortner*-Beziehung lässt sich eine exponentielle Abhängigkeit der Transferrate von der Distanz bzw. der Anzahl an Basenpaaren  $N$  beschreiben,<sup>[92]</sup> wobei die Werte für  $\bar{\beta}$  von der Basensequenz und dem Transfertyp abhängen:

$$k \sim e^{-\bar{\beta} N}$$

Die DNA ist keine absolut rigide Struktur, sondern unterliegt einer Dynamik, die zur Unterbrechung der elektronischen Kopplung zwischen den Basen führen kann.<sup>[93-95]</sup> Dadurch ist für einen Superaustausch über 4 - 6 Basen die Orbitalüberlappung zu klein. Für Weitstreckentransfer muss ein anderer Mechanismus dominieren: der *Hopping*-Mechanismus.<sup>[54]</sup> Wann der Wechsel von *superexchange* zu *hopping* stattfindet, hängt von der elektrischen Kopplung mit den benachbarten Basen, der Temperatur und dem Energieunterschied zwischen Ausgangszustand und der nächsten Base ab.<sup>[91, 96]</sup> Obwohl für weite Transferdistanzen der Superaustausch Mechanismus nicht gültig ist, wird zur Beschreibung der Transfereffizienz der  $\beta$ -Wert verwendet.

Donor	$\beta$ -Werte in $\text{\AA}^{-1}$	Messbereich in $\text{\AA}$
Iridium-Komplex <sup>[97]</sup>	0.12 und 0.10	10.2 - 37.4
1. Flavin <sup>[98]</sup>	0.11	13.6 - 23.8
2. Flavin <sup>[99]</sup>	0.25	6.8 - 17.0
3. Flavin, PNA:DNA <sup>[100]</sup>	0.16	6.8 - 30.6
2. Aminopyren <sup>[67]</sup>	0.22	10.2 - 27.2
3. Pyrenamid <sup>[101]</sup>	0.26	10.2 - 23.8
	> 1	3.4 - 6.8
4. Pyren, RNA <sup>[102]</sup>	0.05	10.2 - 27.2
	0.6	3.4 - 10.2
Phenothiazin <sup>[103]</sup>	0.1	3.4 - 13.6
Diaminonaphthalin <sup>[104]</sup>	0.3	0.34 - 20.4

*Tabelle 4.  $\beta$ -Werte von Überschusselektronentransfer-Studien.*

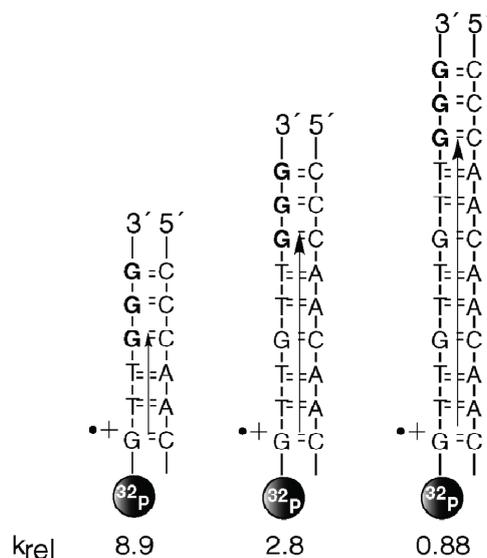
In Tabelle 4 sind die vorgefundenen  $\beta$ -Werte für den reduktiven Elektronentransfer zusammengefasst. Dabei fallen für kleine Transferdistanzen grosse  $\beta$ -Werte und für Distanzen  $> 6.9 \text{ \AA}$  kleine Werte an, was als eine doppelt exponentielle Distanzabhängigkeit beschrieben werden kann.<sup>[102]</sup> Das entspricht dem Wechsel im Transfermechanismus, der von anfangs direktem Transfer zu einem Hopping-Prozess übergeht. Bei kleinen Distanzen muss berücksichtigt werden, dass der  $\beta$ -Wert mit dem  $\bar{\beta}$ -Wert aus der *Marcus-Levich-Jortner-Beziehung* meistens nicht übereinstimmt, da in vielen Experimenten mit photoangeregte Donoren Ladungsrekombinationsprozesse miteinbezogen sind.

### 1.3.2 Das Hopping-Modell

Im *Hopping* Prozess spielt die Lokalisierung der Ladung auf einzelnen Nukleobasen eine wichtige Rolle. Ladungstransfer geschieht im Gegensatz zum *Superexchange* nicht über einen grossen Sprung, sondern ist ein Prozess mit multiplen Schritten, im Prinzip *Tunneling* von Nukleobase zu Nukleobase.<sup>[105]</sup> Treibende Kraft des *Hoppings* ist die thermische Anregung der Ladung, die in den lokalisierten Bandzuständen gefangen ist.<sup>[106]</sup> Dadurch können die Ladungen von einem Zustand in den Nächsten über einen *Tunneling*-Mechanismus springen. Unter der Annahme, dass jeder *Hopping* Schritt über die gleiche Distanz stattfindet und sequenzunabhängig ist, erfährt der Elektronentransfer eine geringe Distanzabhängigkeit, die über die Anzahl Basen  $N$  bzw. Anzahl *Hopping*-Anlässe beschrieben werden kann:<sup>[54]</sup>

$$k_{ET} = N^{-\eta}$$

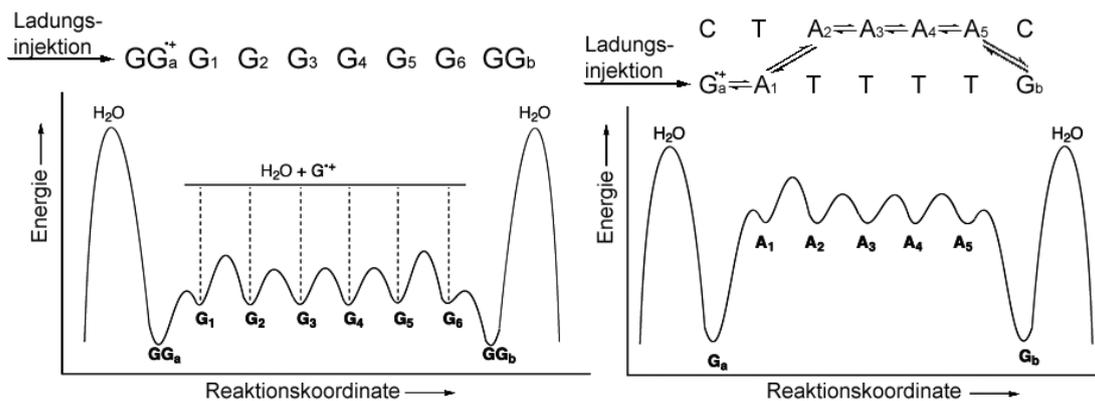
$\eta$  gibt eine Richtungspräferenz des Transfers an und nimmt Werte zwischen 1 und 2 an. Ein *random-walk* eines Elektrons entspräche einem Wert von 2, wobei experimentell ein Wert von 1.7 für den Lochtransfer gefunden wurde.<sup>[107]</sup> Giese *et al.*<sup>[108]</sup> erweiterten die Hoppingprozess-Theorie mithilfe



**Abbildung 8.** Geschwindigkeitskonstanten über mehrere AT-Sequenzen, wobei  $k_{rel} = G/GGG$  (Verhältnis oxidativer Schäden vom G-Triplett über G-Monomere).<sup>[107]</sup>

von Lochtransferstudien, wobei die kationische Ladung bevorzugt von Guanosin zu Guanosin tunnelt bzw. hüpf (Abbildung 8).<sup>[43]</sup> Die Ladung hüpf dabei reversibel zwischen Basen mit ähnlichen Redoxpotentialen. Bei Sequenzen, bei denen die Guanidine durch AT-Sequenzen getrennt sind, ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Transfer (*Superexchange* oder *Tunneling*) über die Brücken.<sup>[109]</sup>

Obwohl in diesen heterogenen Systemen G-C Basenpaare als Schlüsselpositionen der Ladung fungieren, können AT-Sequenzen auch Ladungen leiten.<sup>[110-113]</sup> Die Funde von geringen Mengen an oxidativen Adenin-Schäden untermauern diese sogenannte *A-Hopping*-Theorie. Die geringe vorgefundene Menge dieser Schäden stimmt auch mit der Annahme überein, dass der Transfer über A-Trakte schneller als über G-Trakte verläuft.<sup>[114-115]</sup> Dadurch wird die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Kations in den A-Trakten verringert und entsprechend die Wahrscheinlichkeit einer Wasseraddition. Ausserdem sollte beim Transfer über AT-Trakte kaum Ladung verloren gehen, da der Übergangszustand für die Wasseraddition am A höher liegt als beim G.<sup>[115]</sup>



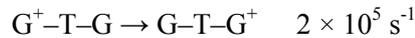
**Abbildung 9.** Curtin-Hammett Darstellung des Lochtransfers in GC bzw. reinen AT-Trakten. Die Ladung ist bei Anwesenheit von AT-reichen Sequenzen vor allem auf den Guanosinen lokalisiert. Transferineffizienz kommt meist durch Wasseraddition an die Guanosinradikalkationen zustande.

Wie in Abbildung 9 von Giese *et al.*<sup>[115]</sup> gezeigt, ist die Oxidation eines Adenins durch ein Guanidinradikalkation der langsamste Schritt, während der Lochtransfer unter Adenosinen viel schneller verläuft. Solange die Wasseradditionen langsamer als der Lochtransfer von G zu A und langsamer als der anschließende Transfer von A zu A erfolgen, hat die Länge großer AT-Brücken (> 4 A), wie von verschiedenen Gruppen<sup>[116]</sup> gezeigt, nur noch geringen Einfluss auf die Transfereffizienz zwischen überbrückten Guanosin-Nukleotiden. Werden also kleine AT-Brücken systematisch verlängert, sinkt die Transfereffizienz zwischen Guanosinen solange, bis der Transfer zu Adenosinen energetisch etwa gleich ist.<sup>[115]</sup> Es lässt sich nun feststellen, dass der Transfer über A-Trakte zwar stattfindet, aber im Grunde sehr ineffizient ist und deswegen zu einer Sequenzabhängigkeit des Lochtransfers führt.<sup>[117-118]</sup> Eine Sequenzunabhängigkeit wurde vor kurzem durch Substitution der Adenosine durch 7-Deazaadenosin erreicht, da dessen HOMOs höher liegen und das Hopping zwischen Guanosin und Deazaadenosin entsprechend schneller verläuft.<sup>[119]</sup> Majima fand

## 1. Einleitung

---

folgende Geschwindigkeitskonstanten bei Zeit-aufgelösten Untersuchungen von DNA-Strängen mit Naphthalimid als Donor und Phenothiazin als Akzeptor<sup>[112, 118]</sup>:



Erstere Geschwindigkeitskonstante stimmt mit Ergebnissen von Lewis *et al.* überein, der  $10^9 \text{ s}^{-1}$  gemessen hatte.<sup>[120]</sup> Weitere Konstanten für GA-Übergänge wurden von Wasielewski ( $5 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[121]</sup> und Lewis ( $8.7 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[122]</sup> bestimmt.

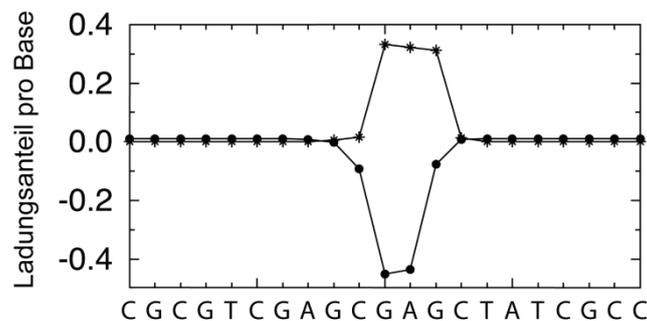
Für den Überschusselektronentransfer liegen kaum kinetische Informationen vor. Abschätzungen für das Elektronenhopping stammen von indirekten Geschwindigkeitsbestimmungen. Zum Beispiel wurden Werte für den Elektronentransfer über Thymidin-Sequenzen anhand der Debromierungsgeschwindigkeiten von 5-Br-dU ( $k_{ET} < 1.4 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ )<sup>[123]</sup> abgeschätzt, indem von zwei konsekutiven 5-Br-dU's nur das Nähere zum Donor debromiert wurde.<sup>[101, 124]</sup> 8-Br-dG und 8-Br-dA, debromieren langsamer als 5-Br-dU beim Transfer über AT-Sequenzen, zeigen aber beim Transfer über GC Paare immer noch eine Sequenzabhängigkeit und könnten damit geeignete Proben für die Eingrenzung von Geschwindigkeitskonstanten über GC-Sequenzen sein. Hier muss angemerkt werden, dass bimolekulare Reaktionen mit hydratisierten Elektronen  $e_{aq}^-$  Elektronenadditionsgeschwindigkeiten an die Nukleoside in folgender Reihenfolge  $\text{BrdU} \approx \text{BrdA} > \text{BrdG} > \text{T} > \text{T}=\text{T}$  ergaben (8-Br-dA  $1.6 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,<sup>[125-126]</sup> 8-Br-dG  $1.1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,<sup>[127-128]</sup> CPD  $5.6 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ,<sup>[129]</sup> Thymidin  $1.03 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ).<sup>[129]</sup> Diese Proportion deutet darauf hin, dass die Elektronenübertragung auf alle bromierten Spezies günstig sein sollte und deswegen die Elektronenübertragung kein geschwindigkeitsbestimmender Schritt ist. Diese Kinetikwerte wurden in Radiolyseexperimenten bestimmt, wobei sie mit Vorsicht genossen werden müssen, da in ähnlichen Experimenten für Nukleotide eine Reihenfolge der Elektroneneinfangseffizienz<sup>[130]</sup> festgestellt wurde, die nicht mit derjenigen der Reduktionspotentialen übereinstimmt. Ausserdem wurden die Kinetikmessungen in wässrigen Lösungen gemessen, wobei massive pH- und Puffer-Abhängigkeiten festgestellt wurden.<sup>[63, 128, 131]</sup> Gerade in diesen Radiolyse-Experimenten finden Mechanismen statt, deren Interpretation schwierig ist, und entsprechend Vergleiche für den Überschusselektronentransfer gewagt sind.<sup>[132]</sup> Zum Beispiel wird, wie zuvor erwähnt, die obere Grenze der Elektronentransfer-Geschwindigkeit über die Debromierung von 5-Br-dU durch abgefangene  $e_{aq}^-$  abgeschätzt. In ähnlicher Weise wurden unterschiedliche Debromierungsgeschwindigkeiten bei 5-Br-dU, 8-Br-dA und 8-Br-dG vorgefunden, weshalb sich die Elektronentransfergeschwindigkeit im Bereich der Debromierungsgeschwindigkeit befinden muss. Zu der Unsicherheit über die Geschwindigkeitskonstanten im Überschusstransfer kommt das Unwissen, wie und wo eine Ladung auf der DNA lokalisiert ist.

Obwohl viel auf eine klare Lokalisierung der Ladungen auf den Nukleobasen hindeutet, könnte eine Ladung auch über mehrere Basenpaare, einem sogenannten Polaron, verteilt sein. Experimentelle

Hinweise wie ESR- oder  $pK_a$ -Veränderungen eines Adenosinradikalkations durch  $\pi$ -Stapelungs-Wechselwirkungen<sup>[133]</sup> oder der Konkurrenzkampf zwischen der Oxidation von  ${}^{\text{CP}}\text{C}$  versus  ${}^{\text{CP}}\text{G}$  (*N*4-Cyclopropyl-Cytidin bzw. *N*2-Cyclopropyl-guanosin) unterstützen diese Delokalisierungs-Theorien.<sup>[134]</sup>

### 1.3.3 Das Polaron-Modell

Das Polaron umschreibt die Verteilung einer Ladung über mehrere Nucleobasen.<sup>[135]</sup> Dabei wird die Ladung durch eine Verdichtung der Nucleobasen stabilisiert, was durch Konformationsänderungen der Doppelhelix erfolgen muss. Eine Änderung des Basen-Neigungswinkels, die Entwindung der DNA, die Ionenverteilung oder Wasseranordnung<sup>[136-137]</sup> rund um die DNA führen zu einer besseren Überlappung der  $\pi$ -Systeme und können so z.B. die Ladung stabilisieren (Abbildung 10).<sup>[138-139]</sup>



**Abbildung 10.** Berechnete Verteilung einer Ladung innerhalb eines Polarons.<sup>[140]</sup> Copyright 2000 National academy of Sciences, U.S.A.

Diese Stabilisierung erzeugt demnach eine Störung der DNA Struktur, die je nach Sequenz unterschiedlich ist. Eine Sequenzabhängigkeit des Elektronentransfers ließe sich deswegen auch so erklären. Die Ausmaße eines Polarons sind dadurch begrenzt, dass die Energie, die für die Deformation notwendig ist, durch die Delokalisations-Stabilisierungsenergie in einer bestimmten Distanz nicht mehr aufgebracht werden kann. Berechnungen haben ergeben, dass 3-6 Basen an einem Polaron beteiligt sind.<sup>[116, 136-137, 140]</sup> Die strukturelle Änderung senkt die Energie des Polarons, wodurch die Energiebarriere für ein *Hopping* des gesamten Polarons erhöht wird. Als alternative Fortbewegung des Polarons kommt aber eine Drift-Bewegung in Frage, wobei die Fortbewegung darin besteht, dass auf einer Seite des Polarons eine Base wegfällt, während auf der anderen Seite eine neue aufgenommen wird (Abbildung 11).

Die Stabilisierungsenergie wird über mehrere Basen verteilt. Dadurch findet die Fortbewegung bereits über kleine Energieveränderung statt bzw. der Drift braucht weniger Aktivierungsenergie als der Hoppingprozess. Hier muss angemerkt werden, dass oft nur von Drift gesprochen wird, wenn die wegfallenden und neu aufgenommenen Nucleobasen identisch sind. Da die DNA-Sequenzen selten derart homogen sind, spricht man meist von *nearest neighbour-hopping* oder eben bei grösseren

Sprünge von **Polaron hopping**. Thermische Aktivierung, Konformationsänderungen<sup>[116, 141]</sup>, Ionen<sup>[142]</sup> und Wasser-Reorientierungen könnten bereits ein solches Polaron-hopping auslösen.<sup>[143]</sup>

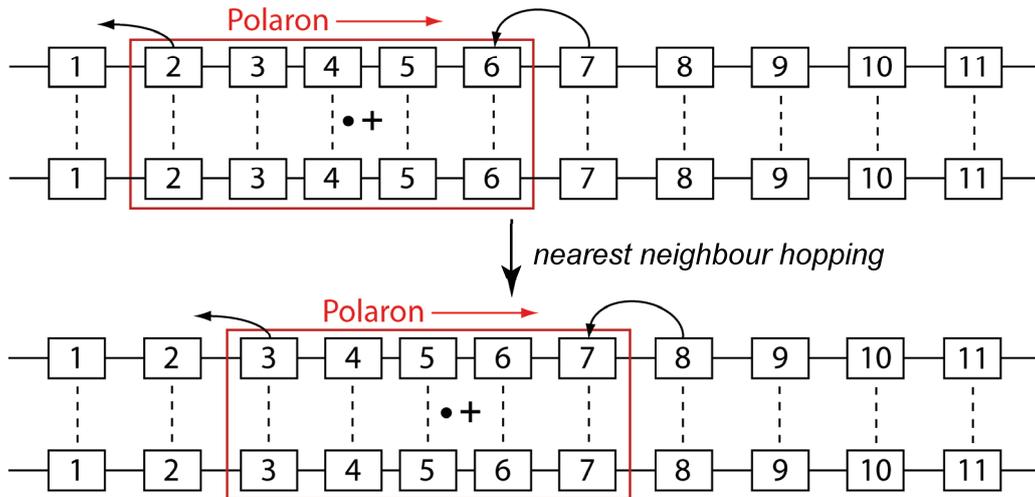


Abbildung 11. Polaron Fortbewegung durch „nearest neighbour hopping“.

### 1.3.4 Das „Delocalized Domain“- bzw. konformationskontrollierte Hopping-Modell

Im Gegensatz zum Polaron-Modell wurde von Barton<sup>[141]</sup> ein Modell entwickelt, bei dem sich vor der Ladungsinjektion bereits sogenannte Domänen ausbilden. Diese Domänenformationen sind Sequenzabhängig und der Dynamik der DNA unterworfen. Während beim Polaron-Modell die Fortbewegung durch das *nearest neighbour hopping* beschrieben wurde, führen beim *Delocalized Domain*-Modell thermische Bewegungen zur dynamischen Ausbildung und Zerstörung von Domänen. Die Ladung springt dabei von Domäne zu Domäne, wobei jede Domäne diese vorübergehend mehr und weniger stabilisieren kann (Abbildung 12).

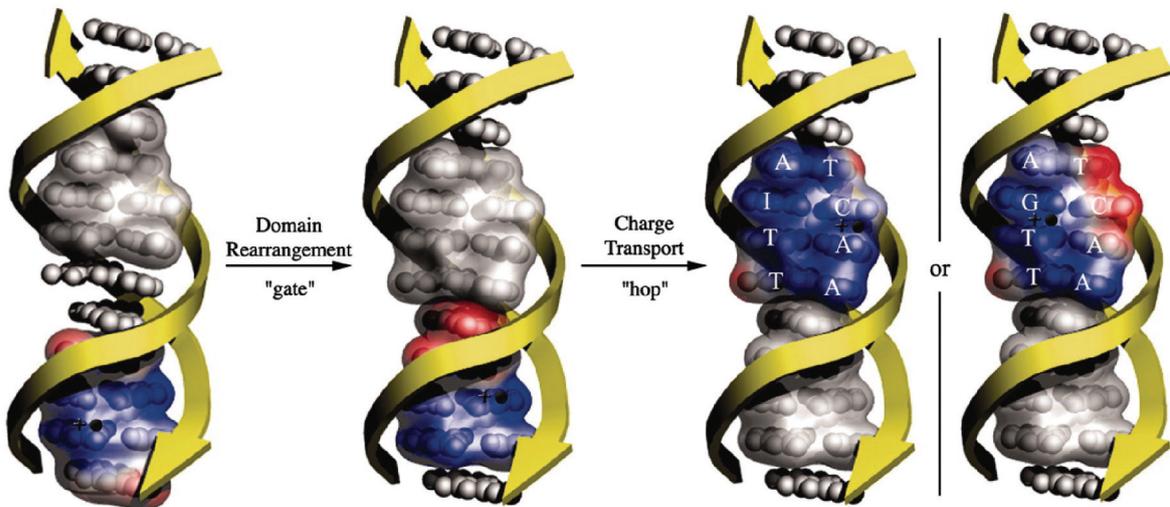
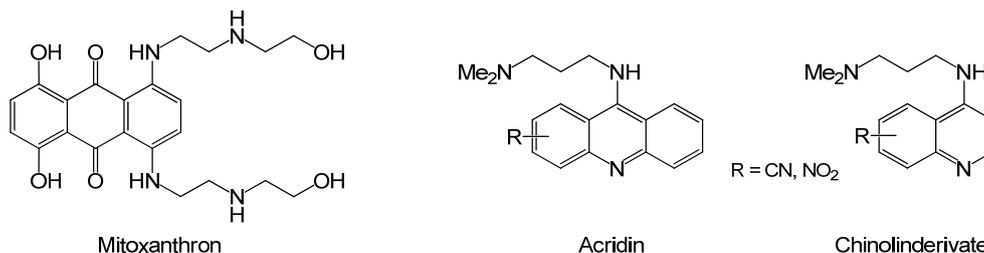


Abbildung 12. Durch die Dynamik der DNA, wird eine Domäne (grau) in der Nähe einer ladungstragenden Domäne platziert. Dadurch kann die Ladung (rot-blaue Ladungsverteilung) von der einen Domäne zur nächsten hüpfen.<sup>[144]</sup> Copyright 2004 National Academy of Sciences, U.S.A.

Mehrere Untersuchungen unterstützen die Domänen-Theorie. Femtosekunden-Studien von angeregten Purin-Wiederholungen zeigten für bestimmte Sequenzen deutlich längere Relaxationszeiten, was auf die Ausbildung von stabilisierten angeregten Zuständen durch Domänen, sogenannten Exciplexen, hindeutet.<sup>[145]</sup> Dabei scheint aber vor allem die Basenstapelung und nicht die Basenpaarung zur Bildung eines Exciplex beizutragen.<sup>[146]</sup> Über die Grösse einer Domäne herrschen in der Literatur verschiedene Meinungen. Während manche eine Delokalisierung über 4 bis 8 Basen angeben,<sup>[147-148]</sup> finden andere gerademal eine Delokalisierung über 2 Basen.<sup>[149]</sup> Einige theoretische Überlegungen widersprechen dem und weisen auf eine klare Lokalisierung der Ladung auf einem einzelnen Nukleosid hin.<sup>[150-152]</sup> Ein anderes Phänomen, das die Präsenz von Domänen untermauert, ist die periodische Abhängigkeit der Transfereffizienz von der Länge bestimmter DNA-Trakte.<sup>[141, 153]</sup> Dabei fungierten unterschiedlich lange A-Trakte als Brücken zwischen Donor und Akzeptor. Im Gegensatz zu Strängen mit 2, 6, 10 und 14 dazwischenliegenden Adenosinen ließ sich ein schlechterer Transfer für Stränge mit 4, 8, 12 interkalierenden Adenosinen feststellen. Bestimmte A-Trakt-Längen leiten Ladung also besser als andere. Die optimale Länge scheint ein vielfaches von 3-4 Basen zu sein, die als Domäne den Transfer besser bewerkstelligen kann. Das *delocalized domain*-Modell erklärt so den Konkurrenzkampf zwischen <sup>CP</sup>C- und <sup>CP</sup>G-Zersetzung<sup>[154]</sup> und die Fähigkeit der DNA, Ladung zu transportieren, selbst wenn die Redoxpotentiale der Basen für den Ladungstransport eigentlich nicht geeignet sind.<sup>[48, 155]</sup>

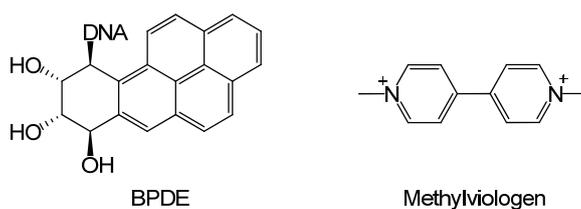
## 1.4 Reduktiver Ladungstransfer

Erste Untersuchungen zum Überschuss-Elektronentransfer wurden mit DNA-Systemen mit nicht kovalent gebundenen Interkalatoren durchgeführt. Dabei wurden durch Radiolyse solvatisierte Elektronen erzeugt,<sup>[156-159]</sup> die zu einer Reduktion der DNA und über Transfer entlang der DNA zu einer Reduktion der entsprechenden Interkalatoren führten.<sup>[70, 160-162]</sup>



**Abbildung 13.** Interkalatoren zur Untersuchung des Überschuss-Elektronentransfers. V.l.n.r.: Mitoxanthron,<sup>[70, 161, 163]</sup> Acridin<sup>[160, 162]</sup> und Chinolinderivate.<sup>[160]</sup>

Alternativ wurden DNA-Stränge zufallsbedingt bromiert und durch Überschusselektronen repariert.<sup>[164]</sup> Obwohl in diesen Experimenten Elektroneninjektion- und detektion nicht positionspezifisch verfolgt werden konnte, wurden wichtige Aspekte des reduktiven Elektronentransfers ermittelt. Unter 77 K scheint der *Superexchange* Mechanismus mit einer starken Distanzabhängigkeit vorzuliegen ( $\beta$ -Wert von  $0.9 \text{ \AA}^{-1}$ ).<sup>[70, 165]</sup> Der  $\beta$ -Wert scheint zudem stark von der Sequenz abzuhängen: poly(dA-dT)•poly(dA-dT):  $0.75 \text{ \AA}^{-1}$ , poly(dI-dC)•poly(dI-dC):  $1.4 \text{ \AA}^{-1}$ , Kalbsthymus-DNA in D<sub>2</sub>O:  $0.92 \text{ \AA}^{-1}$  und in H<sub>2</sub>O:  $0.83 \text{ \AA}^{-1}$ . Der Isotopeneffekt deutet auf den Protonentransfer zwischen Guanosin und Cytidin hin (Schema 7, Kapitel 1.2).<sup>[70, 166]</sup> Über 130 K konkurriert die Protonierung von T<sup>•</sup> als irreversible Elektronensenke mit dem Elektronentransfer, während vom C<sup>•</sup> bis 170 K noch gar kein Transfer beobachtet werden konnte. Über 170 K wechselt der Mechanismus zu einem thermisch-aktivierten Prozess, was mit der von Anderson ermittelten Aktivierungsenergie von ca. 5 kcal/mol für den Hopping-Prozess übereinstimmt.<sup>[162]</sup> Shafirovich entwickelte 1997 ein System, bei dem zumindest der Donor (Pyren) kovalent an die DNA gebunden ist, und frei interkalierendes Methylviologen als Akzeptor fungiert (Abbildung 14).<sup>[167]</sup> Er ermittelte so eine Durchschnitts-Transferdistanz eines Überschusselektrons von 40 Å.

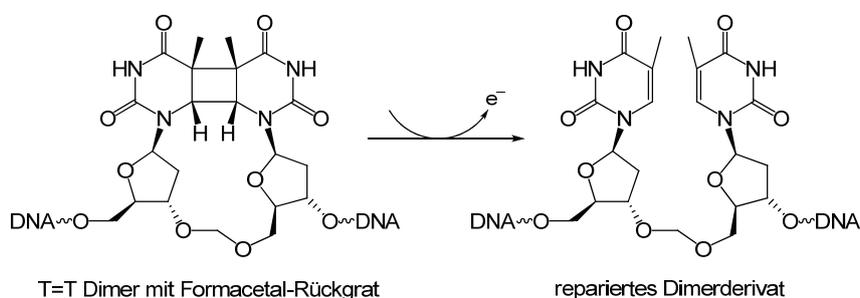


**Abbildung 14.** Ein kovalent angebrachtes Benzo-Pyrenderivat (BPDE) und Methylviologen wurden von Shafirovich zur Untersuchung des Überschusstransfers eingesetzt.<sup>[167]</sup>

Lewis, Wasielewski *et al.* publizierten 1999 einen DNA-Stilbendiether-Hairpin, dessen Fluoreszenz durch Elektronentransfer auf die benachbarten AT-Sequenzen stark gequenchet wurde.<sup>[168]</sup> Ebenfalls über Fluoreszenz-Quenching wiesen Barton *et al.* den Elektronentransfer von Aminopurinen auf Thymidine in DNA nach.<sup>[169]</sup> Im Gegensatz zu Wasielewski und Barton entwickelte Carell *et al.* ein System auf Basis von Flavin als Donor und dem CPD-Photoschaden als Akzeptor, bei denen der Elektronentransfer durch die irreversible Schadensöffnung für definierte Distanzen erstmals klar quantifiziert werden konnte.<sup>[10, 98, 170]</sup> Transferdistanzen bis zu 24 Å und eine geringe Distanzabhängigkeit ( $\beta = 0.11 \text{ \AA}^{-1}$ ) konnten dabei nachgewiesen werden. Die Hinweise zum Überschusselektronentransfer aus den Radiolysen-Experimenten und die neuen hochdefinierten Systemen von Carell war für viele Forschungsgruppen ein Signal, die Forschung auf dem Gebiet zu intensivieren.

## 1.4.1 Elektronen-Akzeptoren

Mit dem Einbau des CPD Photoschadens von Carell *et al.*<sup>[10]</sup> wurde erstmals ein Akzeptor geschaffen, der Elektronen durch irreversible Cyclobutan-Öffnung einfangen konnte. Anfangs wurde dazu ein Formacetal überbrücktes T=T Dimer eingesetzt. Später wurde der Einbau eines T=T Dimers mit offenem Rückgrat vorgenommen, wodurch die Öffnung des Photoschadens zu einem leicht detektierbaren Strangbruch führte (Schema 9).<sup>[98-99, 170]</sup>



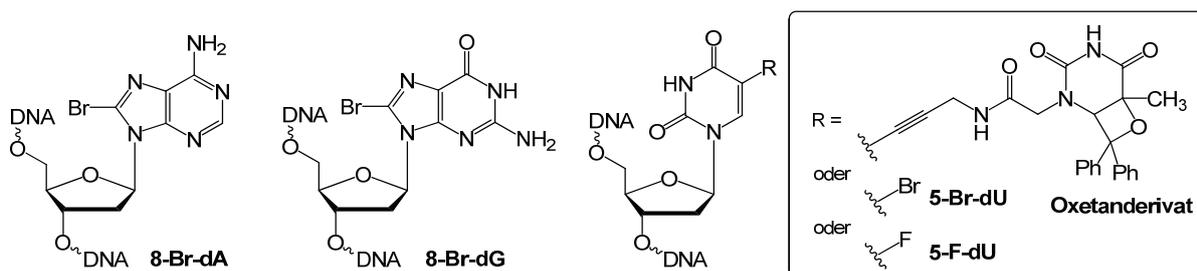
**Schema 9.** T=T Dimer-Öffnung durch ein katalytisches Elektron. In Abhängigkeit, ob die Thymidine am Rückgrat über eine Formacetalbindung miteinander verbunden sind oder nicht, kann die Cyclobutanöffnung zu einem Strangbruch führen.

Interessanterweise wurde bei der Verwendung von DNA-Strängen mit unterschiedlicher Sequenz keine Sequenzabhängigkeit vorgefunden.<sup>[171]</sup> Dies widersprach Resultaten, die mit bromierten Nucleosiden (5-Br-dU, 8-Br-dA und 8-Br-dG) und einem Oxetan-Akzeptor<sup>[159, 172]</sup> erhalten wurden. Das deutet darauf hin, dass die Reduktion oder Spaltung des T=T Dimers langsamer verläuft als andere Prozesse wie z. B. Elektronentransfer über GC-Basenpaare oder Elektronenverlust aus der DNA. (Abbildung 15).

Wie bereits im Kapitel 1.3.2 über Elektronenhopping erläutert, lässt sich eine Reduzierbarkeit der bromierten Nucleoside, von Thymidin und dem CPD Photoschaden in folgender Reihenfolge 5-Br-dU > 8-Br-dA > 8-Br-dG > Thymidin > CPD vermuten. Lediglich vom CPD-Schadensanaloga sind

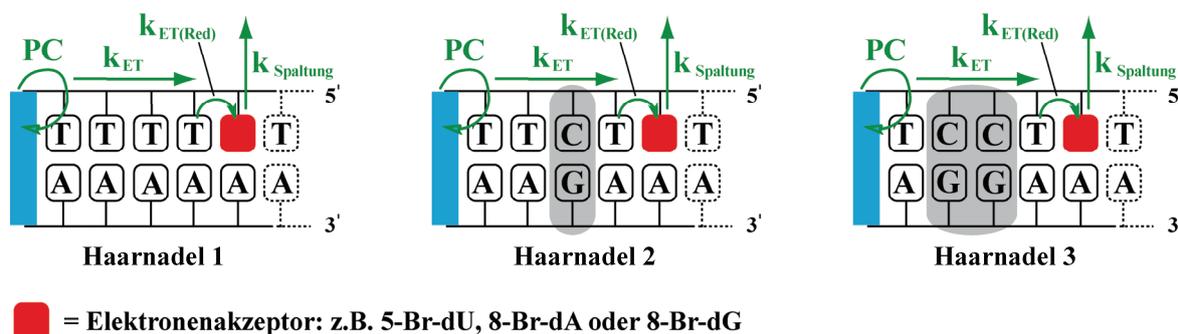
## 1. Einleitung

Reduktionspotentiale ermittelt worden, welche die Reihenfolge bekräftigen, da diese sich mit  $-2.62\text{ V}$  bzw.  $-2.20\text{ V}$  schlechter reduzieren lassen als die entsprechenden Thyminderivate ( $-2.46\text{ V}$  bzw.  $-2.14\text{ V}$ ).<sup>[173-174]</sup> Im Vergleich zu Thymidin sollte deswegen ein Elektronentransfer von Thymidin auf die bromierten Nucleoside begünstigt sein, während ein Transfer auf das T=T Dimer ein wahrscheinlich endothermer Prozess wäre. Da die Öffnung des T=T Dimers als sehr schnell angesehen wird ( $1.7 \times 10^9\text{ s}^{-1}$ ,<sup>[175]</sup>  $1.8 \times 10^9\text{ s}^{-1}$ ,<sup>[176]</sup>  $> 2 \times 10^7\text{ s}^{-1}$ )<sup>[38, 129]</sup> wäre dessen Reduktion der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Lediglich eine Referenz beschreibt die Dimeröffnung als langsameren Prozess ( $1.8 \times 10^6\text{ s}^{-1}$ ),<sup>[177]</sup> aber es wird vermutet, dass die experimentellen Daten falsch interpretiert wurden, weshalb die Schlussfolgerungen stark hinterfragt werden.<sup>[178]</sup>



**Abbildung 15.** Bromierte Nucleoside und Derivate, die zur Detektion eines Überschusselektrons eingesetzt wurden. Mit den bromierten Nucleosiden und dem Oxetanderivat konnten eine Sequenzabhängigkeit beobachtet werden.

Bei 8-Br-dA und 8-Br-dG lässt sich nur vermuten, ob die Reduktion oder die Debromierung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt beim Transfer über eine AT-Sequenzen ist. Keinerlei Debromierungskinetiken noch verlässliche Reduktionspotentiale sind vorhanden. Nimmt man aber anhand der bimolekularen Reduktionsgeschwindigkeiten mit  $e_{aq}^-$  an, dass die Reduktion exotherm ist, dann müsste bei AT-Sequenzen die Debromierung geschwindigkeitsbestimmend sein. Bei GC-haltigen Sequenzen ließe sich jedoch die Situation für 8-Br-dA und 8-Br-dG anders erklären: Ist nämlich der Transfer über GC-Sequenzen langsamer als deren Debromierung, kann immer noch Sequenzabhängigkeit beobachtet werden (Abbildung 16).

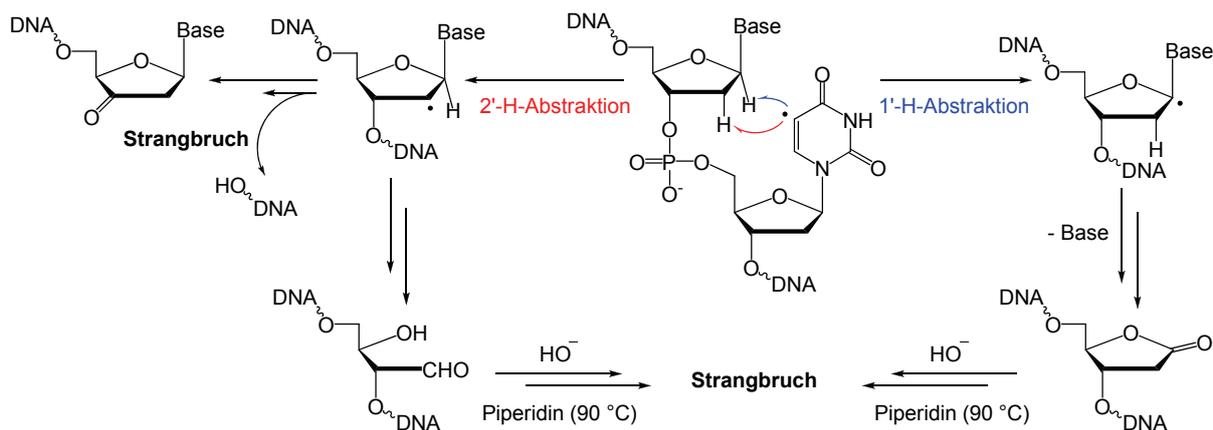


**Abbildung 16.** Vereinfachte Darstellung der Elektronentransferprozesse in Haarnadel-Strukturen 1-3 von Carell et al.<sup>[69]</sup> mit Flavin (blau), das multiples Photocycling PC unterlaufen kann. Die Elektronentransfargeschwindigkeit  $k_{ET}$  entlang AT-Sequenzen ist schneller als über GC-Abschnitte. Diese Sequenzabhängigkeit kann nur durch Akzeptoren, die schneller reduziert werden können  $k_{ET(Red)}$  und die schneller debromieren  $k_{Spaltung}$ , als die Transfargeschw. über GC-Abschnitte, aufgelöst werden. Im Gegensatz zu 5-Br-dU können 8-Br-dA und 8-Br-dG die Sequenzabhängigkeit kaum noch auflösen.

## 1. Einleitung

Die Verwendung des Oxetan-Nukleosids als Akzeptor und  $N_2O$  als Radikalquechner im Puffer zeigten neben der Sequenzabhängigkeit, dass die Elektronen mit hoher Wahrscheinlichkeit sich innerhalb der Helix bewegen und nicht über das umgebende Wasser transport werden.<sup>[172]</sup>

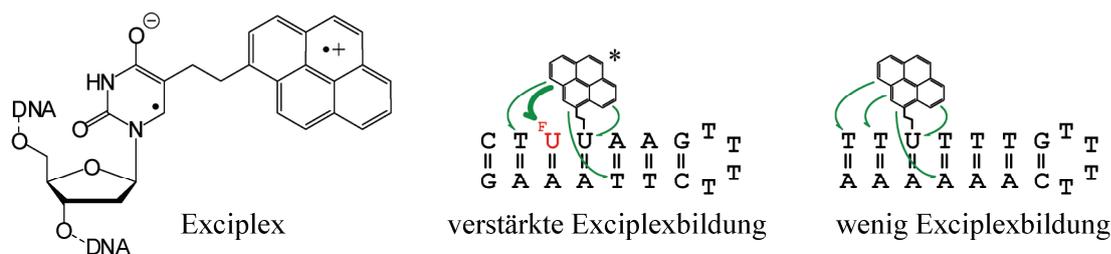
Die Debromierung der Nucleoside wurde sowohl über HPLC<sup>[67, 97, 101, 154]</sup> und Kapillarelektrophorese (CE)<sup>[69]</sup> als auch -im Falle von 5-Br-dU- über Gele detektiert. Letzteres hat bei weitem nicht die Auflösung von HPLC oder CE. Die Behandlung der belichteten Stränge mit Piperidin bei 90 °C vor der elektrophoretischen Auftrennung führt jedoch zu Strangbrüchen (Schema 10) und so zu deutlich kürzeren Strängen, die auf den Gelen<sup>[71, 104, 179-181]</sup> bzw. HPLC beobachtet werden konnten.<sup>[124, 182-184]</sup>



**Schema 10.** Mögliche Reaktionswege des Desoxyuridinyradikals. Meist erfolgt eine Wasserstoffabstraktion von benachbarten Nucleotiden, die zu basenlabilen Produkten führen kann. Diese können durch Behandlung mit Piperidin gespalten werden.

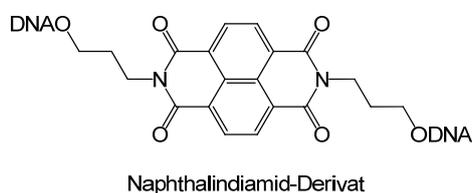
Die Strangbrüche können mit Piperidin bewirkt werden, da das Desoxyuridinyradikal von dem benachbarten 5'-Nucleotid Wasserstoffatome abstrahieren kann (meist das 1'- oder 2'-Wasserstoffatom) und damit über Folgereaktionen basenlabile Eliminierungsprodukte erzeugt. Welchen Reaktionsweg das Uridinyradikal jedoch einschlägt hängt stark von den Reaktionsbedingungen und der Sequenz ab.<sup>[185-187]</sup>

Als Alternative zu 5-Br-dU wurde 5-F-dU für Untersuchungen der Injektionsdynamik von Pyrenodonoren verwendet.<sup>[188-189]</sup> Wurde dabei das 5-F-dU nahe am Donor in der DNA angebracht, konnte eine deutliche Zunahme einer Exciplexbildung,  $Pyren^{+}\cdot dU^{\cdot-}$ , beobachtet werden. Da die halogenierten Nucleobasen leichter reduziert werden können, findet also auch eine verbesserte Ladungsinjektion statt (Abbildung 17). Wie schnell jedoch die Ladung wieder rekombiniert bzw. „weiterwandert“, hängt vom jeweiligen System ab. Der Donortyp, die Art der Gegenionen, die Sequenz oder Fehlpaarungen beeinflussen die Ladungsinjektion.<sup>[71, 190-191]</sup> 5-F-dU hat sich nie für Elektronentransferstudien durchgesetzt, da die Spaltung der C-F Bindung langsam erfolgt.<sup>[192]</sup>



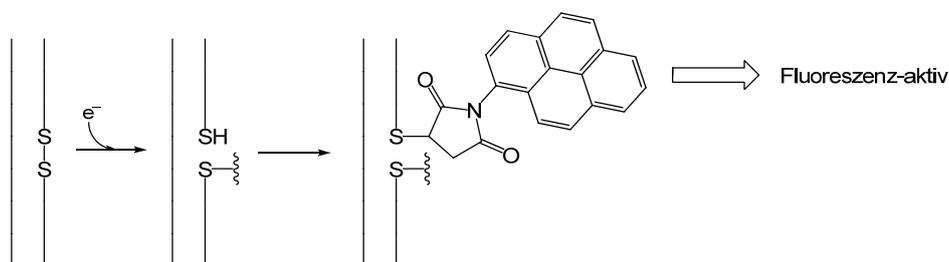
**Abbildung 17.** Die Anwesenheit von 5-F-dU verstärkt die Übertragung von Elektronen auf die DNA, die durch die Coulomb-Anziehung wieder zurückwandern und den Exciplex  $\text{Pyren}^{*+}\text{-dU}^{-}$  bilden.

Eine Reihe anderer Akzeptoren wurde entwickelt, um den Transfer spektroskopisch verfolgen zu können. Naphthalindiimid konnte zum Beispiel über vier Basenpaare hinweg durch  $\text{FADH}^{-}$  bis in einen zweifach geladenen Zustand reduziert werden, was durch eine deutliche Absorptionsbanden bei 520 und 575 nm sichtbar war (Abbildung 18).<sup>[193]</sup>



**Abbildung 18.** Zweifach reduziertes Naphthalindiimid hat deutliche Absorptionsbanden bei 520 nm und 575 nm und kann so spektroskopisch detektiert werden.

Yamana *et al.* bewerkstelligten eine spektroskopische Analyse über einen Umweg, indem sie Disulfidbrücken in das Rückgrat der DNA einbauten.<sup>[103]</sup> Nach Belichtung der Stränge wurde Pyrenmaleinimid zugegeben, das mit den entstandenen Thiolen reagierte (*Schema 11*). Das Reaktionsprodukt war im Gegensatz zum Edukt stark fluoreszent, weshalb nach Anregung bei 340 nm über die Fluoreszenz bei 375 nm die Ausbeuten bestimmt werden konnten. Allerdings war die Spaltung über 4 AT-Basenpaare hinweg relativ langsam, weshalb die Autoren entweder die Reduktion oder die Spaltung des Disulfids als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt halten.



**Schema 11.** Überschusselektronen können zur Spaltung von Disulfidbrücken führen. Die resultierende Thiol (die Autoren erläutern nur das Schicksal des Thiolats) reagiert mit Pyren-Maleinimid zum entsprechenden Thioladdukt, das im Gegensatz zum Edukt Fluoreszenz-aktiv ist.

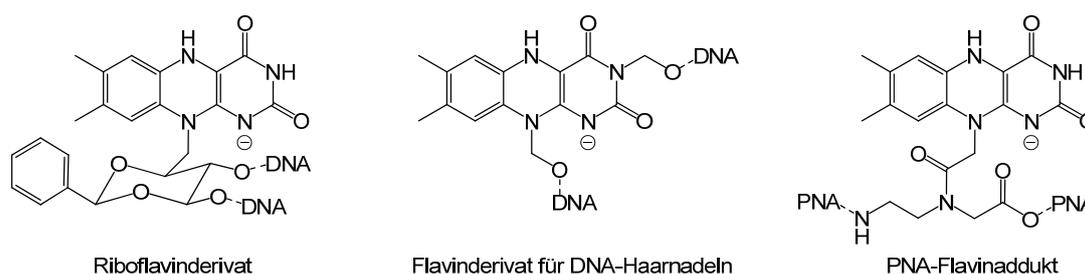
Für Lochtransfer- als auch Überschusstransferstudien wurden auch *N*4-Cyclopropyl-Cytidin ( $\text{C}^{\text{P}}\text{C}$ ) eingesetzt (keine Abbildung).<sup>[97, 154]</sup> Interessanterweise findet eine Cyclopropyloffnung unter beiden

Transferbedingungen statt, was als möglicher Hinweis für sogenannte delokalisierte Ladungen bzw. Polarons angesehen wird.

Trotz der übersichtlichen Anzahl an Akzeptoren hat sich besonders das 5-Br-dU als Akzeptor durchgesetzt. Seine hohe Elektronenaffinität, die schnelle Debromierung und sein geringer Einfluss auf die DNA-Struktur machen es zu einem exzellenten Akzeptor.

### 1.4.2 Elektronen-Donoren

Eine übersichtliche Anzahl an Donoren wurde in Untersuchungen des Überschusstransfers kovalent an die DNA angebracht. Diese unterscheiden sich in ihren Redox Eigenschaften, durch die Art der Ladungsinjektion und der kovalenten Verknüpfung mit der DNA. Natürlich spielt das Reduktionspotential eines Donors eine wichtige Rolle bei der Diskussion, ob Elektronen auf die DNA übertragen werden können. Dabei darf aber nicht vergessen werden, dass gerade bei den photoangeregten Donoren, die Fähigkeit, eine langlebige Ladungstrennung zu untergehen, essentiell ist, da ansonsten die auftretende Nebenreaktion der Ladungsrekombination gegen den effizienten Ladungstransfer arbeitet.<sup>[101]</sup> Im Folgenden sind die bisher eingesetzten Donoren beschrieben. Einer der stärksten eingesetzten Donoren, im Bezug auf das Reduktionspotential von ca. -2.8 V, sind die Flavinderivate, die sowohl interkalierend, endständig in Haarnadeln oder in DNA/PNA-Hybriden (PNA = Peptidnukleinsäure) eingesetzt wurden (Abbildung 19). Die starke Reduktionsfähigkeit im angeregten Zustand kommt aber nur zustande, wenn das Flavon (pKa  $\approx$  6.3)<sup>[194]</sup> deprotoniert vorliegt, weswegen in Experimenten eine optimale Elektronenübertragung nur bei ca. pH 8.5 beobachtet wurde.<sup>[195]</sup>

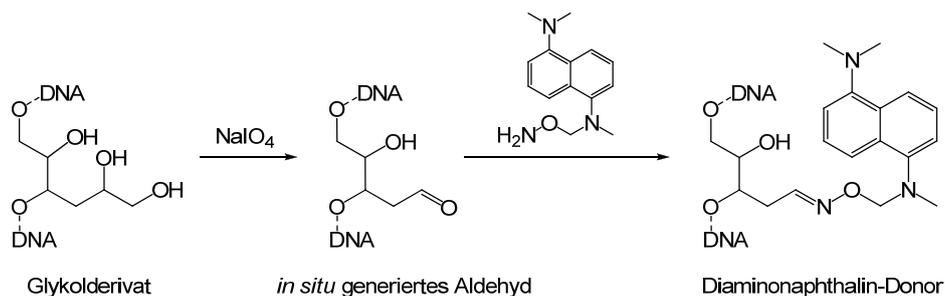


**Abbildung 19.** Flavinderivate ( $FADH^{\ominus}$ ) von Carell für innerhalb eines DNA-Strangs (links),<sup>[10, 98, 196-198]</sup> für Haarnadeln (mitte)<sup>[69, 99, 170-172]</sup> und für PNA/DNA-Addukte (rechts),<sup>[199]</sup>  $E_{red}^* \approx -2.8 \text{ V}$ .<sup>[98-99]</sup> Durch externe Reduktionsmittel (EDTA odet  $SO_3$ ) wird das FAD in  $FADH^{\ominus}$  umgesetzt.

Aus synthetischen Gründen mussten die Flavinderivate als H-Phosphonate und in oxidierter Form (FAD) in die DNA eingebaut werden. Mit externen Reduktionsmitteln wie EDTA oder Dithionit in Kombination mit Licht ( $Na_2S_2O_4$ ) konnte die reduzierte Form *in situ* erhalten werden. EDTA erwies sich jedoch als geeigneter, da  $Na_2S_2O_4$  bei längeren Belichtungsdauern den Elektronentransfer inhibiert.<sup>[69]</sup>

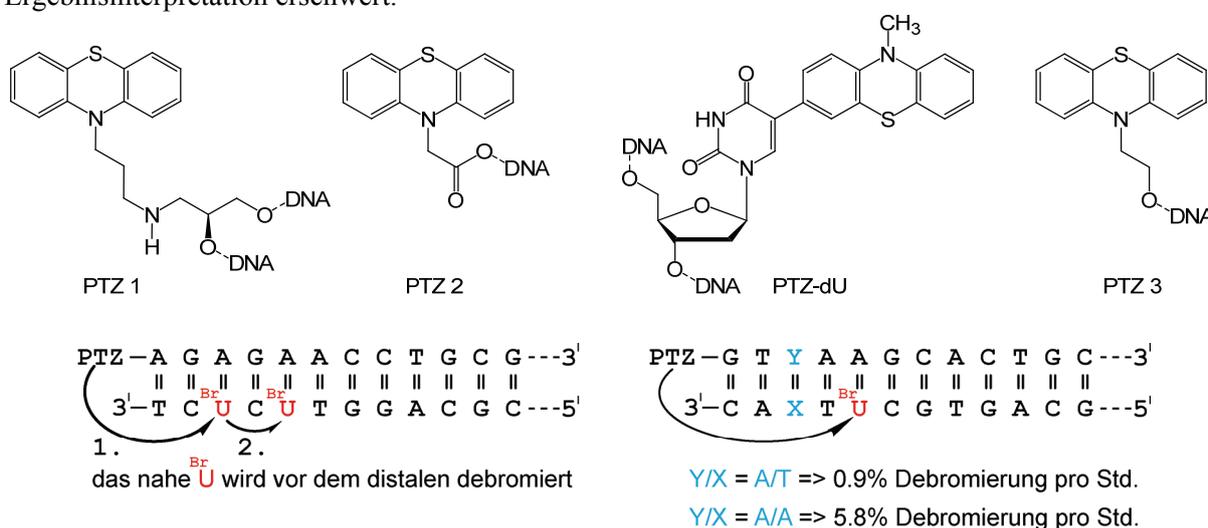
## 1. Einleitung

Diaminonaphthalin hat ebenfalls ein sehr geringes Reduktionspotential von  $-2.6\text{ V}$  und sollte wie die Flavinderivate fähig sein, alle Nucleobasen zu reduzieren.<sup>[104, 181]</sup> Für eine optimale Interkalierung muss in der DNA gegenüber des Donors eine *abasic site* vorliegen. Trotzdem wurde als Gegenbase meist eines der vier Nucleoside verwendet. Der Donor wurde postsynthetisch über eine Oxim-Bildung aus einem *in situ* generierten Aldehyd hergestellt (Abbildung 20).<sup>[180]</sup> Im Gegensatz zu anderen Gruppen, die  $\text{N}_2\text{O}$  als Radikalquencher einsetzen, wurden Transferexperimente sowohl in  $\text{H}_2\text{O}$  als auch  $\text{D}_2\text{O}$  durchgeführt, um über mögliche Isotopeneffekte die Rolle des Lösungsmittels als Transfermedium zu ermitteln. Jedoch konnte kein Isotopeneffekt nachgewiesen werden.<sup>[181]</sup>



**Abbildung 20.** Postsynthetischer Einbau von Diaminonaphthalin von Rokita,  $E_{red}^* \approx -2.6\text{ V}$ .<sup>[104, 180-181, 200]</sup>

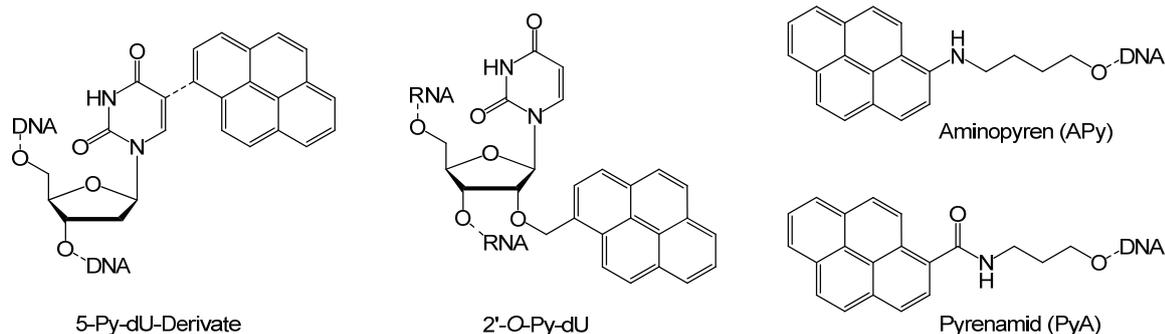
Phenothiazine ( $E_{red}^* \approx -2.0\text{ V}$ )<sup>[184]</sup> erlauben nur die Reduktion von Cytosin- und Thymidin-Nucleotiden und wurden direkt mit der DNA-Synthese innerhalb oder terminal angebracht. Maximale Transferdistanzen bis zu  $13.6\text{ \AA}$  wurden erreicht (Abbildung 21).<sup>[103]</sup> Der Einbau von fehlpaarenden Basenpaaren direkt hinter dem Donor zeigte zudem, dass wahrscheinlich dadurch die Ladungsrekombination gehemmt wird und bessere Debromierungsausbeuten an 5-Br-dU erlangt werden.<sup>[179]</sup> Über den Einbau zweier 5-Br-dU's ließ sich die maximale Geschwindigkeit des Elektronentransfers entlang der DNA auf die Debromierungsgeschwindigkeit reduzieren, da die Elektronen mit dem distalen 5-Br-dU erst nach erfolgreicher Debromierung des ersten reagierten (Abbildung 21).<sup>[124]</sup> Das stimmt mit den Resultaten von Lewis et al.<sup>[101]</sup> überein, allerdings wurde in beiden Fällen das 5-Br-dU derart nah am Donor angebracht, dass ein verstärkter direkter Transfer (*Superexchange*) die Ergebnisinterpretation erschwert.



## 1. Einleitung

**Abbildung 21.** Phenothiazine (PTZ), die von Wagenknecht (PTZ 1 und PTZ-dU),<sup>[184, 201]</sup> Nishimoto (PTZ 2)<sup>[124, 201]</sup> und Yamana (PTZ 3)<sup>[103]</sup> sowohl endständig als auch innerhalb der DNA angebracht wurden,  $E_{red}^* \approx -2.0 \text{ V}$ .<sup>[184]</sup>

Kaum ein Donor wurde derart gut untersucht wie die Pyrene (Abbildung 22). Dynamik-Analysen, verschieden DNA-Verknüpfungsvarianten und Pyrenmodifikationen haben zu einem breiten Verständnis der Elektroneninjektion geführt. Zum Beispiel sind Aminopyrene deutlich stärkere Reduktionsmittel als Amidopyrene, doch bei ersteren führt die Kurzlebigkeit des Ladungs-getrennten Zustands zu einem deutlich schlechteren Elektronentransfer.<sup>[67, 101]</sup> Ladungsrekombination ist je nach System schneller als Elektronentransfer.



**Abbildung 22.** Pyren-modifizierte DNA-Stränge wurden sowohl von Wagenknecht (5-Py-dU-Derivate),<sup>[65, 182-183, 202-203]</sup> als auch Yamana (2'-O-Py-dU),<sup>[102]</sup> Netzel (5-Py-dU-Derivate)<sup>[188-189]</sup> und Lewis (PyA und APy)<sup>[67, 101, 204]</sup> eingesetzt,  $E_{red}^* \approx -1.95 \text{ V}$ .<sup>[204]</sup>,  $E_{red}^* \approx -1.8 \text{ V}$ <sup>[183]</sup>,  $E_{red}^* \approx -1.9 \text{ V}$ <sup>[205]</sup>.

Bei den an der 5-Position von Desoxyuridin verknüpften Pyrenen erfolgt eine Ladungstrennung unter Bildung eines emittierenden Kontakt-Ionen-Paars (Pyren<sup>+</sup>-dU<sup>-</sup>). Liegen aber wie im letzten Kapitel erwähnt nahebei Ionenfallen wie 5-Br-dU oder 5-F-dU, entstehen deutlich mehr Kontakt-Ionen-Paare, was auf einen verstärkten Elektronentransfer auf die DNA bzw. auf diese Spezialnucleoside mit schneller Elektronen-Rückwanderung auf das Pyren<sup>+</sup>-dU hindeutet. In wenigen Beispielen (Geancintoc<sup>[167]</sup> und Yamana<sup>[103]</sup>) überwinden jedoch die Elektronen die Coulomb-Barriere, wodurch Elektronentransferdistanzen bis zu 40 Å bzw. 34 Å erreicht wurden. Letzteres Beispiel ist der erste, kürzlich publizierte Nachweis von Elektronentransfer in RNA.

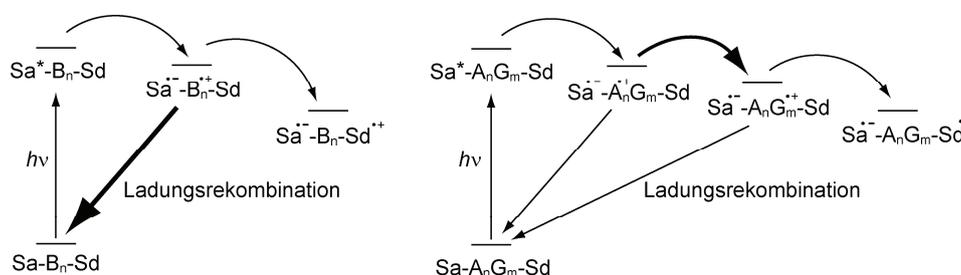
Die Haarnadelstruktur hat sich nicht nur bei Flavin-modifizierten DNA-Strängen bewährt, sondern auch bei der Anwendung von Stilbenderivaten (Abbildung 23).<sup>[206]</sup>



**Abbildung 23.** Stilbendiether (Lewis und Wasielewski,  $E_{red}^* \approx -2.3 \text{ V}$ )<sup>[168, 206-208]</sup> und Stilbendiamine (Nishimoto,  $E_{red}^* \approx -2.76 \text{ V}$ )<sup>[179]</sup> werden ausschließlich in DNA Haarnadeln verwendet.

Zeitaufgelöste Untersuchungen der Elektroneninjektion ergaben eine schnellere Elektronenübertragung auf 5-Br-dU ( $5.9 \times 10^{12} \text{ s}^{-1}$ ) als auf dC und dT ( $3.3 \times 10^{11} \text{ s}^{-1}$  bzw.  $7.7 \times 10^{11} \text{ s}^{-1}$ ), was mit den Ergebnissen der Pyrenderivate gut übereinstimmt.<sup>[208]</sup> Wie bei den anderen photoangeregten Donoren müssen die Elektronen nach der Ladungstrennung im angeregten Zustand eine Coulomb-

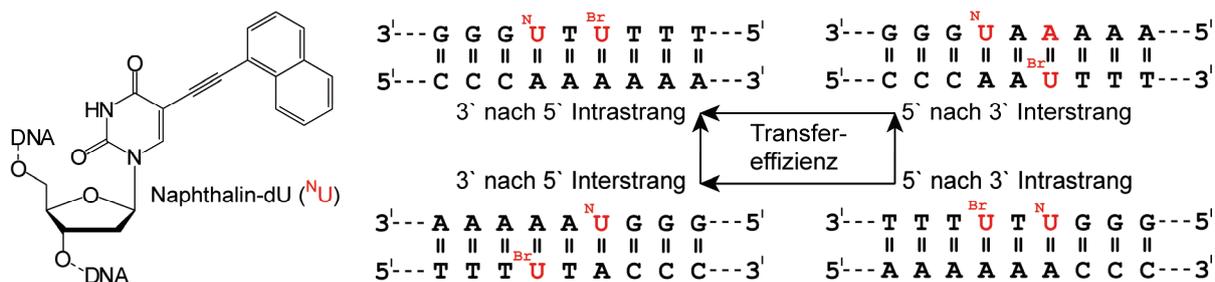
barriere überwinden. Die Geschwindigkeit der Ladungsrekombination konnte, wie bereits bei den Phenothiazinen erwähnt, ebenfalls durch Einbau eines DNA-Fehlpaarung-Paars zwischen 5-Br-dU und Donor reduziert werden, was für effizienteren Transfer genutzt werden kann.<sup>[179]</sup> Es gibt wenige Beispiele, in denen Stilbendiether als Ladungsdonoren fungieren. Vielmehr werden die Stilbendiether in Kombination mit Stilbendiamiden eingesetzt, wobei sie dann als Lochakzeptoren funktionieren. Aus Haarnadeln, bei denen die Stilbene die endständigen Kappen bilden, ließ sich eine Abhängigkeit der Ladungstrennung von der Sequenz ableiten. Dabei wurde durch Stilbendiamid ein Loch injiziert, das bei homogenen Sequenzen (nur AT oder nur GC) schneller rekombinierte als wenn kurze AT-Sequenzen gefolgt von GC-Sequenzen vorlagen. Die GC Basenpaare bewirkten also eine schnellere Vorwärtsbewegung des Lochs, wodurch es die Coulombbarriere besser überwinden konnte.<sup>[209]</sup> Ähnliche Überlegungen lassen sich für die verstärkte Debromierung bei Strängen anstellen, bei denen zwischen Donor und Akzeptor fehlgepaarte Nukleoside liegen.



**Schema 12.** Vereinfachtes Schema der Ladungstrennung bei Stilbenhaarnadeln (Sa Stilbendiamid, Sd Stilbendiether, B homogene Brücke aus reiner AT- oder GC-Sequenz,  $A_nG_m$  PolyA-PolyG Diblock). Poly-G-Sequenzen, die auf Poly A Sequenzen folgen, können eine verbesserte Ladungstrennung bewirken, da sie die Fortbewegung des Lochs und damit die Überwindung der Coulombbarriere fördern. Natürlich findet auch Ladungsrekombination vom Stilbendietherradikalkation statt, doch für die Diskussion um die Ladungstrennung alleine, ist diese Reaktion uninteressant.

In kürzlich veröffentlichten Resultaten mit Naphthalin als Donor (Abbildung 24) und 5-Br-dU als Akzeptor wurde die Direktionalität des Elektronentransfer im Intrastrang und Interstrang-Transfer untersucht.<sup>[210]</sup> Dabei wurde nicht nur ein effizienterer Intrastrangtransfer, sondern auch eine klare Präferenz in die 5'-Richtung der DNA vorgefunden. Da bei diesen Untersuchungen nur ein Thymidin-Nukleotid zwischen Donor und Akzeptor liegt, ist ein direkter Elektronentransfer nach dem *superexchange*-Mechanismus höchstwahrscheinlich. Die klare Präferenz in 5'-Richtung wurde auch mit Rokitas Naphthalindiamin nachgewiesen, allerdings sind auch dort nur zwei AT-Basenpaare zwischen Donor und Akzeptor.<sup>[181]</sup>

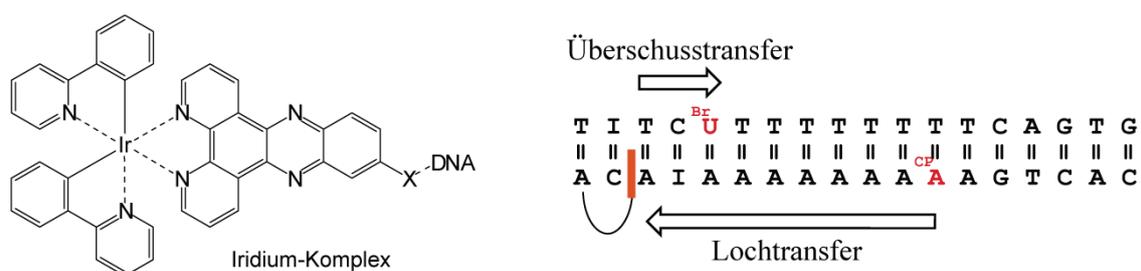
# 1. Einleitung



**Abbildung 24.** Naphthalin modifiziertes Desoxyuridinderivat  ${}^N\text{U}$  ( $E_{\text{ox}}^* \approx -2.48 \text{ V}$ ) zur Ermittlung der Transferdirektionalität.<sup>[210]</sup> Das 5-Br-dU ist nur ein Basenpaar vom Donor entfernt. Deswegen kann ein Superexchange Mechanismus, der massiv von der elektronischen Kopplung zwischen Donor und Akzeptor und von der Transferdistanz exponentiell abhängt, nicht ausgeschlossen werden.

Diese Resultate widersprechen Untersuchungen mit DNA/PNA Hybriden, in denen keine Präferenz für eine Transferrichtung vorgefunden wurde. Jedoch wurde in den PNA/DNA Hybriden ein Elektronentransfer bis zu 23.8 Å gemessen, weshalb ein direkter Transfer ausgeschlossen werden konnte und dominierende elektronische Kurzstrecken-Wechselwirkungen irrelevant sind.<sup>[199]</sup>

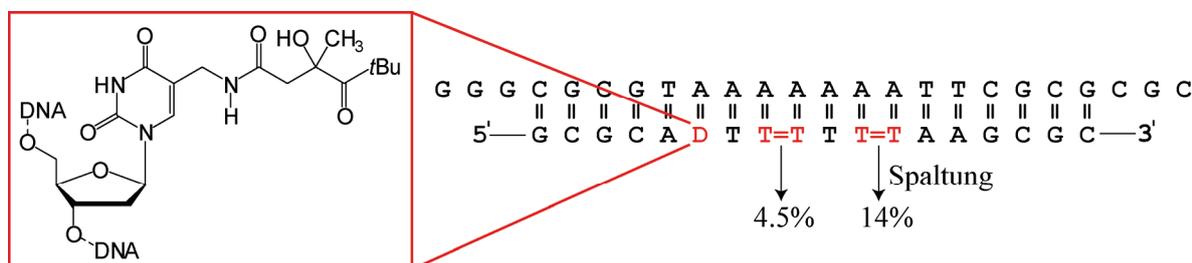
Die Iridium-Komplexe von Barton *et al.* können sowohl Loch- als auch Überschusstransfer auslösen.<sup>[97, 154]</sup> Der Einbau von  ${}^{\text{CP}}\text{A}$  (N6-Cyclopropyladenin) und 5-Br-dU im gleichen Strang erlaubte einen direkten Vergleich der beiden Transfertypen, wobei der Lochtransfer eine etwas geringere Distanzabhängigkeit aufwies. Durch Zugabe von Ascorbinsäure ließ sich der angeregte Zustand quenchen und ein Grundzustandsdonor für den Überschusselektronentransfer generieren. Der Einbau von Inosinen rund um den Donor verhindert wahrscheinlich Guanosin-Lochfallen, wodurch effizienterer Lochtransfer ermöglicht wird. In einem weiteren Schritt wurde anstelle von Ascorbinsäure  ${}^{\text{CP}}\text{A}$  als intramolekularer Lochquencher eingebaut. Der Iridium-Komplex wurde so in einen Ein-Elektronen-Donor umgewandelt, womit ein nahes 5-Br-dU gespalten wurde. Die Interkalation des Donors und die Elektroneninjektion sind kaum verstanden.



**Abbildung 25.** Iridium Komplex von Jaqueline Barton.<sup>[97, 154, 211]</sup> Der Donor kann sowohl als Loch- als auch Überschusselektronendonator fungieren in Abhängigkeit, ob ein Reduktionsmittel vorhanden ist oder nicht. In Gegenwart von Ascorbinsäure oder  ${}^{\text{CP}}\text{A}$  kann der endständig angebrachte Komplex Grundzustandselektronen bzw. ein Grundzustandselektron auf die DNA übertragen, geschätztes  $E_{\text{red}} \approx -1.7 \text{ V}$  auf Basis von angeregten Ir(III)-Komplexen.<sup>[212]</sup>

Der von Carell und Giese entwickelte Ein-Elektronen-Donor basiert auf der Bildung eines Ketylradikals, das in einer *Norrish-Typ-I* Reaktion aus einem  $\alpha$ -Hydroxyketon erzeugt wurde.<sup>[11]</sup> Die geringe Größe, die klar definierte Position innerhalb der DNA und die exzellente irreversible Reduktionseigenschaft machen den Donor zu einem Spezialfall unter den vorgestellten Donoren. Da er keine ineffizienten multiplen Photozyklen untergeht und nicht einer Ladungsgrekombination

unterliegt, können diese störenden Nebeneffekte klar ausgeschlossen werden. Die Eigenschaft, geradema ein Elektron zu inizieren, wurde bei Experimenten mit dem CPD-Schaden eingesetzt (Abbildung 26).

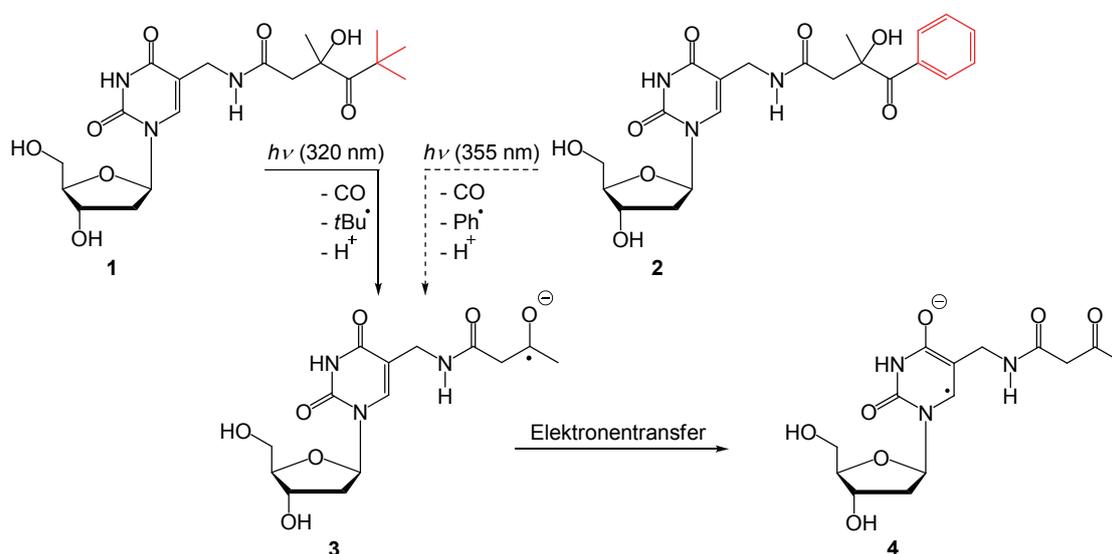


**Abbildung 26.** In Kooperation von Carell und Giese entwickelter Ein-Elektronen-Donor **D**.<sup>[11-12]</sup> Die Acyloin-Funktionalität kann in einer Norrish-Typ-I Reaktion in ein hochreduktives Ketylradikal ( $E_{red} \approx -2.1 \text{ V}$ )<sup>[213]</sup> gespalten werden.

Dabei wurden zwei CPD-Schäden konsekutiv in einen DNA-Strang eingebaut. Interessanterweise konnte ein Elektron darin nicht nur einen Schaden überspringen und den entferneren öffnen, sondern es gelang auch beide Schäden in einem Strang zu reparieren. Das ist nicht weiter verwunderlich, da nach der Schadensöffnung das katalytische Elektron nicht verlorengeht, sondern auf einem der beiden Thymidine lokalisiert ist. Obwohl der Elektrontransfer über die Distanz hinweg abnehmen sollte, wird das entferntere T=T Dimer effizienter geöffnet. Möglicherweise spielt dabei die Formation von verschiedenen Domänen, die je nach dem die Ladung günstiger und schlechter stabilisieren können, eine bedeutende Rolle. Gerade dieses schlecht erklärbares Phänomen zeigt, dass die Transfermechanismen des Überschusselektronentransfers noch nicht vollständig verstanden sind. Kinetische Untersuchungen und der Einsatz verschiedener Donoren oder Akzeptoren helfen dabei in der Auflösung solcher Prozesse. In dieser Arbeit wurde deshalb ein neuer Ein-Elektronen-Donor entwickelt, der in Kombination mit 5-Br-dU für Elektronentransferstudien verwendet werden kann.

## 2. Aufgabenstellung

Überschusselektronen-Transfer-Studien an DNA wurden bisher meist mit Chromophoren vollzogen, deren Elektronenübertragung über Ladungstrennung im angeregten Zustand geschieht.<sup>[4]</sup> *Steady state* Experimente mit diesen Chromophoren basieren auf unkontrollierbarem *multiple photocycling*, was zur Folge hat, dass eine unbekannte Menge an Elektronen pro Zeiteinheit auf die DNA übertragen wird. Die Femto- bzw. Picosekunden-Spektroskopie kann multiples *photocycling* und Mehrfachanregung der Chromophoren einschränken und Details der Elektroneninjektion aufklären, weshalb sich diese Methode für Elektronentransferstudien etabliert hat.<sup>[101, 182, 188, 209]</sup> Giese, Carell *et al.* publizierten 2004 erstmals die Verwendung eines Ein-Elektronen-Donors **1**, dessen Überschusselektron nicht der Ladungstrennung im angeregten Zustand entspringt, sondern einer irreversiblen *Norrish-Typ-I* Reaktion (Schema 13).<sup>[11]</sup>

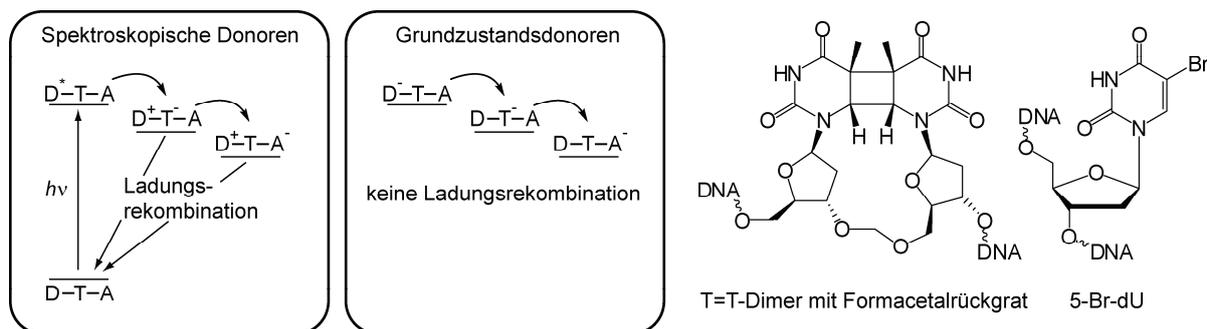


**Schema 13.** Über eine Norrish-Typ-I Reaktion wird aus Donor **1** bzw. **2** ein reduzierendes Ketylradikal **3** generiert, das ein Elektron auf die Nucleobase (**4**) bzw. DNA übertragen kann. Altes und neues Design des Ein-Elektronen-Donors: Das Pivaloyl (**1**) sollte durch ein Phenon (**3**) ersetzt werden, wodurch die zur Spaltung notwendige Wellenlänge von 320 nm auf 355 nm verschoben werden kann.

Dieser Grundzustandsdonor verhinderte eine Verzerrung der Ergebnisse durch mehrfache Ladungsinjektion und schnelle Ladungsrekombinationsreaktionen (Abbildung 27). In den Untersuchungen von Carell, Giese *et al.* wurde als Elektronenakzeptor der CPD Photoschaden verwendet. Wegen dessen langsamer Spaltung, der vielstufigen Synthese und der DNA-destabilisierenden Wirkung etablierte sich unter anderem das gut reduzierbare und schnell debromierende 5-Br-dU (5-Brom-desoxyuridin) als Elektronakzeptor.<sup>[4]</sup> Aus diesem Grund sollte in dieser Arbeit ein neuer Ein-Elektronen-Donor **2** entwickelt werden, der im Gegensatz zu seinem Vorgänger **1** auch in Kombination mit 5-Br-dU verwendet werden kann, wodurch ein direkter Vergleich der Ergebnisse mit anderen Donoren ermöglicht wird. Außerdem scheint das Elektronenaffine und schnell spaltende 5-Br-dU für die kinetische Auflösung des Elektronentransfers gut geeignet zu sein. Bisher waren Experimente mit Donor **1** und 5-Br-dU nicht möglich, da das

## 2. Aufgabenstellung

Absorptionsmaximum von 5-Br-dU mit 279 nm nahe an der Spaltungswellenlänge (320 nm) der Pivaloylfunktionalität liegt.



**Abbildung 27.** Links: Vereinfachte Darstellung der Ladungstrennung und Rekombination im Falle eines photoangeregten Donors. Der Grundzustandsdonor von Carell und Giese et al. muss keine Coulombbarriere überwinden und unterliegt nicht Ladungsrekombinationsprozessen.  $D$  = Donor,  $T$  = Thyminsequenz und  $A$  = Akzeptor. Rechts: die beiden häufig eingesetzten Elektronenakzeptoren 5-Br-dU und der CPD Photoschaden ( $T=T$  Dimer).

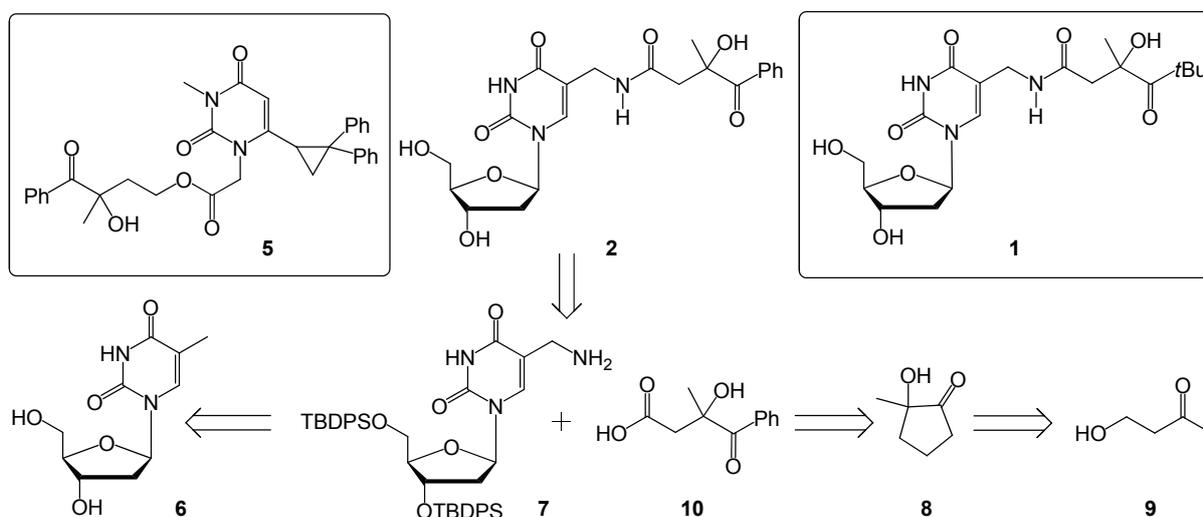
Zwar wurde verschiedene 320 nm *longpass*-Filter getestet, doch ergab sich bei allen Filtern, die die Pivaloyl-Spaltung erlaubten, auch ungewollte UV-Licht-induzierte Debromierungen. Bei dem neuen Donor **2** sollte der *tert*-Butylrest durch ein Phenylrest ersetzt werden, wodurch die *Norrish-Typ-I* Reaktion anstatt bei 320 nm bei 355 nm Wellenlänge ausgelöst werden sollte (Schema 13).

Die Möglichkeit einen derartigen Donor in Kombination mit 5-Br-dU einzusetzen, öffnet neue Möglichkeiten für mechanistische Untersuchungen des Überschusselektronentransfers. Im Gegensatz zum  $T=T$  Dimer könnten Störungen der DNA-Helix durch 5-Br-dU minimiert werden, weshalb die Interpretation erhaltener Daten vereinfacht würde.

### 3. Synthese und Charakterisierung von DNA-Doppelsträngen mit dem Ein-Elektronen-Donor 2 und 5-Br-dU

#### 3.1 Synthese des Ein-Elektronen-Donor-Nukleosids

Basierend auf den Untersuchungen von Newcomb *et al.*<sup>[214]</sup> zu der Spaltung von  $\alpha$ -Phenacyl-Alkohol **5** mit einem 355 nm Laser, wurde ein neuer Donor **2** entworfen. Analog zur Synthese von Vorgänger-Donor **1** sollte dieser in einer konvergenten Synthese hergestellt werden. Dazu wurde ein sekundäres Amid als geeignete Verknüpfungsvariante der  $\alpha$ -Phenacyl-Alkohol-Funktionalität an die Thyminnukleobase angesehen (Schema 14).



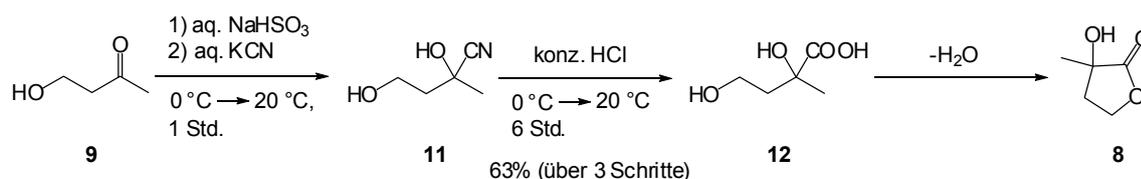
Schema 14. Retrosynthese zu Donor 2.

Ausgehend von Thymidin **6** sollte das primäre Amin **7** via radikalische Bromierung und anschließende Substitution durch Ammoniak in einer bereits etablierten Synthese hergestellt werden.<sup>[215]</sup> Die Silylether-Schutzgruppen haben sich in der radikalischen Bromierung bewährt. Als problematisch wurde aber die Möglichkeit einer Wassereliminierung an der Acyloin-Funktionalität angesehen. Im Hinblick auf die potentielle Instabilität der Acyloin Funktionalität war der Einsatz von Aminbasen bei der Amidkupplung genauso fraglich. Für den tertiären Alkohol wurde keine Schutzgruppe geplant, da Ulrich Hennecke den Einbau von Donor **1** in die DNA ohne Schutzgruppe bewerkstelligt hatte, und der Einfluss des Phenylrestes auf die Reaktivität des Alkohols als gering eingestuft wurde.<sup>[11]</sup>

Die Synthese von Lacton **8** ausgehend von Butanon **9** war bekannt und sollte im grossem Maßstab durchführbar sein. Schließlich sollte die Öffnung des Lactons **8** und die folgende Oxidation des entstehenden terminalen Alkohols zur Carbonsäure **10** führen.

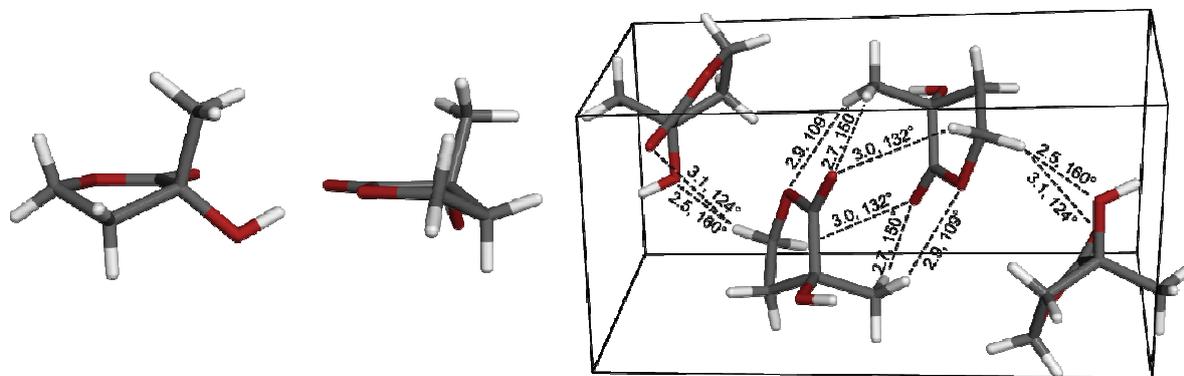
## 3.1.1 Synthese des Donor-Carbonsäure-Bausteins 10

Die bekannte Synthese von Lacton **8**<sup>[216]</sup> erfolgte über drei Schritte in guter Ausbeute. In einem ersten Schritt wurde dabei Keton **9** zu Cyanhydrin **11** umgesetzt. Wahrscheinlich erfolgt die Reaktion über ein Bisulfitaddukt,<sup>[217-218]</sup> das sich nach Zugabe von KCN in das Cyanhydrin **11** umwandelt. Hydrolyse des Nitrils mit konzentrierter Salzsäure lieferte in einem zweiten Schritt die polare Carbonsäure **12**, die in einer langwierigen Extraktion im Perforator isoliert wurde. Das dunkle Öl wurde in einem Exsikator über NaOH getrocknet, und das resultierende Lacton **8** per Destillation aufgereinigt (Schema 15).



**Schema 15.** Synthese von Lacton **8** via Cyanhydrin **11**.

In der Kristallstruktur von Lacton **8** lassen sich beide Enantiomere vorfinden (Abbildung 28). Diese bilden untereinander starke O-H $\cdots$ O Wasserstoffbrücken (in der Abbildung nicht gezeigt). Zusätzlich scheinen auch schwache C-H $\cdots$ H Wasserstoffbrücken<sup>[219-220]</sup> und eine Dipol-Dipol Wechselwirkung vorzuliegen. Das ist insofern interessant, da beide Wechselwirkungen im Zusammenhang mit dem hohen Siedepunkt von unsubstituiertem Butyrolacton diskutiert werden.<sup>[221-222]</sup>

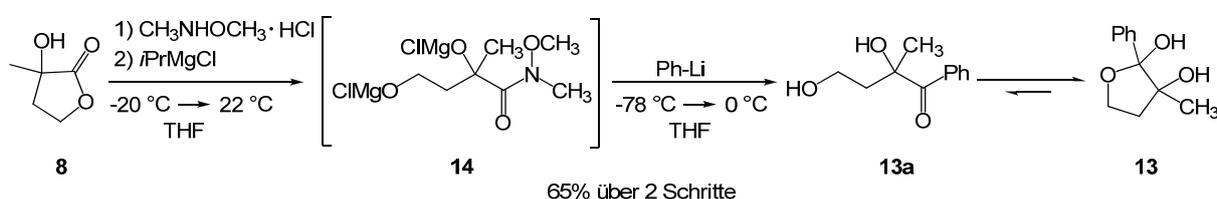


**Abbildung 28.** Kristallstruktur des Lactons **8**: Schwache C-H $\cdots$ O Wasserstoffbrücken, klassische Wasserstoffbrücken (nicht gezeigt) und Dipol-Dipol-Wechselwirkungen (zwischen den Lacton-Carbonylen) lassen sich ausmachen. Da die schwachen C-H $\cdots$ O Wasserstoffbrücken eigentlich Dipol Wechselwirkungen sind, ist die durchschnittliche C-H $\cdots$ O Distanz ca. 1 Å länger als bei typischen Wasserstoffbrücken, und die Stärke der Wechselwirkung ist winkelabhängig.

Der Siedepunkt des unsubstituierten Butyrolactons liegt mit 204 °C weit über dem Siedepunkt anderer 5-gliedriger Ringe und es wird hinterfragt, ob nicht nur der verstärkte Dipol sondern auch die hier vorgefundenen schwachen C-H $\cdots$ O Wasserstoffbrücken bei diesem physikalischen Effekt eine Rolle spielen. 5er-Ringe existieren meist in einer Briefumschlags- oder Halbsesselkonformation.<sup>[223]</sup> Wie in diesem Fall zu erwarten, liegen vier Atome (C-CO-O-C) dank der Esterfunktion in einer Ebene,<sup>[224-225]</sup>

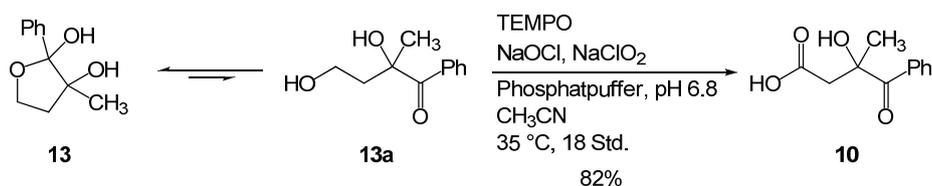
das fünfte Atom (CH<sub>2</sub>) liegt der CH<sub>3</sub>-Gruppe entgegengesetzt ausserhalb der Ebene. Dadurch wird die Methyl-Gruppe axial positioniert (Abbildung 28).

Drei Varianten zur Öffnung des Lactons **8** zu Phenon **13** wurden getestet. Die einfachste basierte auf der Zugabe von 2 Äquivalenten Phenyllithium ohne weitere Zusatzstoffe bei -78 °C. Diese führte aber zum doppelt-phenylierten tertiären Alkohol. In einem zweiten Ansatz wurde zuerst das Organocer-Reagenz hergestellt, bevor Lacton **8** zugegeben wurde. Laut Literatur sollten Cerorganyle bei tiefen Temperaturen eine selektive Öffnung zum Keton ermöglichen.<sup>[226-227]</sup> Obwohl die Temperatur sorgfältig bei -110 °C gehalten wurde, konnte das Produkt nur im Gemisch mit dem doppelt alkylierten Nebenprodukt isoliert werden. In einem dritten Ansatz wurde das Lacton **8** mit *N,O*-Dimethyl-hydroxylamin zum Weinrebamid **14** geöffnet und mit Ph-Li sofort *in situ* weiter zum Phenon **13** umgesetzt. Die Addition von Phenyllithium erfolgte aber erst, wenn die Reaktions-



**Schema 16.** Selektive Öffnung des Lactons **8** durch Phenyllithium zum Keton **13** via Weinrebamid **14**.

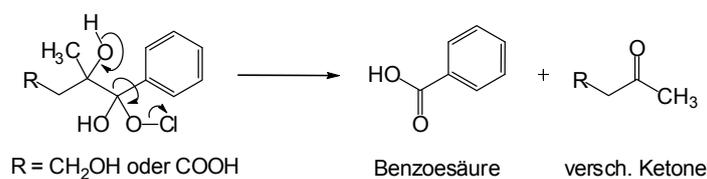
temperatur auf ca. 22 °C erhöht wurde. Das Rohprodukt ließ sich nach der typischen wässrigen Aufarbeitung und anschließender Ether-Extraktion in einem Isohexan/AcOEt-Gemisch suspendieren und überraschenderweise zeitsparend durch einfache Filtration aufreinigen (Schema 16). Dem <sup>13</sup>C-NMR zufolge liegt Diol **13a** nicht als Phenon sondern als Halbacetal **13** vor (Schema 17). Bei Phenonen ist eine chemische Verschiebung des Carbonyl-Kohlenstoffs bei  $\delta > 170$  ppm zu erwarten<sup>[228]</sup>, während bei Halbacetal **13** der entsprechende Kohlenstoff eine Verschiebung von  $\delta = 107$  ppm hat. Unter Annahme, dass das Halbacetal **13** im Gleichgewicht mit seinem acyclischen Keton **13a** liegt, wurden verschiedene Oxidationsmittel zur selektiven Oxidation des terminalen Alkohols getestet. IBX führte zur Zersetzung des Eduktes, während mit RuCl<sub>2</sub>(PP<sub>3</sub>)<sub>3</sub> gar keine Reaktion beobachtet wurde. Erst die Anwendung von TEMPO in Kombination mit NaOCl und NaClO<sub>2</sub> führte zur Carbonsäure **10**.<sup>[229]</sup>



**Schema 17.** Selektive Oxidation des terminalen Alkohols **13a** zur Carbonsäure **10**.

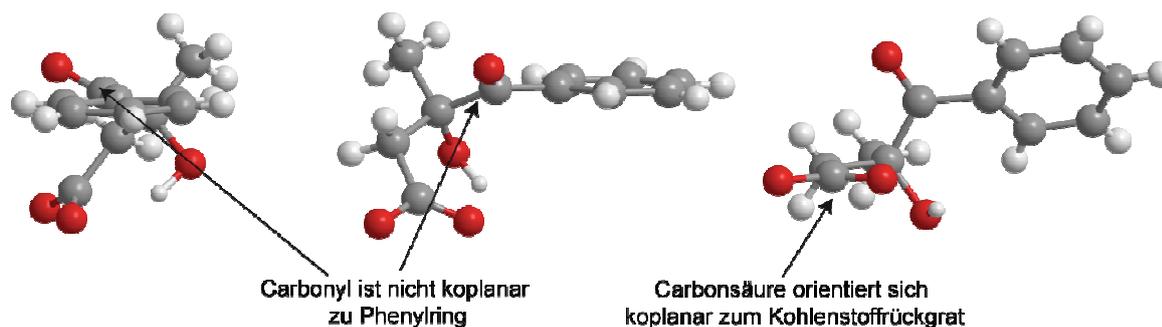
Wurde dabei ein massiver Überschuss an NaClO<sub>2</sub> (> 2 Äquiv.) eingesetzt, verschlechterte sich die Ausbeute und Nebenprodukte entstanden (Schema 18). Wahrscheinlich handelte es sich bei einem Nebenprodukt um Benzoesäure, da in der anschließenden Amidkupplung auch benzoyliertes Produkt

gefunden wurde. Die Entstehung von Benzoesäure ließe sich durch Addition von  $\text{NaClO}_2$  oder dem reaktiverem  $\text{NaOCl}$  an das Phenon und anschließender Eliminierung von Hypochlorid bzw. Chlorid erklären.



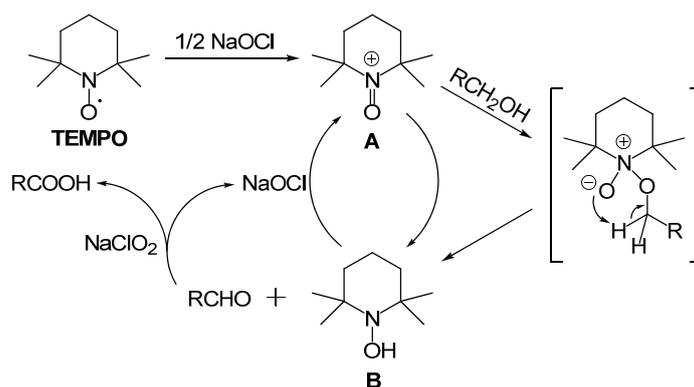
**Schema 18.** Mögliche Nebenreaktion mit Hypochlorit, die durch Überschüsse oder zu schneller Zugabe erfolgen könnte.

In der Kristallstruktur der Carbonsäure **10** lassen sich zwei interessante Phänomene hervorheben (Abbildung 29). Ersteres zeigt, dass die Carbonylgruppe nicht optimal mit dem Phenylrest konjugiert ist. Das zweite Phänomen deutet auf eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem Acyloin-OH und der Carboxylgruppe hin, da die Säure-Funktionalität mit dem Kohlenstoffrückgrat ekliptisch angeordnet ist. Letzteres lässt sich mit der Bildung der Wasserstoffbrücke erklären, die mit  $2.9 \text{ \AA}$   $\text{O} \cdots \text{O}$  Distanz und einem  $\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}$  Winkel von  $131^\circ$  noch im Rahmen einer Wasserstoffbrücke<sup>[230-231]</sup> liegt.



**Abbildung 29.** Kristallstruktur der Carbonsäure **10**. Links und Mitte: Die Carbonyl-Funktionalität liegt mit dem Phenylring nicht in einer Ebene, weshalb keine optimale Konjugation gewährleistet ist. Rechts: Die Säuregruppe orientiert sich koplanar mit dem Kohlenstoff-Rückgrat, was auf eine intramolekulare Wasserstoffbrücke mit der Acyloin-OH-Gruppe hindeutet.

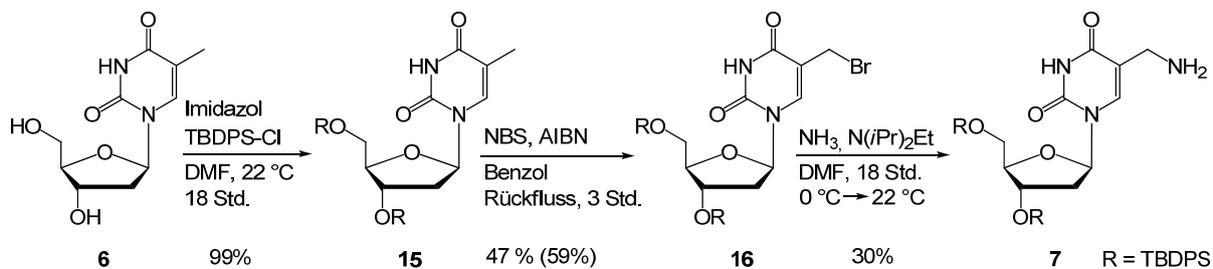
In der Reaktion primärer Alkohole zu Carbonsäuren mithilfe der TEMPO-katalysierten Oxidation wird  $\text{NaOCl}$  nur in katalytischen Mengen zugegeben, da bei Hypochlorid gerne Chlorierungen als Nebenreaktionen auftreten. Ausserdem kann es mit  $\text{NaClO}_2$  reaktives Chlordioxid bilden.<sup>[232-233]</sup> Im postulierten Katalysemechanismus<sup>[229]</sup> (Schema 19) oxidiert  $\text{NaOCl}$  das *N*-Oxidradikal zum *N*-Oxoammonium-Ion **A**, welches einen primären Alkohol unter Bildung des Hydroxylamins **B** zum Aldehyd umsetzt. Natriumchlorit oxidiert das resultierende Aldehyd zur Carbonsäure, wobei ein Molekül  $\text{NaOCl}$  regeneriert wird. Das Hydroxylamin kann nun entweder von  $\text{NaOCl}$  zum *N*-Oxoammonium-Ion **A** zurückoxidiert werden oder mit einem Oxoammonium-Ion zu zwei Molekülen TEMPO komproportionieren, wodurch der Katalysezyklus geschlossen ist. Da das entstehende Hypochlorit während des ganzen Zyklus immer wieder abgebaut wird, wird die Wahrscheinlichkeit für Nebenreaktionen verkleinert.



**Schema 19.** TEMPO-Katalyse-Zyklus. Im ersten Schritt wird N-Oxoammonium-Ion **A** hergestellt. Im zweiten Schritt kann ein Alkohol unter Bildung eines Aldehyds bzw. Hydroxylamins **B** oxidiert werden. Mit NaClO<sub>2</sub> erfolgt die weitere Oxidation zur Carbonsäure, wobei wieder NaOCl freigesetzt wird. Dieses kann den Zyklus mit der Oxidation des Hydroxylamins **B** zum N-Oxoammonium-Ion **A** wieder von vorne starten.

### 3.1.2 Synthese des Donor-Nukleosid-Bausteins

Das primäre Amin **7** wurde in 3 Schritten analog zur Synthese von Giese *et al.*<sup>[215]</sup> aus kommerziell erhältlichem Thymidin **6** hergestellt. Zuerst wurden von **6** die Hydroxy-Funktionalitäten im Standardverfahren zu TBDPS-Ethern umgesetzt. Anschließend wurden verschiedene Methoden zur radikalischen Bromierung des geschützten Thymidins **15** getestet, wobei einerseits das Lösungsmittel (Benzol oder CCl<sub>4</sub>) als auch der Radikalstarter (AIBN, Bz<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oder  $\lambda = 254$  nm) variiert wurden.

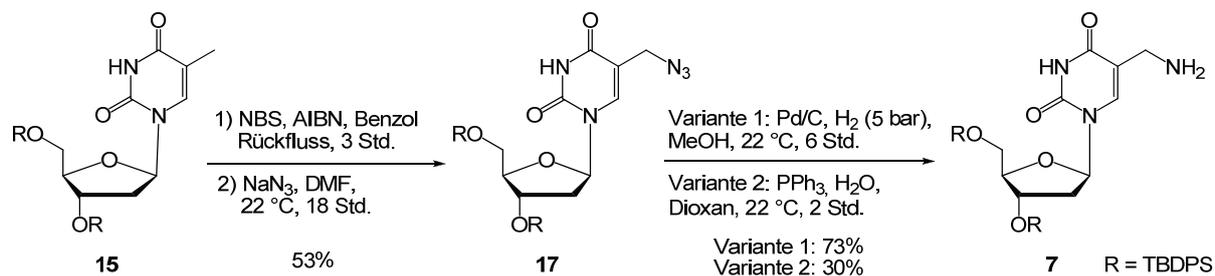


**Schema 20.** Synthese des primären Amins **7** durch radikalische Bromierung von Thymidinderivat **15**.

Als beste Variante kristallisierte sich dabei das kostengünstige Benzol in Kombination mit AIBN als Radikalstarter heraus. Das sehr labile Bromid **16** wurde schnell chromatographisch aufgereinigt und sofort mit Ammoniak in DMF umgesetzt (Schema 20). Die chromatographische Zwischenreinigung war notwendig, da das geschützte Thymidin **15** nie vollständig umgesetzt wurde und im Gegensatz zum Bromid **16** einen fast gleichen R<sub>F</sub>-Wert wie das aminierte Produkt **7** hatte. Alternativ wurde eine Synthese entwickelt, die es erlaubte, die bromierte Zwischenstufe ohne chromatographische Aufreinigung weiter umzusetzen, da dadurch die Menge der Bromid-Zersetzung reduziert werden konnte. Diese alternative Route beinhaltete einen Wechsel des Lösungsmittels zu DMF und die Zugabe von einem Überschuss an Natriumazid. Bei der anschließenden Reduktion des Azids **17**

### 3. Ergebnisse & Diskussion

erwies sich die Palladium-katalysierte Hydrierung gegenüber der Staudinger-Reaktion als effizientere und sauberer verlaufende Variante (Schema 21).

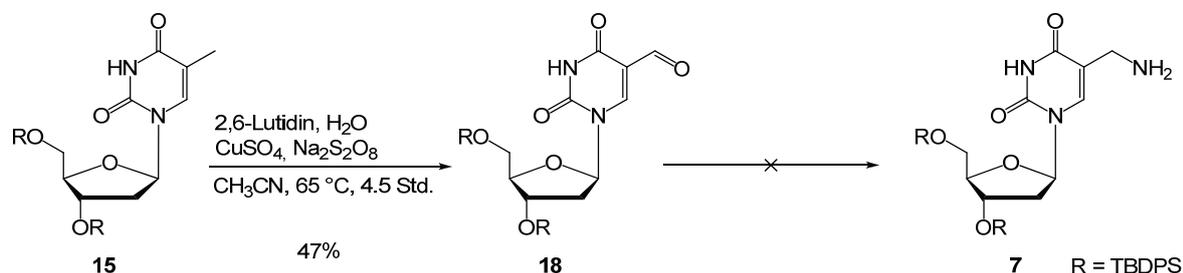


**Schema 21.** Synthese des primären Amins **7** via Azid **17**, das in einer anschließenden Staudinger Reaktion bzw. Palladium-katalysierten Reduktion mit Wasserstoff umgesetzt wurde.

Versuche, das Amin **7** über das 5-Formyl-desoxyuridin-Derivat **18** darzustellen, scheiterten an der reduktiven Aminierung, die stets zur Zersetzung des Eduktes führte (Tabelle 5, Schema 22). Dabei ist aber anzumerken, dass ein breites *Screening* an möglichen Reduktionsvarianten wie z.B. mit dem typischen  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  nicht durchgeführt wurde, da mit der parallelen Entwicklung des Syntheseweges via Azid bereits eine gute Variante entwickelt worden war. Wahrscheinlich erzeugte die Formyl-Funktionalität an der 6-Position des Nucleosids ein derart elektrophiles Zentrum, dass die Reduktionsmittel und Amin-Nucleophile auch  $\beta$ -addieren konnten.<sup>[234]</sup> Möglicherweise wären deswegen Luche Bedingungen (mit  $\text{CeCl}_3$ ) angebrachter gewesen.<sup>[235]</sup>

Amin-Reagenz:	Reduktionsmittel:	Lösungsmittel:
$\text{NH}_3$	$\text{NaBH}_4$	MeOH
$\text{NH}_4\text{OAc}$	$\text{NaBH}_4$	MeOH/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$
$\text{NH}_4\text{OAc}$	$\text{NaBH}_4$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$

**Tabelle 5.** Fehlgeschlagene Versuche zur reduktiven Aminierung von Formylderivat **18**.

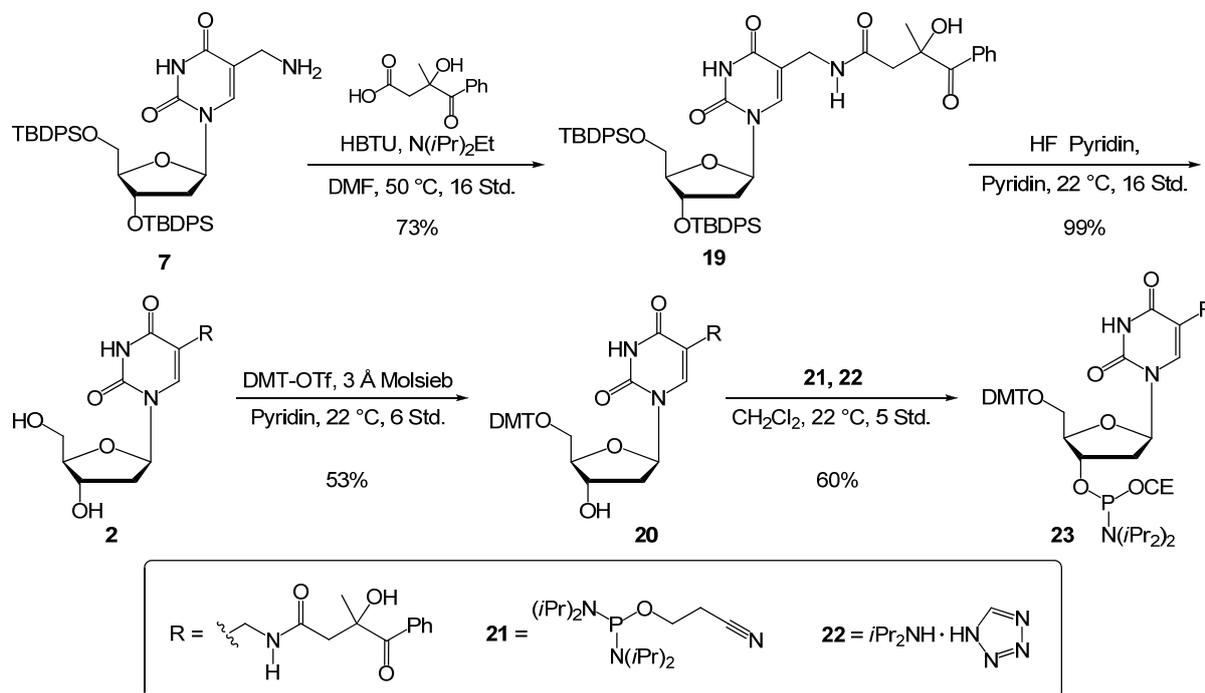


**Schema 22.** Ansatz zur Synthese des primären Amins **7** via. reduktive Aminierung.

Die Carbonsäure **10** wurde über ihren aus HBTU erzeugten Aktivester an das primäre Amin **7** gekuppelt. Anfangs war die Reaktion bei langen Reaktionszeiten von über 48 Std. von schlechten Ausbeuten (~30%) gekennzeichnet. Nachdem aber in ESI Spektren der Reaktion noch Reste des

### 3. Ergebnisse & Diskussion

Aktivesters festgestellt worden waren, konnten die Ausbeuten durch Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 50 °C drastisch erhöht (auf 73%) werden (Schema 23).

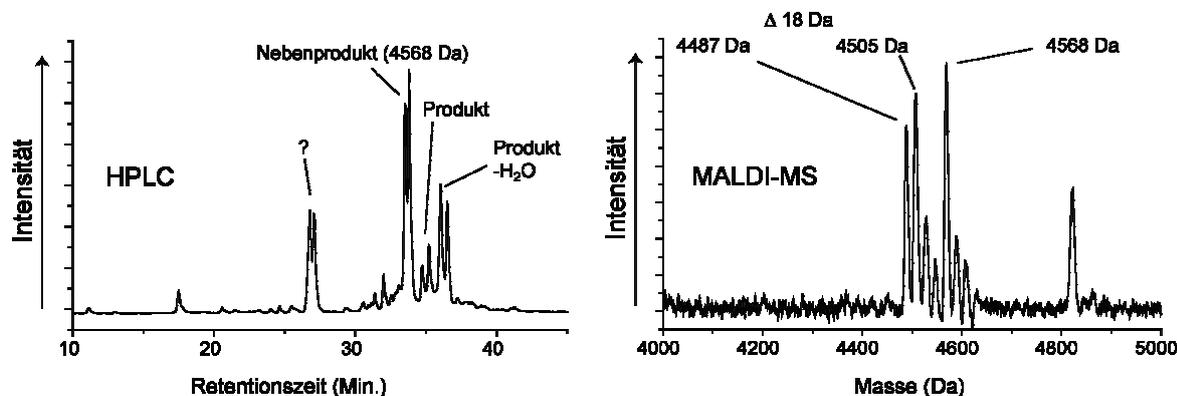


**Schema 23.** Synthese des ungeschützten Donors **2** und dessen Umsetzung zum Phosphoramidit **23**.

Das resultierende Amid **19** wurde zur Spaltung der Silylether mit TBAF umgesetzt, wobei das Tetrabutylammonium-Ion trotz chromatographischer Reinigung vom Nucleosid **19** nicht abgetrennt werden konnte. Alternativ wurde die mildere Variante mit HF·Pyridin angewendet. Für den Einbau in die DNA wurde regioselektiv die 5'-OH des freien Nucleosids **2** zuerst mit DMT-OTf zum säurelabilen DMT-Ether **20** umgewandelt. Schließlich konnten aus dem tritylierten Produkt **20** mit Diamidit **21** und Tetrazolid **22** als Aktivator das Phosphoramidit **23** in 60%-iger Ausbeute erhalten werden. Für eine erfolgreiche Phosphoramidit-Synthese war eine Entgasung der Lösungsmittel essentiell, ausserdem wurde nach einer sehr schnellen chromatographischen Reinigung das Phosphoramidit in wenig  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und mit Isohexan ausgefällt. Auf diese Weise wurde nicht reagiertes Diamidit-Reagenz entfernt. Sowohl die Stufe des DMT-Ethers **20** als auch die des Phosphoramidits **23** wurden entweder unter Anwendung von deaktiviertem Kieselgel (zuvor mit 1% Pyridin in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  behandeltes und getrocknetes Kieselgel) oder durch Zugabe von Pyridin ins Elutionsmittel chromatographisch aufgereinigt. Das verhinderte partielle saure Hydrolyse des DMT-Ethers und Zersetzung des Phosphoramidits.

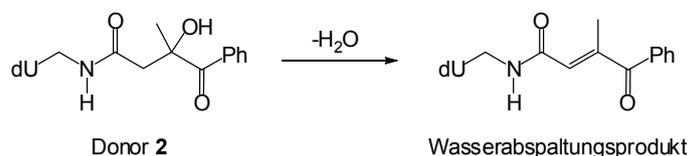
### 3.1.3 Einfluss der Amid-Bindung auf die Funktion des Donors

Phosphoramidit **23** wurde nach üblichen Vorschriften für Spezialamidite in die DNA eingebaut (Siehe Experimentalteil 5.2.1). Obwohl die DMT-Werte der Entschützungsreaktionen gut waren, konnte nach der typischen DNA-Entschützung mittels  $\text{NH}_4\text{OH}$  kaum Produkt detektiert werden. Jedoch ließ sich



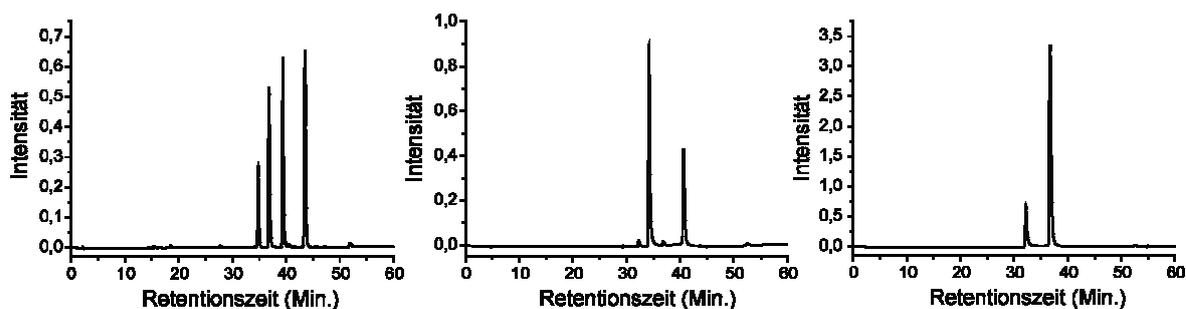
**Abbildung 30.** Links: HPLC nach der DNA-Synthese. Die Wasserabspaltung dominiert das Produktspektrum. Rechts: MALDI-MS-Analyse des Rohproduktes. Massive Wasserabspaltung (4487 Da) ist zu erkennen.

jede Menge eines Produktes beobachten, das laut MALDI 18 Dalton zu leicht war (Abbildung 30). Das war unerwartet, aber plausibel, da eine Wasserabspaltung ein stabiles  $\alpha,\beta$ -ungesättigtes Phenon ergeben würde (Schema 24). Basierend auf den Ergebnissen und Erfahrungen Uli Hennekes in Verbindung mit dem Einbau des *t*Butyl-substituierten Donors war damit gerechnet worden, dass der tertiäre Alkohol gegenüber den DNA-Synthese-Bedingungen inert ist.<sup>[11]</sup>



**Schema 24.** Eine mögliche Wasserabspaltung am Donor würde zu einem durchkonjugierten System führen.

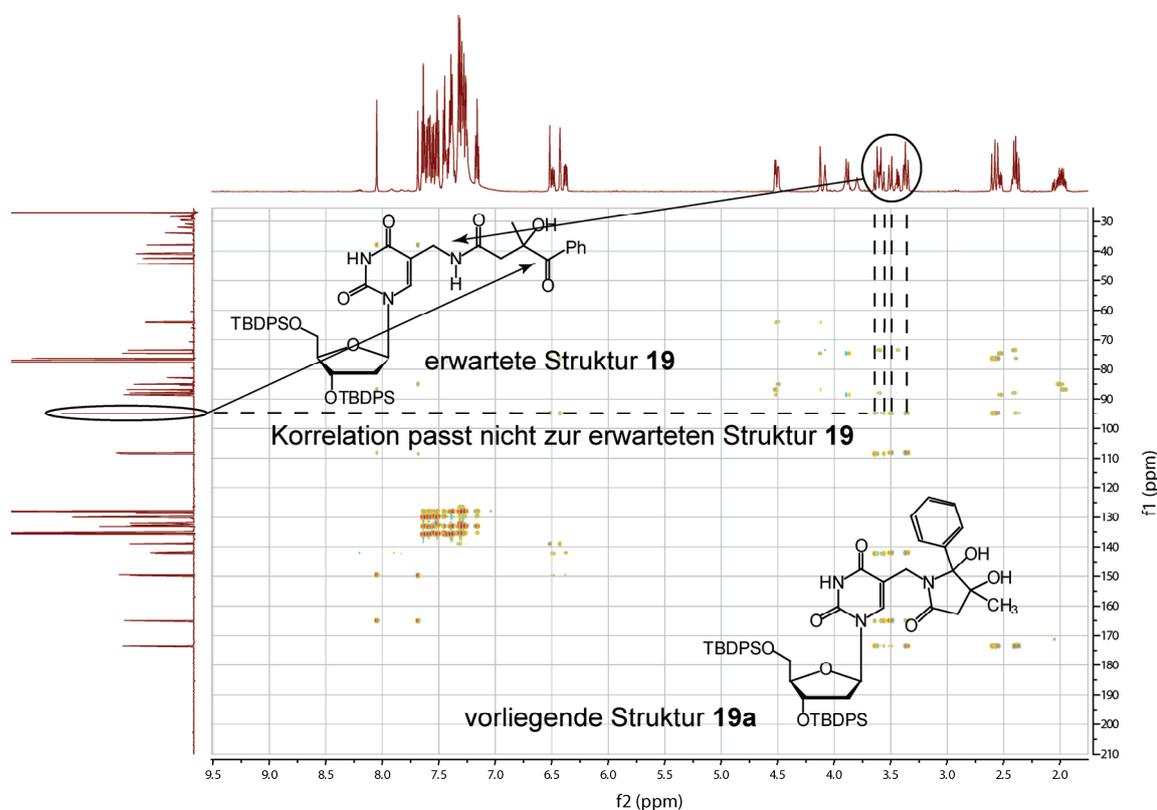
Merkwürdigerweise zeigte zudem eine HPLC-MS-Analyse des Donor-Nucleosids **2** vier Isomere gleicher Masse an, wobei eigentlich nur zwei Diastereoisomere vorhanden sein sollten. Das stand anfangs im Widerspruch zu den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren, in denen nur 2 Isomere zu sehen waren.



**Abbildung 31.** HPLC-Analyse des Donor **2** (links), wobei 4 Isomere vorzufinden sind. Jeweils zwei der Isomere stehen untereinander im Gleichgewicht, was durch eine Reinjektion der aufgereinigten Signale beobachtet werden konnte (mitte und rechts).

### 3. Ergebnisse & Diskussion

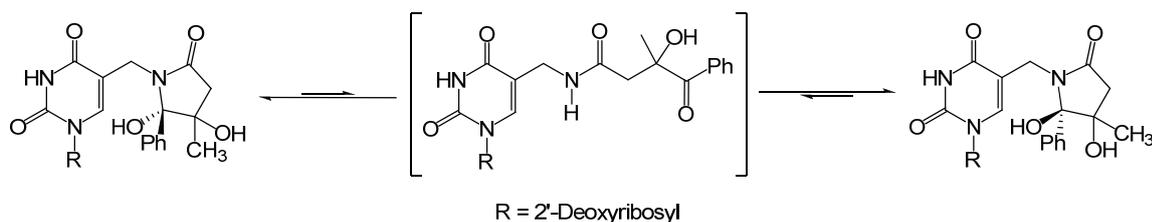
Wurde jedoch an älteren Produktproben die  $^1\text{H}$  NMR Messung wiederholt, ließen sich 4 Isomere feststellen. Die einzelnen Isomere wurden mittels analytischer *rp*-HPLC isoliert und erneut per HPLC aufgetrennt. Dabei zeigte sich durch die Anwesenheit von jeweils zwei weit getrennten Peaks, dass jeweils zwei Isomere miteinander in einem Gleichgewicht stehen (Abbildung 31). Eine mögliche Erklärung für die Existenz von 4 Isomeren war ein *cis/trans*-Konfigurationsgleichgewicht um die Amidbindung, was aber bei einem sekundären Amid bei Raumtemperatur nicht beobachtbar sein sollte, da diese in der Regel klar bevorzugt in der *trans*-Konfiguration vorliegen.<sup>[236]</sup> Die HMBC-Analyse ergab schließlich den ausschlaggebenden Hinweis, dass die Synthese zu unerwarteten Konstitutionsisomeren geführt hatte. Im HMBC Spektrum des geschützten Nucleosids **19** war ein Kreuzsignal zwischen den Methylenwasserstoffatomen und dem Phenon-Carbonyl zu sehen (Abbildung 32).



**Abbildung 32.** HMBC-Analyse des Donors **19**. Die Korrelation zwischen den Methylen-Wasserstoffatomen und dem Phenon-Carbonyl deutet auf eine Cyclisierung zum Lactam hin. Das wird durch die chemische Verschiebung des Phenon-Carbonyl-Kohlenstoffs von ca. 95 ppm bekräftigt. Oben links lässt sich anfangs angenommene Struktur und unten rechts die vorgefundene Struktur (mit Lactam) ausmachen.

Eine skalare Kopplung über 6 Bindungen ist unrealistisch, ausserdem war die chemische Verschiebung des Carbonyl-Kohlenstoffs bei 95 ppm viel zu weit hochfeldverschoben, als dass es sich um ein Phenon hätte handeln können. Als plausibles Konstitutionsisomer wurde deshalb Glykolderivat **19a** vorgeschlagen, das sowohl die HMBC Kopplung, als auch die chemische Verschiebung des Kohlenstoffs bei 95 ppm und die 4 Diastereoisomere erklärt. Mit der Bildung des Glykolderivats **19a** lägen 2 chirale Zentren an den tertiären Alkoholen vor. Das chirale Zentrum  $\alpha$  zum Phenylrest könnte

durch Öffnung des 5er-Rings (via Phenon) zwischen *R* und *S* Konfiguration equilibrieren (Schema 25), was wahrscheinlich per HPLC beobachtet worden war.



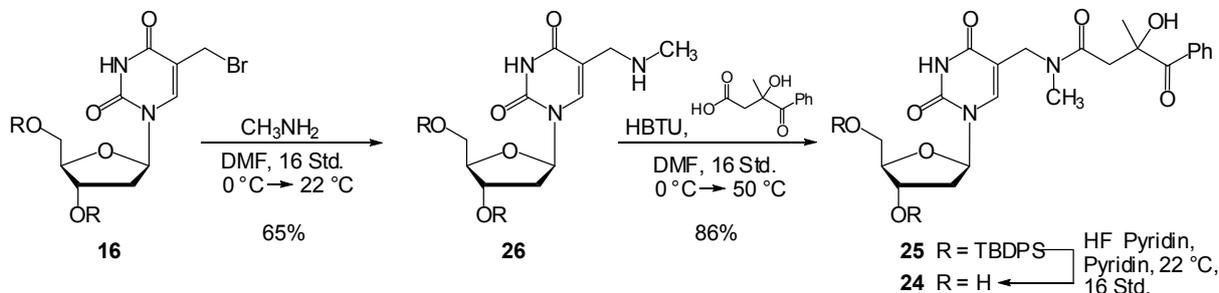
**Schema 25.** Mögliches Equilibrium des Donors **19** bzw. **19a**, das zu den 4 Isomeren geführt hatte.

Zur Überprüfung der postulierten Struktur **19a** wurden inverse  $^{15}\text{N}$ -HSQC und  $^{15}\text{N}$ -HMBC Spektren aufgenommen. Im entkoppelten  $^{15}\text{N}$ -HSQC Spektrum ließ sich nur ein Kreuzsignal zu dem Imid-Wasserstoffatom identifizieren. Diese HSQC-Korrelation wurde zudem durch das nicht entkoppelte  $^{15}\text{N}$ -HMBC Spektrum unterstützt, welches im entsprechenden Kreuzsignal nur eine  $^1J_{\text{NH}}$  Kopplung von ca.  $\delta = -114$  Hz aufwies. Das Fehlen weiterer HSQC Korrelationen und grosser  $^1J_{\text{NH}}$  Kopplungskonstanten im HMBC Spektrum deutete auf ein korrektes Strukturpostulat des Konstitutionsisomers **19a** hin. Korrelationen zwischen den Methylen-Wasserstoffatomen und dem Amidstickstoff wurden im HMBC nicht detektiert.

In der Annahme, dass die Donor-Diastereoisomere miteinander im Gleichgewicht stehen, und dieser Gleichgewichtsprozess über das photolytisch aktive Phenon verläuft, wurden Belichtungen durchgeführt. Da aber nach 30 min Belichtungszeit (1000 W,  $\lambda > 320$  nm) keine *Norrish-Typ I* Reaktion am Phenon zu sehen war, wurde die Synthese eines neuen Donors entworfen, der im Gegensatz zu Phenon **2** eine Methylgruppe am Amid beinhalten sollte. Das tertiäre Amid sollte die postulierte Cyclisierung zu einem Lactam verhindern.

3.1.4 Synthese und Charakterisierung des Donors **24** mit einer tertiären Amid-Bindung

Analog zu Synthese des Donors **2** wurde Methylamin über das bromierte Thymidinderivat **16** eingeführt. Angenehmerweise verlangte sowohl die Reaktion zum tertiären Amid **25** als auch die anschließende Entschützung keine weitere Optimierung der Reaktionsbedingungen, wodurch die



Schema 26. Synthese des Donors **24** mit einer tertiären Amidbindung aus dem sekundären Amin **26** und Carbonsäure **10**.

Synthese des neuen Donor rasch vollzogen werden konnte (Schema 26). Im Gegensatz zu Lactam **2** war im  $^{13}\text{C}$ -NMR des Donors **24** ein Phenon-Carbonyl mit einer Verschiebung von 205 ppm vorzufinden. Das UV-Spektrum des Donors **24** zeigte zudem eine schwache Schulter bei  $\lambda = 325$  nm, was ebenfalls typisch für Phenone ist (Abbildung 33).<sup>[237]</sup> Der geringe Extinktionskoeffizient

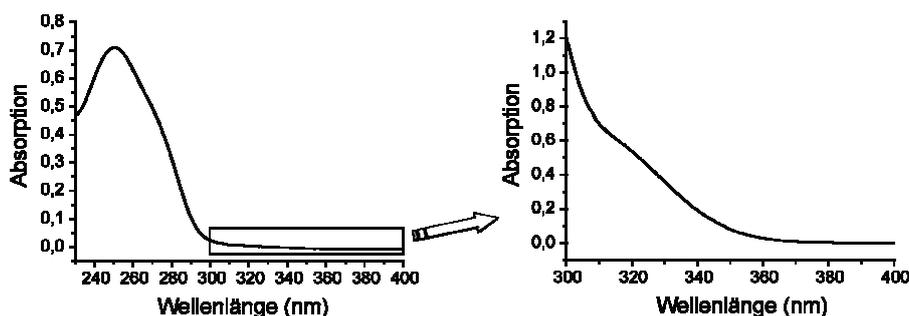
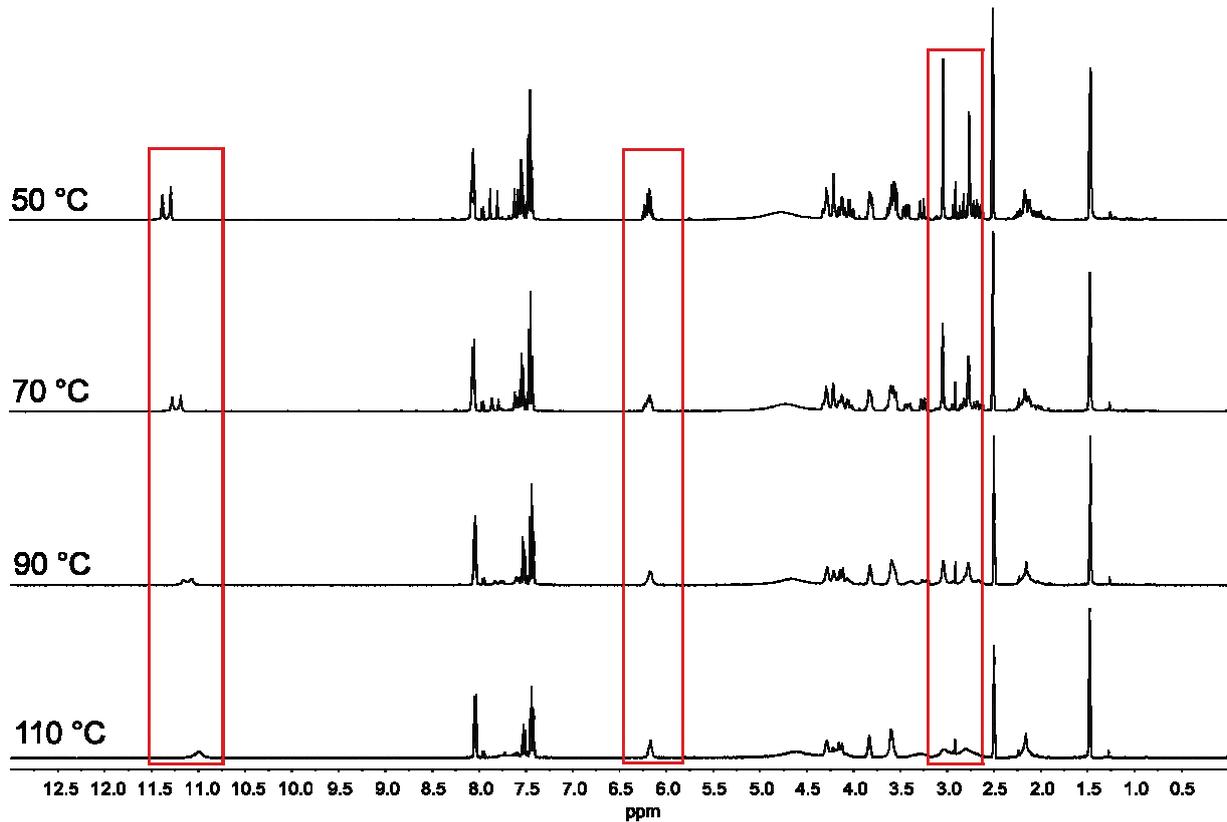


Abbildung 33. UV Absorption des Donors bei  $70 \mu\text{M}$  (230 – 400 nm) und  $15 \text{ mM}$  (300 – 400 nm).

$\epsilon_{340} = 37 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  stimmte gut mit den Literaturwerten für Acetophenon überein.<sup>[238]</sup> Im  $^1\text{H}$ -NMR waren wieder 4 Diastereoisomere zu beobachten, doch in diesem Fall konnte das auf die *cis/trans*-Isomerie der Amidbindung zurückgeführt werden. Meist wird auch bei tertiären Amiden die *trans*-Konfiguration bevorzugt, weshalb ein Verhältnis von ca. 1:3 (laut  $^1\text{H}$ -NMR in  $\text{CDCl}_3$ ) zugunsten der *trans*-Isomere plausibel erschien.<sup>[239-240]</sup> Die 4 Diastereoisomere ließen sich nicht per *rp*-HPLC auftrennen, jedoch konnte das *cis/trans* Gleichgewicht per  $^1\text{H}$ -NMR in  $\text{DMSO-d}_6$  verfolgt werden (Abbildung 34). Interessanterweise beeinflusste das Lösungsmittel ( $\text{DMSO}$ ) das *cis/trans*-Gleichgewicht derart, dass die Konfigurationsisomere in dem polaren Medium nun in einem Verhältnis von 1:1 auftraten. Dadurch ließ sich die Berechnung der Aktivierungsenergie um die *cis/trans*-Bindung massiv vereinfachen. Bei einer Frequenz von 400 MHz wurde für die Imidprotonen ( $50^\circ\text{C}$ ,  $\Delta\nu = 37 \text{ Hz}$ ) eine Koaleszenztemperatur von  $110^\circ\text{C}$  und für die  $\text{H1}'$  Atome ( $50^\circ\text{C}$ ,  $\Delta\nu = 13 \text{ Hz}$ ) eine von ca.  $90^\circ\text{C}$  gemessen. Im Falle anderer Funktionalitäten wie zum Beispiel der Amid-Methylgruppen ( $50^\circ\text{C}$ ,  $\Delta\nu = 113 \text{ Hz}$ ) wurde die Koaleszenztemperatur nicht erreicht.



**Abbildung 34.** Koaleszenz-Temperatur-Analyse des Donors in DMSO. Rot hervorgehoben sind folgende Funktionalitäten (v.l.n.r.): Imid, HI', N-CH<sub>3</sub>. Die Abhängigkeit der Koaleszenztemperatur von  $\Delta\nu$  lässt sich in diesen Fällen klar erkennen.

### Berechnung der Aktivierungsenergie für die *cis-trans*-Isomerisierung:<sup>[241]</sup>

Die Isomerisierung zweier Verbindungen in einem Gleichgewichts lässt sich durch die Geschwindigkeitskonstanten der Vor- und Rückreaktion beschreiben (1). Sind beide gleich groß, deutet dies auf einen annähernd gleichen Energiezustand der beiden Isomere hin:

$$K = 1 = \frac{k_{Hin}}{k_{Rück}} \quad \text{bzw.} \quad k_{Hin} \cong k_{Rück} \cong k \quad (1)$$

Bei einem derartigen 1:1 Verhältnis lässt sich einfach auf Basis der Eyringschen Gleichung 2 aus der Geschwindigkeitskonstante  $k$  am Koaleszenzpunkt die Freie Aktivierungsenergie  $\Delta G^\ddagger$  berechnen.

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger / RT} \quad \text{bzw. nach } \Delta G^\ddagger \text{ aufgelöst} \quad \Delta G^\ddagger = RT \ln \frac{k_B T}{hk} \quad (2)$$

$k_B$  = Boltzmann-Konstante =  $1.3805 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$

$h$  = Plancksches Wirkungsquantum =  $6.6256 \cdot 10^{-34} \text{ J s}$

$T_C$  = Koaleszenztemperatur

$R$  = Universelle Gaskonstante =  $8.3144 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

### 3. Ergebnisse & Diskussion

---

$k = k_C$  = Geschwindigkeitskonstante am Koaleszenzpkt., sie kann über Gleichung 3 erhalten werden:

$$k_C = \frac{\pi\Delta\nu}{\sqrt{2}} \quad (3)$$

$\Delta\nu$  = Abstand der beiden Signale in Hz bei Raumtemperatur.

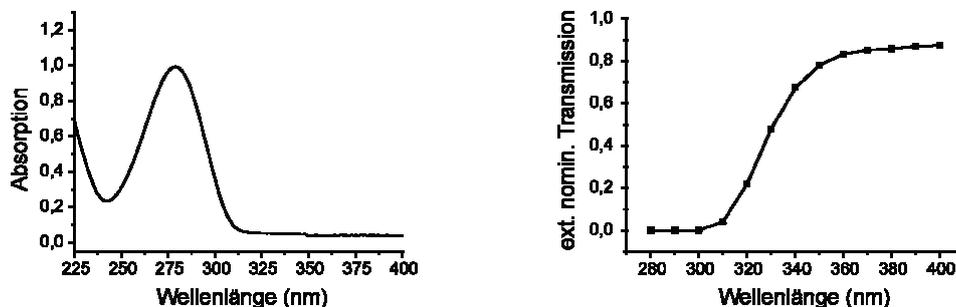
Setzt man nun alle Konstanten und Gleichung 3 in die Eyringsche Gleichung 2 ein, erhält man Gleichung 4 (die Einheiten wurden aus Übersichtsgründen weggelassen):

$$\Delta G^\ddagger = 8.3144 \cdot T_C \cdot (22.96 + \ln \frac{T_C}{\Delta\nu}) \quad (4)$$

Für die Imidprotonen mit  $\Delta\nu = 37$  Hz und der Koaleszenztemperatur von 383 K (110 °C) ergibt sich dann  $\Delta G^\ddagger = 81$  kJ mol<sup>-1</sup> bzw. 19 kcal mol<sup>-1</sup>. Nimmt man den Wert  $\Delta\nu = 13$  Hz und die Koaleszenztemperatur von 363 K (90 °C) wie im Falle der H1'-Protonen, erhält man die gleiche Freie Aktivierungsenergie  $\Delta G^\ddagger = 79$  kJ mol<sup>-1</sup> bzw. 19 kcal mol<sup>-1</sup>. Diese Werte stimmen sehr gut mit Aktivierungsenergien (18 – 21 kcal mol<sup>-1</sup>) überein, die bei Prolin-enthaltenden Peptiden<sup>[239]</sup> oder methylierten Alanin-Dipeptiden<sup>[240]</sup> gemessen wurden.

### 3.2 Belichtung des Donors 24

Für die Belichtung des Donors wurde ein Filter verwendet, der es erlaubte, den Donor in Gegenwart von 5-Br-dU zu bestrahlen (Abbildung 35).



**Abbildung 35.** Vergleich der UV Absorption von 5-Brom-desoxyuridin mit der Transmission des Filters C3C17, der eine lichtinduzierte Debromierung verhindert, indem er nur langwelliges Licht ( $\lambda > 310$  nm) passieren lässt.

Kurzwelliges UV-Licht kann eine Debromierung bewirken und muss daher herausgefiltert werden. 5-Br-dU hat sein Absorptionsmaximum bei  $\lambda_{\max} = 279$  nm ( $\epsilon_{279} = 9700$  M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) und zeigt ab ca. 310 nm kaum Absorption.<sup>[192, 242]</sup> Der verwendete Filter (C3C17) entspricht einem 330 nm *longpass*-Filter und absorbiert effizient UV-Licht mit Wellenlängen kleiner 310 nm. Als Filtertest wurde 5-Br-dU zwei Stunden bei voller Lampenleistung (1000 W) belichtet. Die anschließende HPLC Analyse des Belichtungsexperiments ließ keinerlei Debromierung erkennen.

#### 3.2.1 Norrish-Typ I Reaktion des Donors 24 in MeOH/Wasser und Puffer

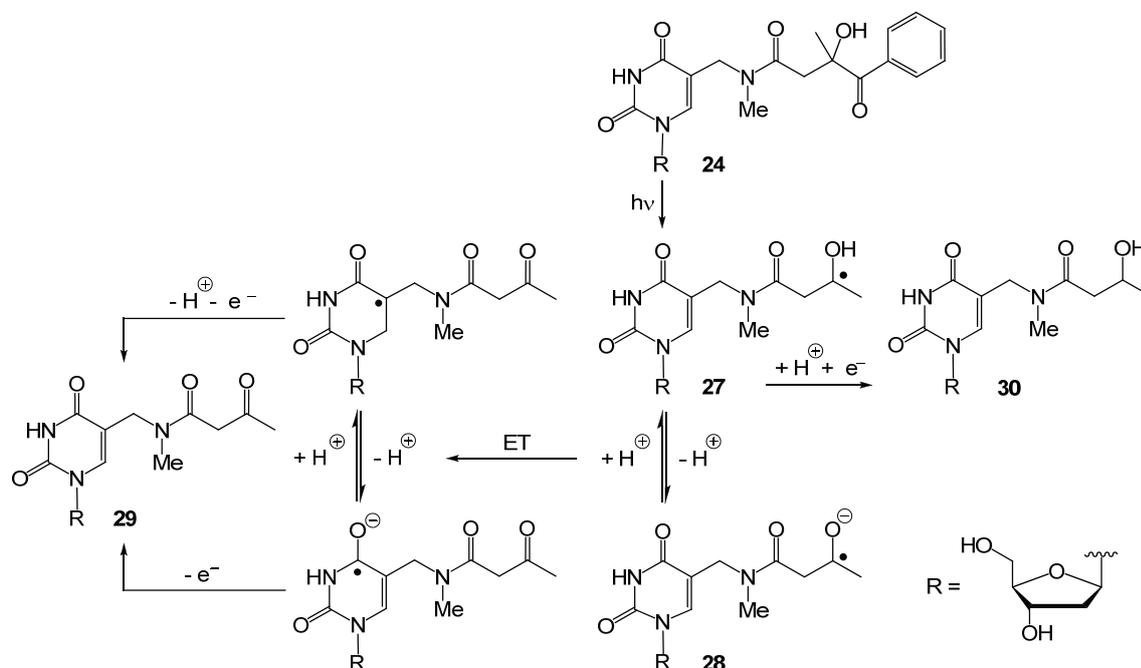
Der Ein-Elektronen-Donation liegt eine chemische Reaktion zugrunde, die *Norrish Typ I* Reaktion, die durch energiereiche Bestrahlung eines Ketons ausgelöst wird.<sup>[243-244]</sup> Die *Norrish-Typ II* Reaktion ist bei dem neuen Donor nicht relevant, da keine  $\gamma$ -Wasserstoffatome vorhanden sind (Schema 27).



**Schema 27.** Links: Norrish Typ I Spaltung. Rechts: Norrish Typ II Spaltung mit intramolekularer  $\gamma$ -Wasserstoffabstraktion.

Im Falle des neuen Donors **24** wird mit UV-Licht der Wellenlänge ( $\lambda \geq 340$  nm) ein Phenon angeregt, wobei ein Elektron einen  $n \rightarrow \pi^*$  Orbital-Übergang durchläuft. Der angeregte Zustand kann in der Regel in ein Acyl- und ein Alkylradikal spalten, wobei das Acylradikal in einem sekundären Prozess oft CO verliert.<sup>[245]</sup> Da aber in dem neuen Donor **24** eine Acyloin-Funktionalität gespalten wird, bilden sich ein Acyl- und ein Alkoxyradikal **27**. Letzteres hat einen pK<sub>a</sub> von ca. 12.1 und steht mit dem Ketylradikalanion **28** im Gleichgewicht (Schema 28).<sup>[246-247]</sup> In Abhängigkeit, ob nun ein Alkoxy- oder

Ketylradikal-anion vorliegt, verändern sich auch die Reduktionseigenschaften des Donors.<sup>[248-249]</sup> Beide könnten unter Bildung des  $\beta$ -Keto-amids **29** ein Elektron auf die Nucleobase übertragen. Ob die Reaktion über das Alkoxyradikal **27** oder das Ketylradikalanion **28** verläuft, lässt sich grob anhand der Reduktionspotentiale abschätzen. Das Alkoxyradikal **27** hat ein Reduktionspotential von  $E_{\text{red}} = -1.4 \text{ V}$ , während das Ketylradikalanion **28** ein Reduktionspotential von  $E_{\text{red}} = -2.5 \text{ V}$  besitzt.<sup>[248]</sup>



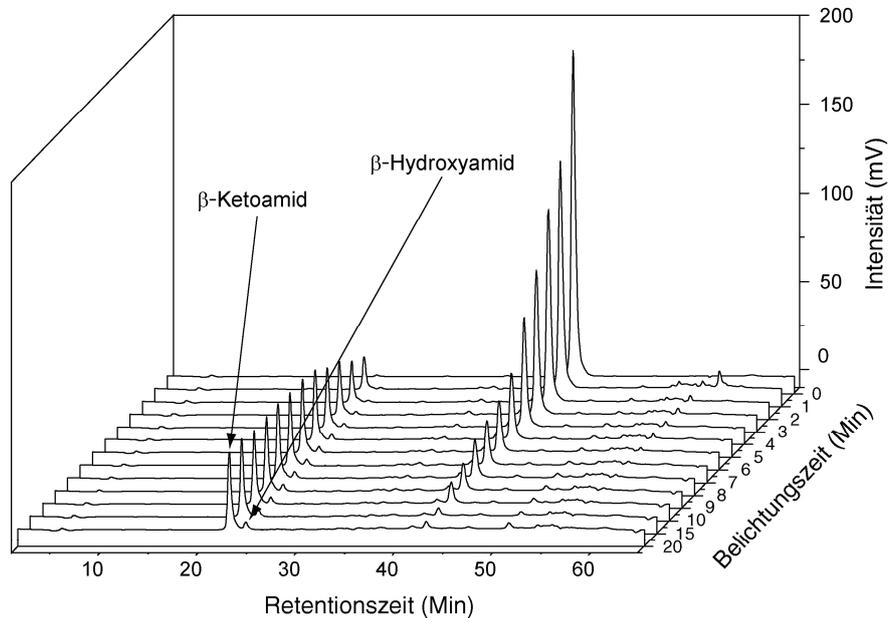
**Schema 28.** Nach der Norrish Typ I Spaltung kann ein Elektronentransfer (ET) auf die Nucleobase vom Alkoxyradikal **27** bzw. Ketylradikalanion **28** erfolgen. Quenchen des Radikals durch das Lösungsmittel führt zu  $\beta$ -Hydroxyamid **30**.

Thymin mit einem Reduktionspotential von  $E_{\text{red}} = -1.7 \text{ V}$  bis  $-2.2 \text{ V}$ <sup>[62]</sup> ließe sich demnach wahrscheinlich nur durch das Anion reduzieren. Da die folgenden Experimente alle in  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  (4:1) Gemischen oder in Tris/HCl Puffer (pH 7.4) durchgeführt wurden, sollte der Donor nur in Form des protonierten Alkoxyradikals **27** vorliegen, dessen Reduktionspotential jedoch nicht für eine Reduktion von Thymin in Frage kommt. In der Doktorarbeit von *Barbara Carl*<sup>[215]</sup> bei *Prof. Dr. Bernd Giese* wurde die pH Abhängigkeit extensiv getestet und selbst bei pH 4 konnte noch Elektronentransfer auf Thymin beobachtet werden. Daraus ergab sich, dass selbst ein Alkoxyradikal **27**/Ketyl **28**-Gleichgewicht, das stark auf Seite des Alkoxyradikals **27** liegt, noch eine genügende Menge an Anion hervorbringen kann, um Elektronentransfer effizient zu bewirken. Ausserdem wurde die Effizienz des Elektrontransfers zum einen durch Zugabe von Radikalquenchern zum anderen via ESR Experimente nachgewiesen.<sup>[11]</sup> Ersteres zeigte, dass das Elektron auch in Gegenwart von Quenchern effizient auf die Base übertragen wird, letzteres, dass das Elektron auch wirklich auf der Nucleobase zu liegen kommt und nicht ins Lösungsmittel übertragen wird. Quenching des Alkoxyradikals **27** führt zu  $\beta$ -Hydroxyamid **30**, wodurch kein Elektron mehr auf die Nucleobase übertragen werden kann.

Mit der Einführung eines tertiären Amids musste die Elektronenübertragung auf die Nucleobase erneut untersucht werden. Dazu wurden  $70 \mu\text{M}$  Lösungen des Donors **24** in Wasser/MeOH (4:1)

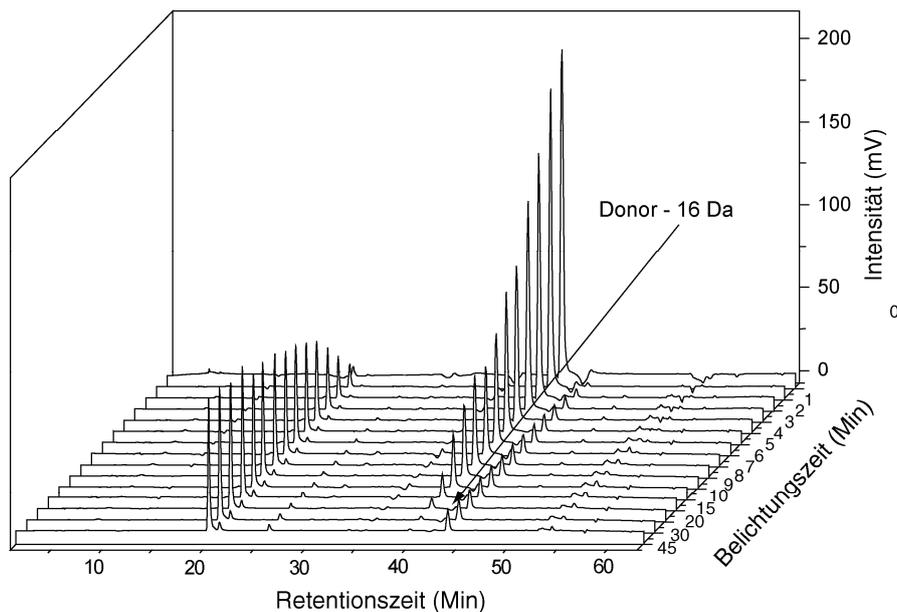
### 3. Ergebnisse & Diskussion

hergestellt, durch Einleiten von Argon durch die Lösung entgast (45 Min) und belichtet. Das MeOH war wichtig, um das apolare Donor-Nukleosid in Lösung zu bringen. In einem weiteren Experiment wurde der Donor in dem Puffer (Tris/HCl, pH 7.4, ~2% MeOH) belichtet, in dem auch die DNA belichtet werden würde (Abbildung 36).



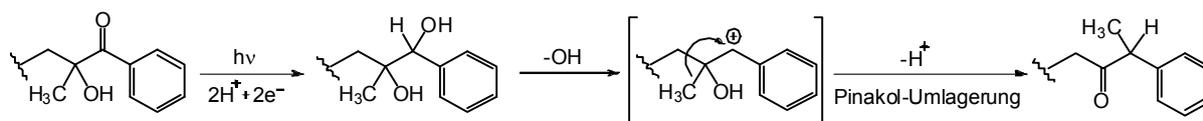
**Abbildung 36.** Belichtung des Donors **24** in Wasser/MeOH (4:1).

Während der Belichtung wurden im Abstand von wenigen Minuten Proben entnommen und per HPLC analysiert. Innerhalb von 20 Minuten wurde fast die gesamte Menge an Donornukleosid **24** umgesetzt (Abbildung 36). Nach voller Umsetzung ließ sich ein Hauptprodukt bei einer Retentionszeit von ca. 20 Minuten erkennen. Ein bis zwei Minuten später wurde ein Nebenprodukt eluiert und im Falle der



**Abbildung 37.** HPLC Spektren. Belichtung des Donors in in Puffer (Tris/HCl, pH 7.4, ~2% MeOH). Es lässt sich im Puffer-system ein zusätzliches Nebenprodukt der bei ca. 44 Minuten erkennen.

Belichtung in Tris/HCl-Puffer ein weiteres bei ca. 44 Minuten (Abbildung 37). Die Annahme, dass es sich bei dem Hauptprodukt um das  $\beta$ -Ketoamid **29** handelte und bei dem kurz Darauf folgenden um das  $\beta$ -Hydroxyamid **30** wurde mit HPLC-MS bekräftigt. Interessanterweise wurde im gepufferten System ein weiteres Nebenprodukt in geringen Mengen vorgefunden, dessen Masse genau einem Verlust von Sauerstoff gegenüber der Eduktmasse entsprach. Eine mögliche Erklärung wäre eine intra- oder intermolekulare Wasserstoffabstraktion durch den angeregten Zustand mit anschließender Pinakolumlagerung (Schema 29). Dagegen spricht jedoch, dass Pinakolumlagerungen meist durch Säure katalysiert werden, um aus einer der Hydroxygruppen eine gute Abgangsgruppen zu machen.



**Schema 29.** Möglicher Reaktionsweg (via Wasserstoffabstraktionen im angeregten Zustand und anschließende Pinakolumlagerung), der zu einem Massenverlust von -16 Daltons (Sauerstoff) führen könnte.

Außerdem ist eine entfernte intramolekulare Wasserstoffabstraktion, welche einer *Norrish-Typ-II* Reaktion ähnlich käme, eher unwahrscheinlich.<sup>[250-251]</sup> Dass eine Pufferkomponente entscheidenden Einfluss hat, liegt nahe, doch z.B. protonengekoppelter Elektronentransfer von Aminen auf angeregte Phenone verlangt meist Wasserstoffatome in  $\alpha$ -Position zum Amin.<sup>[252]</sup> Das ist beim verwendeten Tris (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan) nicht der Fall. Wie der Massenverlust von 16 Da genau zustande kommt, bleibt somit spekulativ.

## 3.2.2 Effizienz des neuen Donors

In den Belichtungen des Donor-Nukleosids **24** bilden sich bereits innerhalb einer Minute erste Spaltungsprodukte, wobei die Intensitäten der Produktpeaks deutlich unter der des Eduktes liegen. Derselbe Effekt wurde auch beobachtet, als die Reaktionslösung im UV in Zeitabständen von 0, 3, 5 und 20 Minuten untersucht wurde (Abbildung 38). Die maximale Absorption nimmt um ca. 50% ab (von 0.7 auf 0.35). Zudem ist eine bathochrome Verschiebung sichtbar, in der sich das Maximum von 251 nm bei 0 Minuten um 14 nm auf 265 nm verschiebt. Um die bathochrome Verschiebung

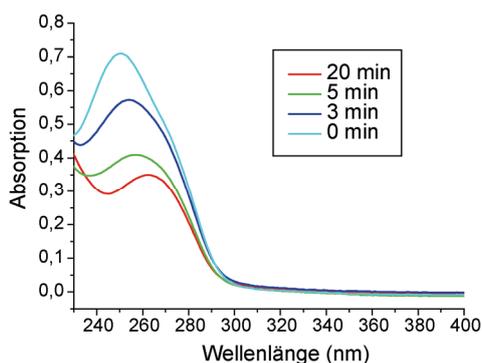
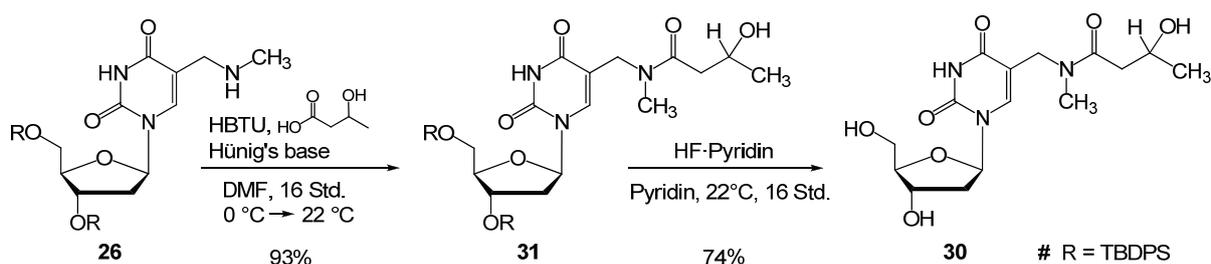


Abbildung 38. Bathochrome Verschiebung und Intensitätsverlust während der Belichtung des Donors **24**.

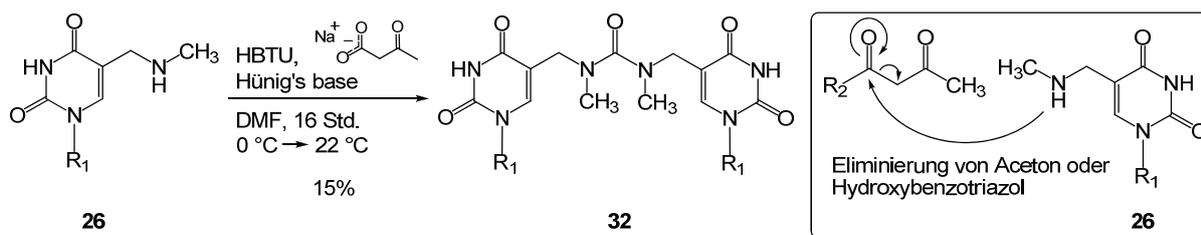
zu erklären und die genaue Ausbeute der Reaktion in MeOH/Wasser (1:4) zu bestimmen, wurden die Zersetzungsprodukte **29** und **30** synthetisiert und ihre Extinktionskoeffizienten gemessen. Die Synthese erfolgte bis zur Stufe des sekundärenamins **26** analog zur Synthese des Donors **24**. Für die Synthese des Hydroxids **30** wurde kommerziell erhältliche 3-Hydroxy-buttersäure mit HBTU in DMF zum Aktivester umgesetzt und so an das Amin gekuppelt. Die Reaktion erfolgte effizient bei Raumtemperatur über Nacht mit sehr guter Ausbeute (93%). Die TBDPS-Schutzgruppen von **31** wurden anschließend in HF•Pyridin in Pyridin mit 74%-iger Ausbeute abgespalten (Schema 30).



Schema 30. Synthese des  $\beta$ -Hydroxy-amids **30** aus Amin **26** über das geschützte Derivat **31**.

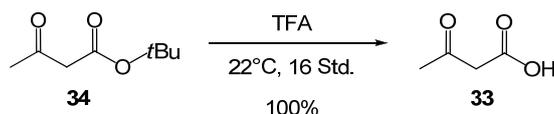
Die Synthese des  $\beta$ -Keto-amids **29** sollte anfänglich ebenfalls von dem sekundären Amin **26** aus erfolgen, wobei das HBTU-Protokoll in Kombination mit dem kommerziell erhältlichen 3-Keto-buttersäure-Natriumsalz zu Zersetzung und Nebenprodukt **32** führte (Schema 31). Die Masse des Nebenprodukts entsprach mit 1521 Da bei weitem nicht der des Produktes (831 Da). Im  $^1\text{H-NMR}$  ließen sich nur geringfügige Verschiebungen feststellen, jedoch war im  $^{13}\text{C-NMR}$  bei 164 ppm ein Kohlenstoff zu viel vorzufinden. Aufgrund der Masse wurde eine Dimerbildung vermutet.

### 3. Ergebnisse & Diskussion



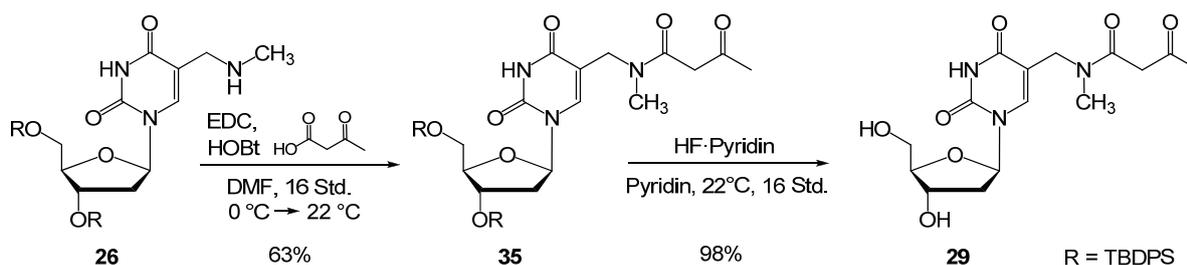
**Schema 31.** Nebenprodukt bei der Kupplung von 3-Ketobuttersäuresalz mit HBTU. Im Kasten ist die Retroaldoladdition gezeigt, die unter Bildung von Aceton zu Nebenprodukt **32** geführt haben könnte. Entweder eliminiert in einem ersten Schritt das Hydroxybenzotriazol oder das Retroaldolprodukt Aceton.  $R_1 = 3',5'$ -Bis-TBDPS-2'-Desoxyribose,  $R_2 =$  kovalentes Addukt mit Hydroxybenzotriazol oder dem sekundären Amin **26**.

Eine quantitative  $^{13}C$ -NMR Analyse mit Blick auf den „164 ppm-Kohlenstoff“ bekräftigte dabei die Vermutung, dass es sich bei dem Dimer um das Harnstoffderivat **32** handeln könne. Wahrscheinlich wurde die Kettobuttersäure in den Aktivester umgewandelt, und sowohl Hydroxybenzotriazol als auch Aceton (Retroaldol-Typ-Reaktion) könnten dann in Gegenwart von Hünigbase als Abgangsgruppen fungieren, wodurch zwei Kupplungen unter Bildung des Harnstoffderivats **32** möglich wären. Alternativ wurde ein Kupplungsprotokoll mit der Ketobuttersäure, EDC und HOBT ohne Zusatz von Hünigbase angewendet. Die Ketobuttersäure **33** musste dazu nach einem Literaturprozedere<sup>[253]</sup> hergestellt werden, indem der *tert*-Butylester der Buttersäure **34** sauer gespalten wurde (Schema 32).



**Schema 32.** Synthese der 3-Ketobuttersäure **33**.

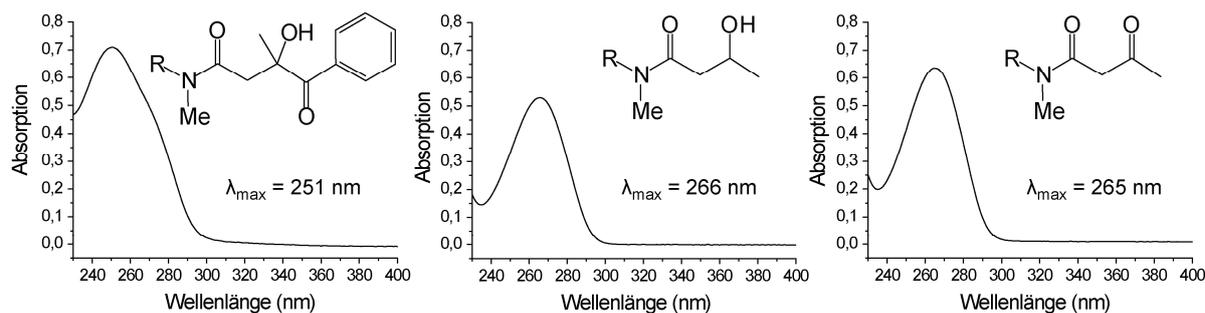
Mit dem neuen Protokoll konnte schließlich das geschützte  $\beta$ -Ketoamid **35** mit einer Ausbeute von 63% isoliert werden. Die Entschützung erfolgte mit HF•Pyridin in Pyridin mit 98% in exzellenter Ausbeute (Schema 33).



**Schema 33.** Synthese des  $\beta$ -Keto-amids **29** mit EDC und HOBT.

Sowohl von  $\beta$ -Keto-amid **29** und  $\beta$ -Hydroxy-amid **30** wurden die Extinktionskoeffizienten in Wasser/MeOH (4:1) bestimmt (Abbildung 39). Details zur experimentellen Bestimmung der Extinktionskoeffizienten sind im Experimentaltail unter Kapitel 5.1 zu finden. Wie erwartet war der Koeffizient des Hydroxids **30** ( $\epsilon_{260} = 7090 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) kleiner als der des Ketons **29** ( $\epsilon_{260} = 8770 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) und beide deutlich unter dem des Phenons **24** ( $\epsilon_{260} = 10120 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Wie in Abschnitt 3.1.4 erläutert, ist der Absorptionskoeffizient der Phenon-Funktionalität des Donors **24** bei 340 nm derart gering, dass sich bei einer Konzentration von 70  $\mu\text{M}$  die UV-Absorption kaum messen lässt.

### 3. Ergebnisse & Diskussion



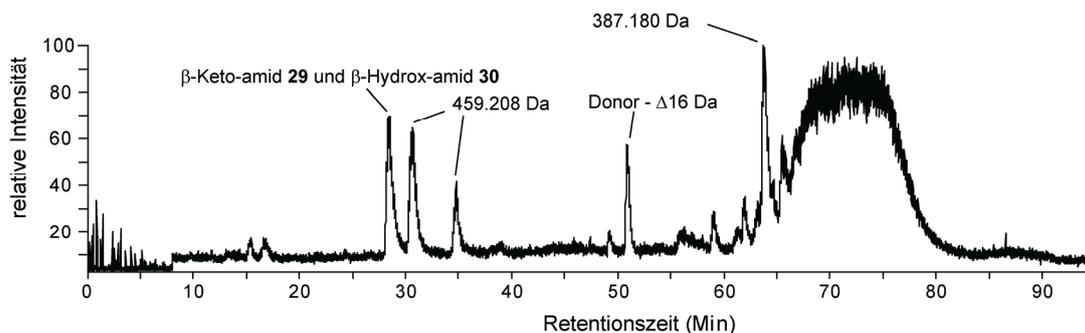
**Abbildung 39.** Absorptionsmaxima des (v.l.n.r.) Phenons **24**, Hydroxids **30** und Ketons **29** in MeOH/Wasser (1:4, 70  $\mu\text{M}$ ). R = Thymidin

Erst bei einer Konzentration von 15 mM ist die Schulter klar ersichtlich (Abbildung 33), weshalb die Bestimmung des Absorptionskoeffizienten bei 340 nm ( $\epsilon_{340} = 37 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) bei massiv höheren Konzentrationen durchgeführt werden musste.

Lösungsmittel	Keton <b>29</b> :Hydroxid <b>30</b>	Ausbeute Keton <b>29</b>
Wasser/MeOH (4:1)	95:5	40%
Puffer (Tris/HCl, pH 7.4, 10 mM)	95:5	30%

**Tabelle 6.** Ausbeuten der Photoreaktion und Verteilung des Elektronentransferproduktes **29** zu Quenchingprodukt **30**.

Aus den Flächen der HPLC-Signale der Belichtungsexperimente und den ermittelten Absorptionskoeffizienten wurde die Effizienz der Belichtungsreaktion berechnet (Tabelle 6). Daraus geht hervor, dass die Donorspaltung zu Keton **29** nur in 30 – 40%iger Ausbeute stattfindet, aber günstigerweise hauptsächlich nur dieses Elektronentransfer-Produkt (Keton **29**) entsteht. Letzteres stimmt gut mit den Resultaten von B. Carl und B. Giese<sup>[215]</sup> überein, während die Ausbeute der Reaktion darunter liegt. Da bei 260 nm keine weiteren Signale detektiert wurden, wurde die Belichtung per HPLC-MS analysiert. Im Totalen Ionenstrom dieser HPLC-MS-Analyse des belichteten Donors **24** wurden bei 63 Minuten (bereits im Spüllauf) und bei 35 Minuten weitere Signale (positiver Modus: 387.180 Da bzw. 459.208 Da) vorgefunden, konnten aber keinen eindeutigen Molekülen zugeordnet werden (Abbildung 40).

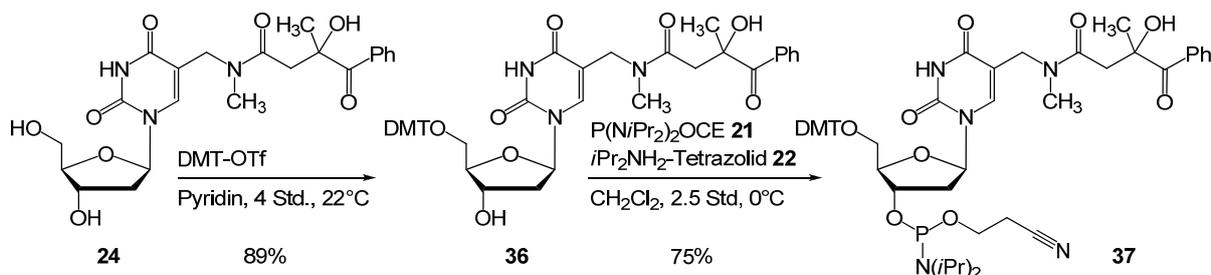


**Abbildung 40.** Totaler Ionenstrom der HPLC-MS.  $\beta$ -Hydroxy-amid **30** und  $\beta$ -Keto-amid **29** überlagern in einem Signal. Andere nicht zuordnungsable Signale wurden nur mit den vorgefundenen Massen beziffert. Ab 60 Minuten erfolgt der Spüllauf weshalb starkes Rauschen Überhand nimmt.

ESR-Untersuchungen von Carell, Giese *et al.* am *tert*-Butyl-enthaltenden Donor **1** belegten eine effiziente Elektronenübertragung unter Bildung des entsprechenden Ketons **29**.<sup>[11]</sup> In der Annahme, dass dies für den neuen Donor **24** ebenfalls gelte und Nebenprodukte keinen Einfluss auf die Donoreffizienz haben, sollte somit der maximale Prozentsatz übertragbarer Elektronen bei 40% liegen (Tabelle 6). Auf Basis dieser Annahme wurde der Donor in die DNA eingebaut und Elektronentransfer innerhalb der DNA bestimmt.

### 3.3 Synthese der DNA-Stränge und erste Debromierungsversuche

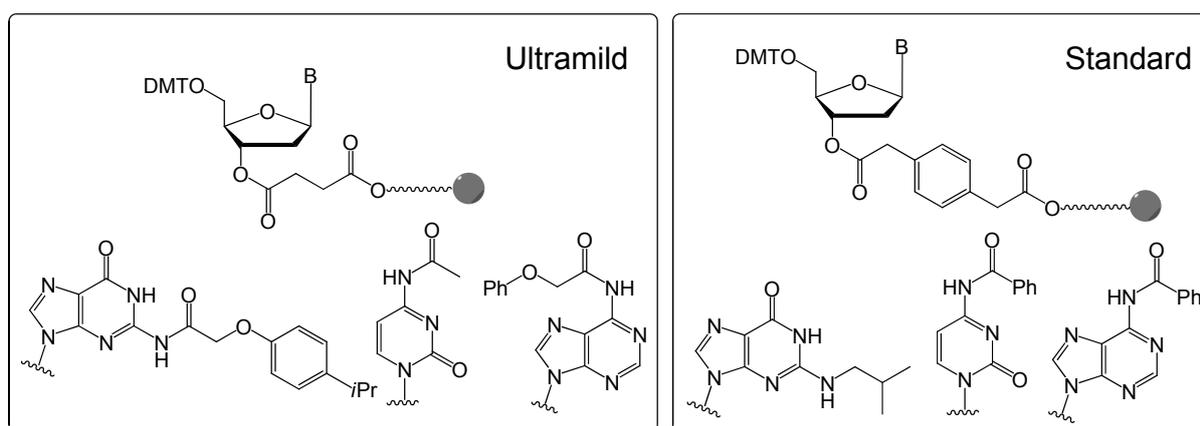
DNA-Festphasen Synthese erfolgt entweder über die Verwendung von Phosphoramiditen<sup>[254-256]</sup> oder H-Phosphonaten.<sup>[257-258]</sup> Erstere ist einfacher und günstiger und wurde deswegen hier angewendet. Für den Einbau in die DNA wurde Donor **24** zuerst mit DMT-OTf in Pyridin zum DMT-geschützten Derivat **36** umgesetzt. Die Synthese des Phosphoramidits **37** wurde unter Verwendung des Phosphordiamidit-Reagenzes **21** und *i*Pr<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>-Tetrazolid **22** als Aktivator bewerkstelligt (Schema 34).



**Schema 34.** Synthese des Phosphoramidits **37** für den Einbau in die DNA.

Problematisch war dabei der freie tertiäre Alkohol, da eine mögliche Amiditaddition auch dort hätte erfolgen können, aber wie im Falle des *tert*-Butyl-enthaltenden Vorgänger-Donors **1** konnte kein entsprechendes Produkt gefunden werden.<sup>[259]</sup>

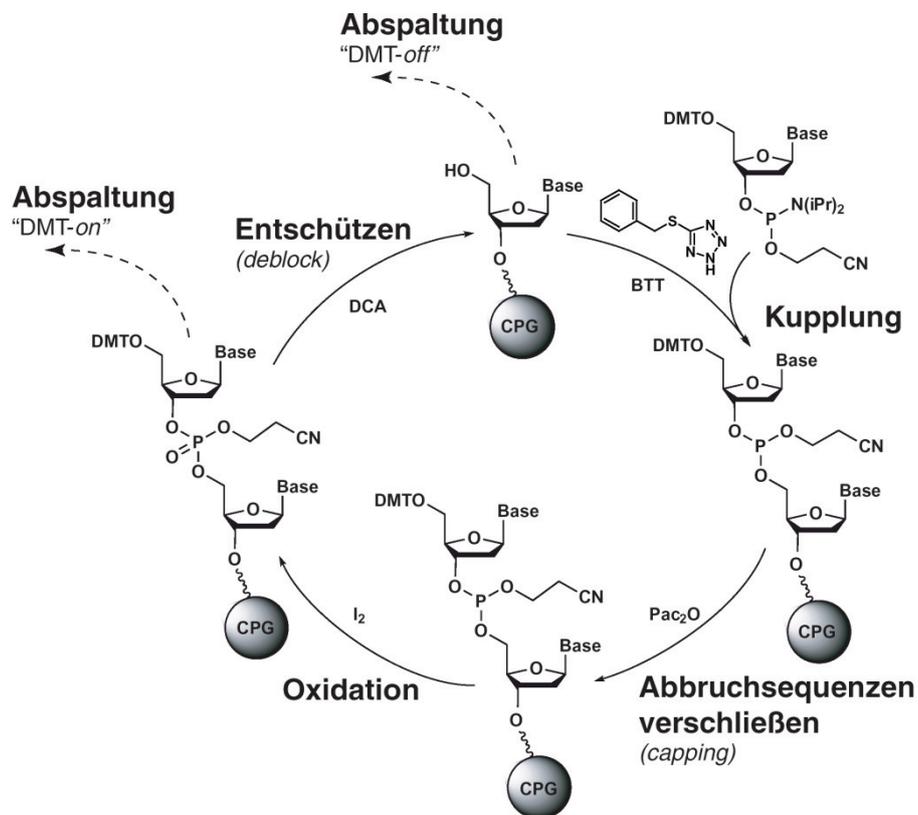
In einem ersten Ansatz wurde das Phosphoramdit mit Standardreagenzien in die DNA eingebaut. Dabei erwies sich das tertiäre Amid im Gegensatz zu sekundären Amiden<sup>[260]</sup> als ungünstiger Linker, da es unter Standard-Entschützungsbedingungen mit NH<sub>3</sub> in H<sub>2</sub>O oder MeOH gespalten wurde. Deswegen wurde die DNA in einem zweiten Anlauf mit „ultramild“-kompatiblen Reagenzien und Schutzgruppen synthetisiert (Abbildung 41), wodurch die anschließende Entschützung und Festphasenabspaltung mit 0.05 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in MeOH durchgeführt werden konnte.



**Abbildung 41.** Schutzgruppen und Festphasenlinker in der DNA-Synthese.

Die DNA-Synthese-Zyklus setzt sich aus folgenden Schritten zusammen und fängt mit der Entschützung (*deblock*) der Festphase an (das erste Nucleosid ist bereits an der Festphase angebracht, Schema 35):

1. **Entschützen:** Abspalten der DMT-Schutzgruppe mit Dichloressigsäure. Die Intensität des roten Dimethoxytrytylkations fungiert als Hinweis für die Effizienz der letzten Kupplung.
2. **Kupplung:** Das Phosphoramidit wird mit dem Aktivator BTT (Benzothiotetrazol) zusammengebracht und über die Festphase gepumpt.
3. **Abbruchsequenzen schließen:** Nicht reagierte 5'-OH Gruppen werden mit  $\text{Pac}_2\text{O}$  (Phenoxyessigsäureanhydrid) zu Estern umgesetzt, dadurch stehen diese für eine weitere Kettenverlängerung nicht mehr zur Verfügung.
4. **Oxidation** der Phosphor(III)-Spezies (Phosphits) zum Phosphor(V)säuretriester (Phosphat) mittels wässriger Iod-Lösung.



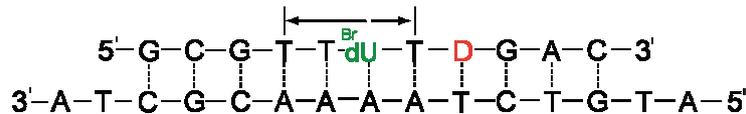
*Schema 35. DNA-Synthesesyklus in der Phosphoramiditchemie.*

Nach erfolgter Oxidation kann der Zyklus durch Entschützen der terminalen DMT-Gruppe wieder von vorne erfolgen. Alternativ kann die DNA-Synthese auf dieser Stufe auch abgebrochen werden. Mit anschließender Entschützen und Festphasen-Abspaltung steht die Rohprodukt-DNA nun zur Verfügung. Obwohl die DNA-Synthese optimal und die Entschützen gut verlief, konnten nur kleine Mengen DNA (Ausbeute ca. 5%) isoliert werden. Grund war laut MALDI- und ESI-MS wie schon zuvor beobachtet eine stete Wasserabspaltung, die wahrscheinlich am Donor stattfand. Das ist nicht unplausibel, da mit der Wasserabspaltung ein ungesättigtes System entsteht, das das Amid bis zum Phenon durchkonjugiert (Schema 36). Durch rigorose DNA-Aufreinigung mit multipler Fraktionierung konnten saubere Fraktionen erhalten werden, die keine Wasserabspaltungs-Nebenprodukte enthielten. Interessanterweise wurde selten ein sauberes scharfes HPLC Signal



### 3. Ergebnisse & Diskussion

Vor der Belichtung wurden die DNA-Stränge in Tris/HCl-Puffer bei 95 °C mit ihren Gegensträngen (1.1 Äquivalente) hybridisiert (10 Minuten bei 95 °C und anschließend langsames Abkühlen auf Raumtemperatur während 3 Stunden). Die Belichtungsexperimente wurde wie beim Nukleosid bei 1000 Watt Lampenleistung und dem entsprechenden C3C17-Filter durchgeführt (Abschnitt 5.1). Unglücklicherweise konnte per MALDI-MS und HPLC keine Debromierung nachgewiesen werden. Zudem zersetzte sich der Einzelstrang bei der Hybridisierungstemperatur von 95 °C (Abbildung 43). Auf Basis der thermischen Labilität der Stränge und mangelnder Debromierung wurden erneut DNA Stränge **S1-S4** synthetisiert (Abbildung 44).

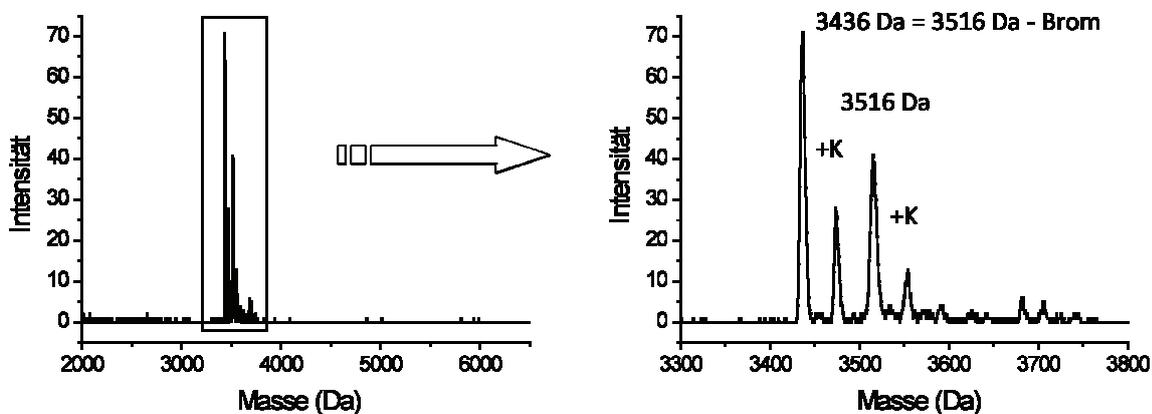


**Abbildung 44.** *Donor 24* und *5-Br-dU* befinden sich im gleichen Strang (**S1-S4**), der etwas kürzer ist, um tiefere Hybridisierungstemperaturen zu ermöglichen.

Die neuen Stränge sollten zum einen kürzer sein und entsprechend tiefere Hybridisierungstemperaturen zulassen und zum anderen das Detektornukleosid (5-Br-dU) als auch den Donor im gleichen Strang enthalten. Ersteres kann auch durch die Salzkonzentration beeinflusst werden,<sup>[262]</sup> doch um die neuen Experimente mit anderen Modellsystemen<sup>[69, 171-172]</sup> vergleichen zu können, kam dies nicht in Frage. Letzteres sollte die Wahrscheinlichkeit einer Debromierung massiv erhöhen, da das Elektron keine Interstrang sondern Intrastrang-Bewegung durchführen muss.

Analog zur ersten DNA-Synthese (Abbildung 42) wurden wieder GC-reiche Abschnitte endständig installiert. Damit ein injiziertes Elektron sich möglichst barrierefrei zwischen Donor und 5-Br-dU bewegen konnte, wurden als dazwischenliegende Nukleoside nur Thymidine gewählt. Mit einer Gesamtlänge von 11 Basenpaaren wurde ausserdem gewährleistet, dass die DNA mindestens eine Drehung um sich selbst vollziehen kann (B-DNA: 10.4 Basenpaare/Drehung).<sup>[263]</sup>

Belichtungsexperimente am Einzelstrang **S1** (3620 Da) und anschließende MALDI-MS zeigten für Stränge, die 5-Br-dU direkt benachbart zum Donor hatten, massive Debrominierung (Abbildung 45).



**Abbildung 45.** MALDI-MS des belichteten Einzelstrangs **S1**, bei dem *Donor* und *5-Br-dU* direkt beiananderliegen. Als dominierendes Signal ist der debromierte Strang bei 3436 Da vorzufinden.

Als dominierende Signale waren der Strang mit photogespaltene Donor sowohl mit 5-Br-dU (3516 Da, **S1a** und **S1b**) als auch ohne 5-Br-dU (3436 Da, **S1c**) vorzufinden (Abbildung 46). Laut MALDI-MS wurde der Donor in allen Strängen gespalten. Wie hoch jedoch der Anteil an Strängen mit gequenchtem Donor **S1a** bzw. Elektronentransferprodukt **S1b** ist, kann so nicht abgeschätzt werden. Auflösungsbedingt können die beiden Produkte **S1a** und **S1b** nicht im MALDI-MS unterschieden werden.

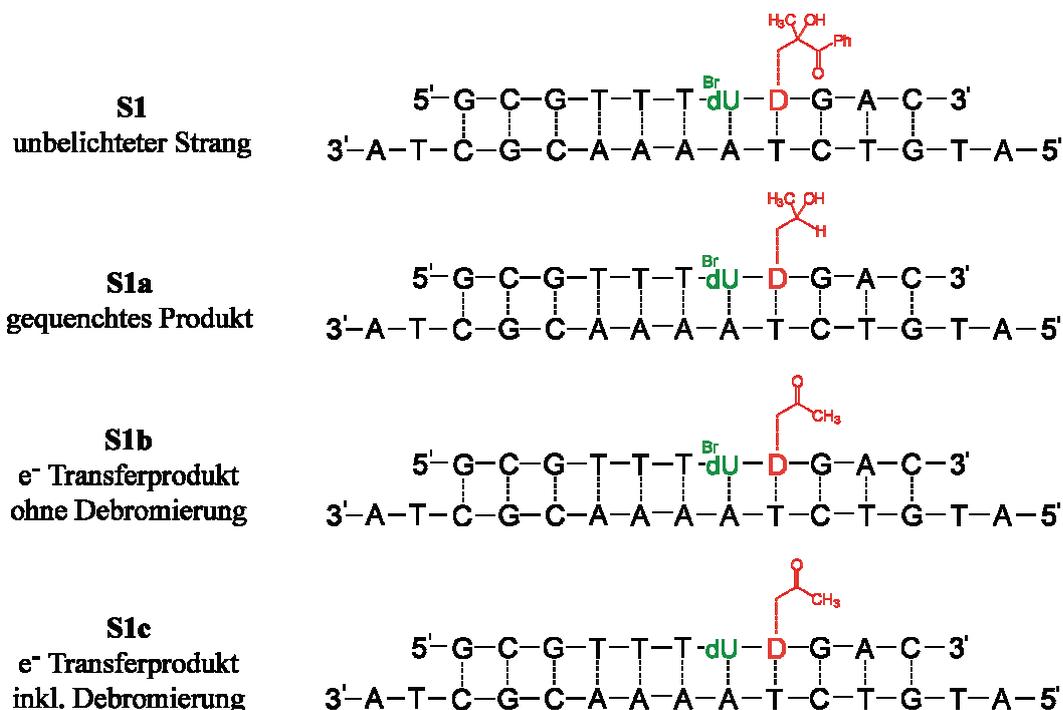


Abbildung 46. Eduktstrang **S1** und alle möglichen Zersetzungsprodukte **S1a-S1c**.

Interessanterweise lassen sich aber im Massenspektrum neben den erwarteten Zersetzungsprodukten keine weiteren Produkte erkennen. Im Gegensatz zu den Belichtungen des einzelnen Donor-Nucleosids **24**, in denen nur 40% Umsatz zu den Zersetzungsprodukten beobachtet wurde (Abschnitt 3.2.2), scheint bei der DNA Belichtung ein sauberer Umsatz stattgefunden zu haben.

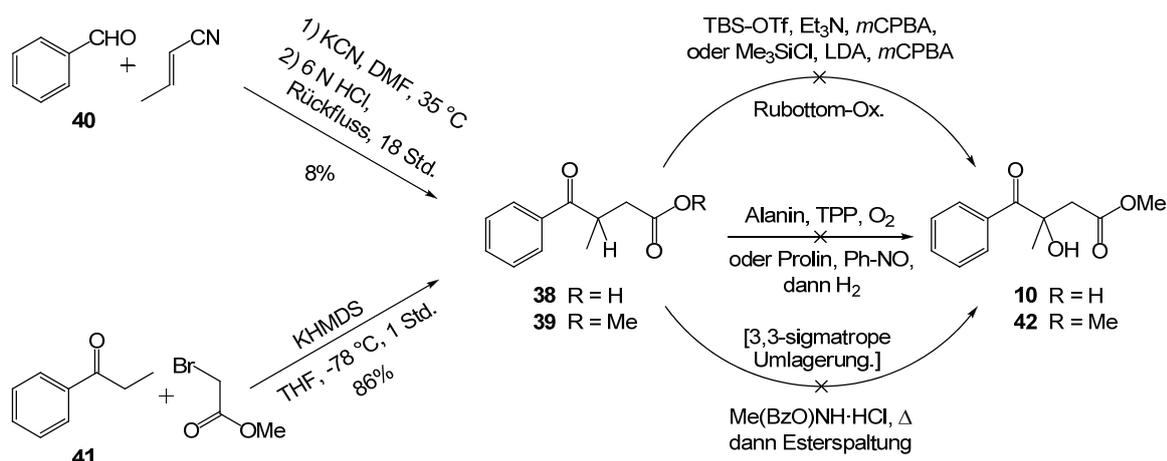
Belichtungsexperimente benötigen jeweils ca. 3 nmol DNA, um im Anschluss eine angemessene HPLC-Analyse durchführen zu können. Das resultiert bei vielen Testbelichtungen und Optimierungen im Verbrauch von viel DNA. Deswegen wurden Ansätze entwickelt, die DNA-Synthese zu verbessern, um höhere Ausbeuten zu erhalten. Diese Ansätze sind im nächsten Kapitel beschrieben.

### 3.4 Ansätze zur Vereinfachung der DNA-Aufreinigung durch stereoselektive Darstellung des Donors und durch Einführung von Schutzgruppen

Bevor die Belichtung der DNA-Stränge im Detail diskutiert wird, soll in diesem Kapitel auf Ansätze zur Verbesserung der DNA-Aufreinigung eingegangen werden, da die DNA-Synthese mit einer maximalen Ausbeute von 5% nicht effizient war. Der Hauptgrund für die Ineffizienz lag in der notwendig rigorosen Trennung des Wasserabspaltungsproduktes vom Produkt. Da das Produkt einen Donor besaß, der in Form von vier verschiedenen Diastereoisomeren in die DNA eingebaut worden war, wurden aus breiten HPLC Signalen mehrere Produktfraktionen mit geringfügig unterschiedlicher Retentionszeit gewonnen. Viele dieser Fraktionen waren mit dem Wasserabspaltungsprodukt verunreinigt, und mussten verworfen werden. Die zukünftigen Belichtungen verlangten nach viel DNA-Material, weshalb stereoselektive Synthesen des Donors ausgearbeitet wurden. Durch den Einbau eines enantiomerenreinen Donors sollte das HPLC-Produktsignal viel schärfer und die Abtrennung des Wasserabspaltungsproduktes deutlich einfacher werden.

Zudem sollte womöglich eine Schutzgruppe für die Acyloin-Funktionalität eingeführt werden. Die Wassereliminierung, die wahrscheinlich während der DNA-Synthese erfolgt, könnte dadurch verhindert werden. Das hätte zur Folge, dass die rigorose Trennung von Hauptprodukt und Wasserabspaltungsprodukt erst gar nicht anfallen würde. Im Folgenden sind verschiedene Ansätze, die parallel zueinander angegangen wurden, beschrieben.

In einem ersten Schritt wurden eine Prolin katalysierte Aminoxylierung<sup>[264-265]</sup> und eine Alanin katalysierte Singlet-Sauerstoff-Addition<sup>[266]</sup> an Phenonderivate **38** und **39** getestet, die zuvor in einem einfachen Schritt aus Benzaldehyd **40** und Propiophenon **41** synthetisiert worden waren (Schema 37).

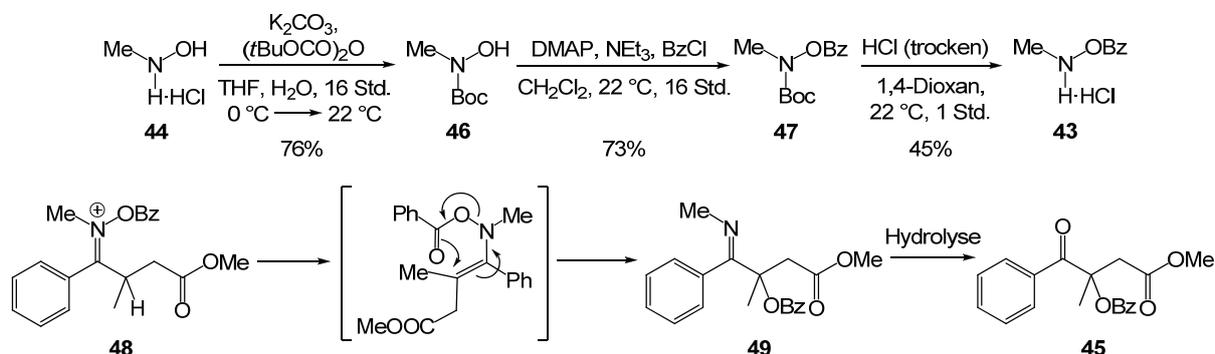


**Schema 37.** Synthese der Phenonderivate **38** und **39** mit anschließenden Ansätzen zur Herstellung des Acyloins **10** bzw. **42**.

Da überhaupt kein Umsatz zu **10** bzw. **42** stattfand, wurde die Rubottom-Oxidation<sup>[267]</sup> als Alternative untersucht, aber erneut konnte entweder kein Umsatz oder Zersetzung festgestellt werden. Bei der Rubottom-Oxidation könnte die beobachtete Zersetzung über eine Addition der Silylelektrophile an den Ester erfolgt sein, weshalb als letzte Variante die Verwendung eines Hydroxylaminderivats **43**

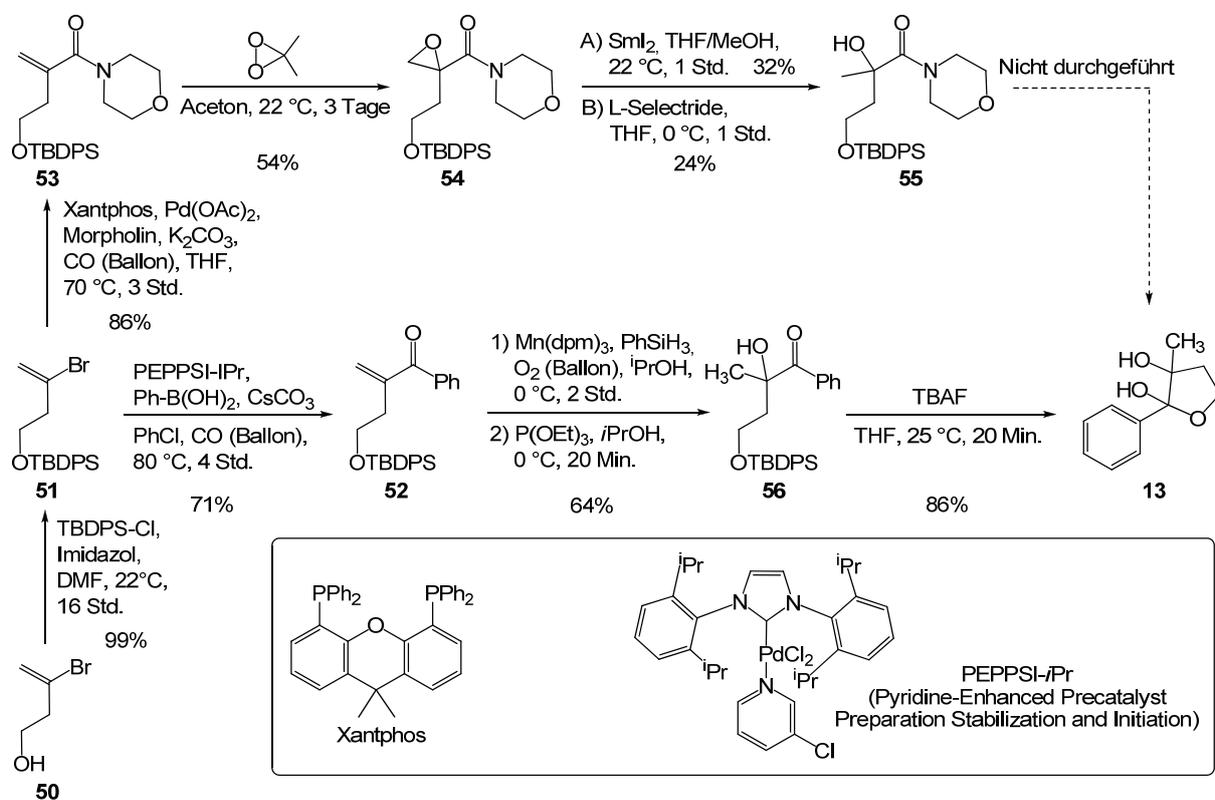
### 3. Ergebnisse & Diskussion

getestet wurde, das in drei Schritten aus Methyl-Hydroxylamin **44** hergestellt worden war. Damit sollte das Phenon **39** über eine [3,3]-sigmatrope Umlagerung bzw. einer  $\alpha$ -Acyloxylierung in den entsprechenden Diester **45** umgewandelt werden<sup>[268]</sup>.



**Schema 38.** Ansatz zur Synthese des  $\alpha$ -Benzoyloxy-Phenons **45** mit Hydroxylaminderivat **43**. Letzteres wurde aus Methyl-Hydroxylamin **44** hergestellt. Dazu wurde zuerst das Amin zum Carbamatderivat **46** und anschliessend mit BzCl weiter zu Derivat **47** umgesetzt. Das Hydroxylaminderivat **43** bildete mit Phenon **39** das entsprechende Oximderivat **48**, das über eine Umlagerung zu Derivat **49** umgewandelt werden sollte.

Trotz hoher Temperaturen ( $\sim 120^\circ\text{C}$ ) fand keine Umsetzung zum Produkt statt. Wahrscheinlich sind die Methylgruppe des Donors und der Phenylring sterisch derart anspruchsvoll, dass die planaren Enamin-ähnlichen-Übergangszustände energetisch zu hoch liegen (Schema 38). Aus diesem Grund wurde die Synthese so entworfen, dass das Stereozentrum am Alkohol über eine völlig andere Methode und zwar einer stereoselektiven Epoxidierung aufgebaut werden konnte (Schema 39).

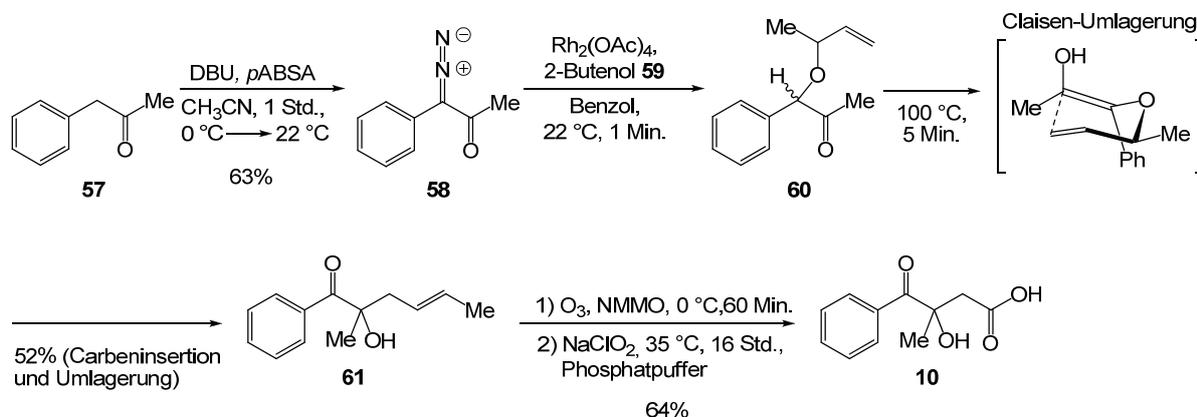


**Schema 39.** Ansätze zur stereoselektiven Synthese des Donors über  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Verbindungen **52** bzw. **53**.

### 3. Ergebnisse & Diskussion

In einem ersten Schritt wurde das kommerziell erhältliche Bromid **50** zum Silylether **51** umgesetzt. Ausgehend von diesem Silylether **51** wurde durch eine Palladium-katalysierte-carbonylierende Suzuki-Miyaura<sup>[269]</sup> bzw. Buchwald-Kupplung<sup>[270]</sup> das  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Phenon **52** bzw. das  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Amid **53** synthetisiert. Die Epoxidierung des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Amid **53** zu Epoxid **54** wurde mit *m*CPBA als auch frisch hergestellter DMDO-Lösung<sup>[271]</sup> (DMDO = Dimethyldioxiran) durchgeführt, wobei die Umsetzung mit *np*-HPLC verfolgt werden musste. Eine Unterscheidung von Edukt und Produkt war per Dünnschichtchromatogramm nicht möglich. Trotz gutem Überschuss an Epoxidierungsreagenzien (mind. 2 Äquiv.) war die Reaktion sehr langsam (3 Tage) und ergab neben vielen Zersetzungsprodukten maximal 54% Umsatz zum Epoxid **54**. Alternativ wurde wegen der elektrophilen Doppelbindung  $H_2O_2$  eingesetzt, dies ergab aber ebenfalls viel Zersetzung. Typische Epoxidierungsmethoden wie die Shi- oder Shibasaki Epoxidierung<sup>[272-273]</sup> ergaben keinen Umsatz. Öffnung des Epoxids musste an der externen Bindung stattfinden, wobei Metall-katalysierte Reduktionen mit  $H_2$  zuerst getestet wurden. Es stellte sich aber heraus, dass mit Pd/ $H_2$  über Raney/Ni/ $H_2$  bis zu Pt/ $H_2$  bei 1 Bar  $H_2$ -Überdruck oder bis zu 50 Bar Überdruck keine Umsetzung zum Produkt **55** erreicht werden konnte. Erst die Verwendung von  $SmI_2$  oder sterisch anspruchsvollem L-Selectride führte zu einer regioselektiv korrekten Öffnung des Epoxids zum  $\alpha$ -Hydroxy-amid **55**, jedoch nur in schlechten Ausbeuten.<sup>[274-275]</sup> Unter diesen schlechten Aussichten wurde deswegen als Alternative eine Mangan(III) katalysierte Sauerstoffaddition<sup>[276-277]</sup> in Gegenwart von Phenylsilan angewendet, die zu einer guten Umsetzung zu Acyloin **56** führte. Abspaltung der Schutzgruppe ergab das Laktol **13** in 4 Schritten. Die Hydro-Hydroxylierung funktionierte gut mit dem  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Amid **53**, doch da die stereoselektive Synthese auf diesem Wege nicht funktioniert hatte, wurde der Syntheseweg nicht weiter verfolgt.

Ein Literatur-bekanntes Variante<sup>[278]</sup> beinhaltet ausgehend von Phenylacetone **57** die Synthese des Azoderivats **58**, das Rhodium-katalysiert eine Carben-Insertion in die O-H Bindung des 2-Butenols **59** unterlaufen kann (Schema 40).

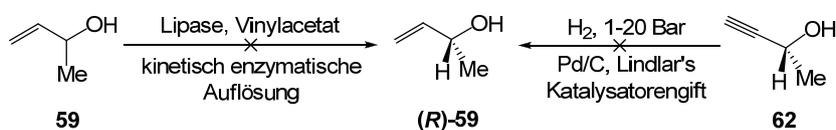


**Schema 40.** Synthese der Donor-Carbonsäure **10** über eine Rhodium-katalysierte Carben-Insertion und anschließender Claisen Umlagerung. Letztere ermöglicht nur eine stereoselektive Synthese, wenn der Alkohol enantiomerenrein ist.

Der resultierende Ether **60** kann eine thermisch induzierte Claisen-Umlagerung unterlaufen, wobei ein Stereozentrum  $\alpha$  zum Ether die Reaktion enantioselectiv beeinflusst. Die Reaktion wurde mit dem

racemischen Alkohol getestet und konnte aber nur in mässiger Ausbeute reproduziert werden. Die folgende Ozonolyse des Alkens **61** in Gegenwart von NMMO (*N*-Methylmorpholin-*N*-Oxid)<sup>[279]</sup> führte direkt zum Aldehyd, das sofort mit NaClO<sub>2</sub> zur Carbonsäure **10** oxidiert wurde. Als nicht abtrennbares Nebenprodukt störte dabei wieder die Bildung von Benzoesäure.

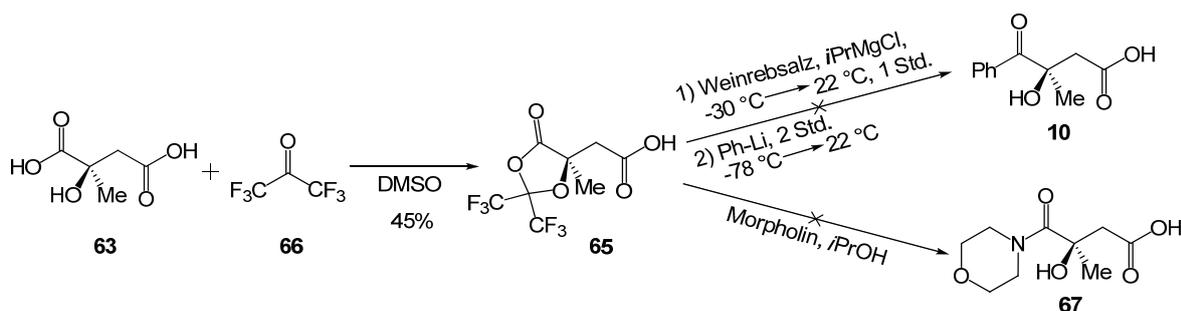
Trotzdem wurden Ansätze gestartet, den Alkohol **59** als reines Enantiomer zu gewinnen. Dabei wurden die Umsetzungen mit chiraler GC-MS überwacht. Mit Lipasen wurde eine kinetische enzymatische Auflösung durch selektive Acetylierung eines Enantiomers<sup>[279]</sup> angegangen, doch wurde nur ein maximaler Enantiomerenüberschuss von 80% erreicht werden (Schema 41). Alternativ wurden Hydrierungen von Enantiomeren-reinem 2-Butinol **62** durchgeführt. Dabei mussten hochsiedende Lösungsmittel verwendet werden, um das flüchtige Produkt (Siedepunkt 65 °C bei Raumdruck) ohne Verunreinigungen und frei von koevaprierenden Lösungsmitteln durch Destillation zu erhalten.



Schema 41. Ansätze zur stereoselektiven Synthese des Buten-2-ols (*R*)-**59**.

Palladium katalysierte Hydrierungen (Lindlar's Kat., vergiftet mit Chinolin oder Lindlars Katalysatorgift) führten zwar zum Produkt, aber auch zu Racemisierung und waren damit uninteressant. Weitere Versuche zur enantiomerenreinen Herstellung des Alkohols wurden wegen der sehr komplexen Aufarbeitung eingestellt.

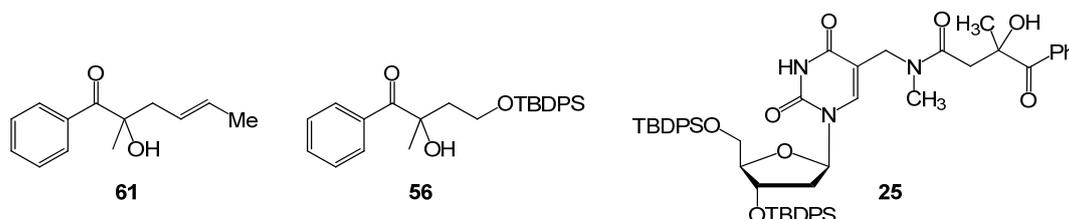
Eine letzte elegante Möglichkeit wurde durch Umsetzung der kommerziell erhältlichen Dicarbonsäure **63** zur Monocarbonsäure **64** angegangen. Die Dicarbonsäure **63**, Citramalsäure, ist als Naturstoff in Form beider Enantiomere kommerziell erhältlich. Zur Unterscheidung der beiden Säuren wurde in der Literatur selektiv das Laktone **65** unter Verwendung von Hexafluoroaceton (CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO **66** hergestellt.<sup>[280]</sup> Das Hexafluoroacetonid **64** wurde reproduziert<sup>[281]</sup> und in mässiger Ausbeute erhalten (Schema 42). Öffnung des Lactons mit dem bewährten Weinrebamid führte zur kompletten Zersetzung. In der Annahme, dass das hexafluorierte Acetonid **64** zu reaktiv ist, wurde die Umsetzung mit reinem Morpholin zu **67** getestet, da aber bei Raumtemperatur kein Umsatz stattfand, wurde die Reaktionstemperatur erhöht, was jedoch wieder zu undefinierbaren Zersetzungsprodukten führte.



Schema 42. Ansätze zur stereoselektiven Synthese der Carbonsäure **10** ausgehend vom enantiomerenreinen Naturstoff **63**.

### 3. Ergebnisse & Diskussion

Eine enantiomeren-reine Synthese konnte nicht erreicht werden, doch wurden mit bestimmten Zwischenstufen Voraussetzungen geschaffen, die Acyloin-Hydroxy-Gruppe ohne weitere funktionellen Hindernisse alkylieren zu können. Eine Funktionalisierung wäre wahrscheinlich auch auf Stufe des geschützten Donors **25** möglich, jedoch müsste eine Funktionalisierung des Imids verhindert werden. Das Alken **61** oder der  $\alpha$ -Phenacyl-alkohol **56** hätten hingegen eine freie Hydroxygruppe, die ohne Probleme in Gegenwart des Phenons oder Silylethers weiter funktionalisiert werden könnte (Abbildung 47).



*Abbildung 47. Stufen, auf den eine Schutzgruppeneinführung für die Acyloin-Funktionalität, gut möglich ist.*

Schutzgruppen wie Ester oder Carbonate bilden alle potentielle Abgangsgruppen und sind demnach ungeeignet, da das Risiko der Wasserabspaltung erhöht wird. Silyl- oder verschiedene Ether-Schutzgruppen wären mögliche Varianten, aber die Orthogonalität zu den Zuckerschutzgruppen müsste gewahrt werden.

Trotz der erwähnten Schwierigkeiten bei der Reinigung der synthetisierten DNA-Stränge, konnte genug DNA für Belichtungsexperimente isoliert werden. Die DNA-Mengen pro Belichtungsexperiment wurden jedoch auf 1-2 nmol gesenkt. Auf die Analytik und den Reinheitsgrad der isolierten DNA wird im nächsten Kapitel eingegangen.

### 3.5 Analytik zu den synthetisierten Strängen

Wegen der thermischen Labilität der modifizierten Stränge wurden relativ kurze Stränge synthetisiert. Dadurch sollte der Schmelzpunkt tief gehalten werden (Abschnitt 3.3).

<b>S0</b>	5' -ATGTCAAAAACGCTA-3'	
<b>S1</b>	5' -GCGTTT <sup>Br</sup> dUDGAC-3'	44 °C
<b>S2</b>	5' -GCGTT <sup>Br</sup> dUTDGAC-3'	48 °C
<b>S3</b>	5' -GCGT <sup>Br</sup> dUTTDGAC-3'	44 °C
<b>S4</b>	5' -GCG <sup>Br</sup> dUTTTDGAC-3'	45 °C
<b>S5</b>	5' -GCGTTT <sup>Br</sup> dUTGAC-3'	51 °C

Abbildung 48. Synthetisierte DNA-Stränge S1-S5 mit ihren Schmelzpunkten.

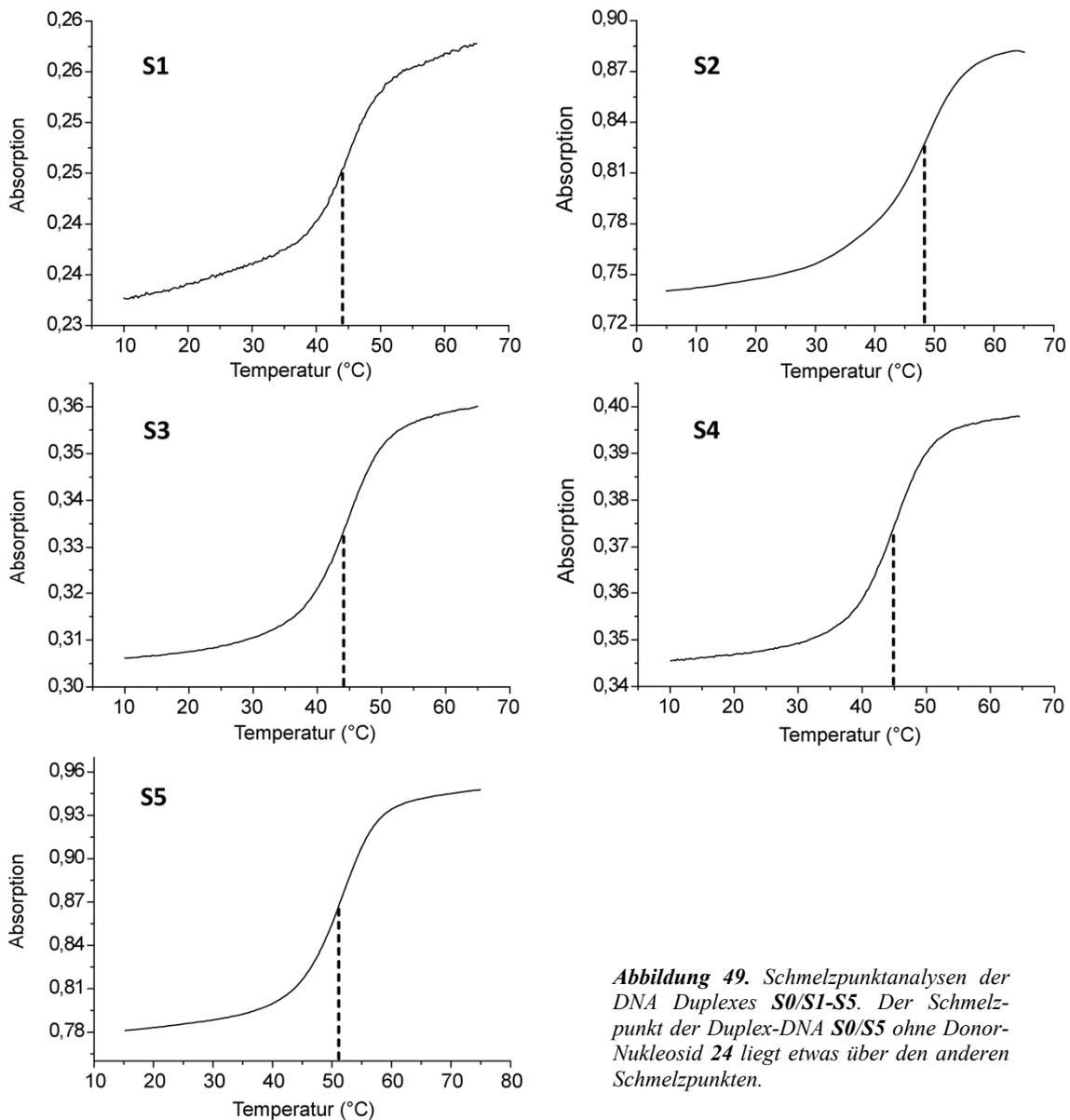
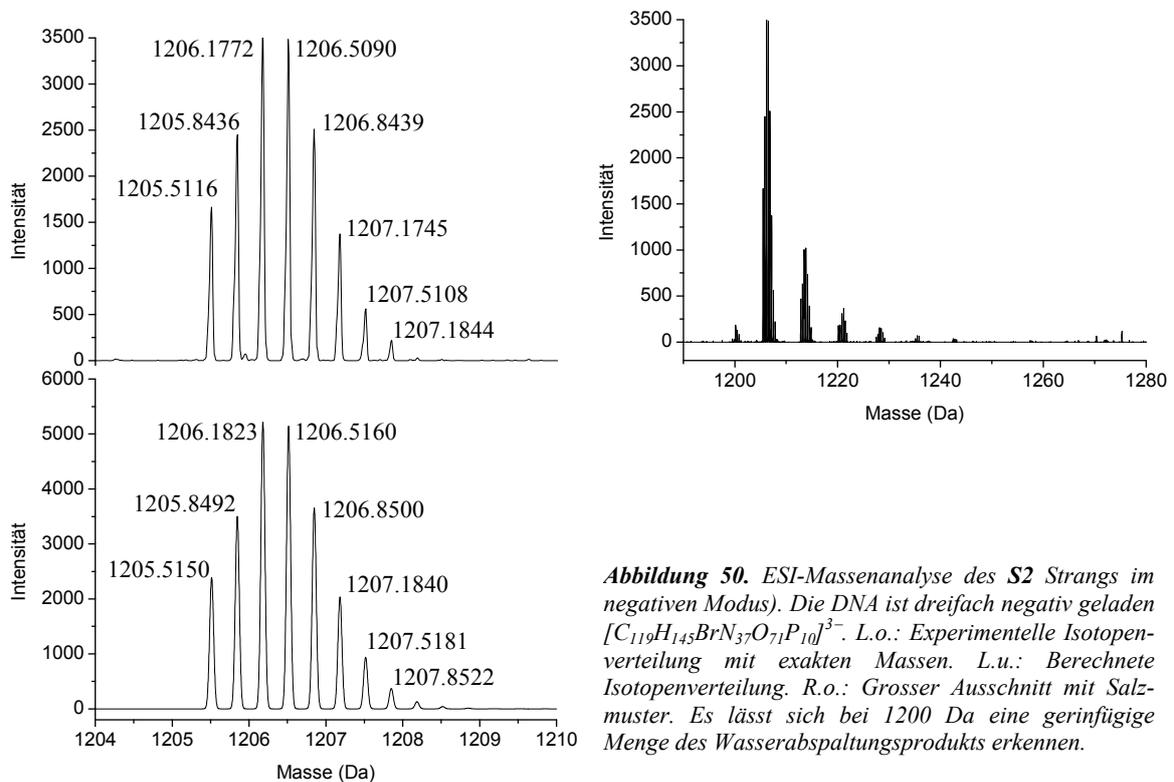


Abbildung 49. Schmelzpunktanalysen der DNA Duplexes S0/S1-S5. Der Schmelzpunkt der Duplex-DNA S0/S5 ohne Donor-Nukleosid 24 liegt etwas über den anderen Schmelzpunkten.

### 3. Ergebnisse & Diskussion

Für eine genaue Bestimmung der Schmelzpunkte wurden temperaturabhängige UV-Kurven bei 260 nm gemessen (Abschnitt 5.1).<sup>[282-285]</sup> Dabei erkennt man, dass die Absorption der DNA-Lösungen in Abhängigkeit von der Basenstapelung und den Wasserstoffbrücken mit steigender Temperatur zunimmt. Der sigmoidale Verlauf deutet darauf hin, dass bereits geringfügige thermische Störungen eine vollständige Auflösung der Basenstapelung erleichtern, was auch als kooperatives Schmelzen bezeichnet wird.

Aus den Spektren mehrerer Heiz- und Kühlzyklen mit einer Hintergrundkorrektur bei 340 nm wurde das Mittel bestimmt und durch ein Polynom 9. Ordnung approximiert. Durch Ableitung der so erhaltenen Funktion wurde der Wendepunkt, der den gesuchten Schmelzpunkt darstellt, errechnet. Als Vergleichsduplex wurde **S0/S5** herbeigezogen, dessen Schmelzpunkt bei einer Salzkonzentration von 150 mM NaCl in 10 mM Tris/HCl-Puffer (pH 7.4) circa 6 °C über den Schmelzpunkten der anderen Duplexes **S0/S1**, **S0/S3** und **S0/S4** liegt. Duplex **S0/S2** weicht mit 3 °C Unterschied etwas von diesen Werten ab, zeigt aber wie alle anderen auch eine leichte Destabilisierung der DNA durch den neuen Donor **24** (Abbildung 48). Dies ist nicht weiter erstaunlich, da das tertiäre Amid des Donors nur über eine kurze Methylenbrücke an der 5-Position von Desoxyuridin in der Großen Furche angebracht ist und wahrscheinlich trotz seiner sterischen und dynamischen Ansprüche durch die benachbarten Nukleobasen in seiner Bewegungsfreiheit eingeschränkt ist. Eine Hybridisierungstemperatur von 65 °C liegt weit über den gemessenen Schmelzpunkten und ist deshalb für das Ansetzen der Belichtungsexperimente geeignet. Zudem konnte eine Zersetzung der DNA bei einer Hybridisierungstemperatur von 65 °C (10 min) unter diesen Bedingungen nicht mehr beobachtet werden.



**Abbildung 50.** ESI-Massensanalyse des **S2** Strangs im negativen Modus). Die DNA ist dreifach negativ geladen  $[C_{119}H_{145}BrN_{37}O_{71}P_{10}]^{3-}$ . L.o.: Experimentelle Isotopenverteilung mit exakten Massen. L.u.: Berechnete Isotopenverteilung. R.o.: Grosser Ausschnitt mit Salz-muster. Es lässt sich bei 1200 Da eine geringfügige Menge des Wasserabspaltungsprodukts erkennen.

Die Belichtungsexperimente wurden bei 10 °C durchgeführt. Diese Temperatur liegt ebenfalls deutlich unter den Schmelzpunkten, weswegen klar von einer Duplex-DNA ausgegangen werden konnte.

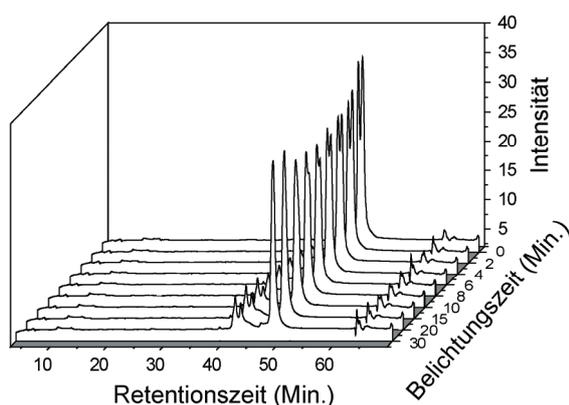
ESI-Analysen lieferten exakte Massen der DNA Stränge (**S1** – **S4**: 3619.5668 Da). Diese wurden meist ohne Entsalzung der aufgereinigten DNA-Stränge in HPLC-Puffer ( $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$ , ca. pH 7) vorgenommen, da diese frisch von der HPLC bis auf die Pufferionen als beinahe salzfrei angesehen werden konnten.  $[\text{Et}_3\text{NH}]^+$  war im ESI im Gegensatz zu  $\text{Na}^+$  oder  $\text{K}^+$  Ionen als Addukt nicht vorzufinden. Vergleiche mit den errechneten Isotopenmustern zeigten meist Abweichungen von circa 0.005 Da (maximal 0.007 Da). In dem grösseren ESI-Ausschnitt lässt sich ein kleiner Massenpeak bei 1200 Da erkennen (Abbildung 50). Dieser entspricht Spuren des schwer abzutrennenden Wasserabspaltungsprodukts, was meist in kleinsten Mengen vorhanden war (Schema 36). MALDI-MS-Analysen wurden wegen der geringen Auflösung (bis zu 7 Da Abweichung) für die exakte DNA-Analytik nicht verwendet. Im Falle geringer DNA-Mengen, Debromierungsanalysen oder HPLC-Fraktionskontrollen war jedoch MALDI-MS die schnellere und weitaus empfindlichere Methode. Mit der Isolierung sauberer DNA-Stränge konnte mit den Belichtungen im Duplex, wie im nächsten Kapitel beschrieben, gestartet werden.

### 3.6 Belichtungsexperimente von DNA Doppelsträngen

Analog zum einzelnen Nukleosid wurden die Belichtungen in Puffer (Tris/HCl, pH 7.4, 10 mM) und hoher Salzkonzentration (150 mM) durchgeführt. Ausserdem wurde die Stränge vor der Belichtung 10 Minuten auf 65 °C erhitzt und in einem *Eppendorf*-Thermoblock abkühlen gelassen. Die hybridisierten Proben wurden in eine 1 mL Küvette überführt und 40 Minuten bei 10 °C mit Argon entgast, indem das Gas blasenweise durch die Lösung geleitet wurde. Belichtungen erfolgten ebenfalls bei 10 °C und meist während einer Dauer von 75 bis 115 Minuten bei einem stets leichten Argon-Überdruck. Obwohl MALDI-MS die einfachste Variante gewesen wäre, Debromierungen nachzuweisen, musste diese Methode sehr schnell aufgegeben werden, da gerade bei kleinen Debromierungsprozentsätzen die debromierten Produkte im Hintergrundrauschen kaum detektiert werden konnten. Ausserdem hätten so nur wenige Experimente angegangen werden können, da sich erst mit einer Produkt-Quantifizierung die meisten Fragestellungen beantworten lassen. Eine übliche Methode zur Analyse belichteter Stränge ist wie im Folgenden beschrieben HPLC.<sup>[11, 97, 172, 184]</sup>

#### 3.6.1 Ansätze zur chromatographischen Debromierungsquantifizierung

Wie in Kapitel 1.4.1 erläutert, wurden als Elektronakzeptoren bzw. -detektoren eine Vielzahl an Nukleosidderivaten verwendet. Die häufigsten sind bisher das TT-Dimer und 5-Br-dU.<sup>[10, 104, 184, 206, 286]</sup> Der CPD-UV-Schaden hat den Vorteil, dass man ihn mit offenem Phosphatrückgrat synthetisieren kann, weshalb die Öffnung des Cyclobutanrings zu einem Strangbruch führt.<sup>[98, 170]</sup> Die entstehenden kurzen Stränge lassen sich einfach per HPLC analysieren. In ähnlicher Art und Weise kann dies mit 5-Br-dU durchgeführt werden, das bei einer Debromierung gerne Wasserstoffatome vom benachbarten Nukleosid abstrahiert (Kapitel 1.4.1). Durch Behandlung dieser debromierten Stränge mit heisser Piperidin-Lösung kommt es ebenfalls zu Strangbruchprodukten, die entweder mit HPLC oder Gelchromatographie analysiert werden können.<sup>[181, 184, 287]</sup> In diesem Fall wurde hier auf die Behandlung mit heissem (90 °C) Piperidin verzichtet und die Stränge direkt per HPLC analysiert, da bei Temperaturen über 65 °C eine Zersetzung des S1 Strangs festgestellt worden war (Kapitel 3.3).

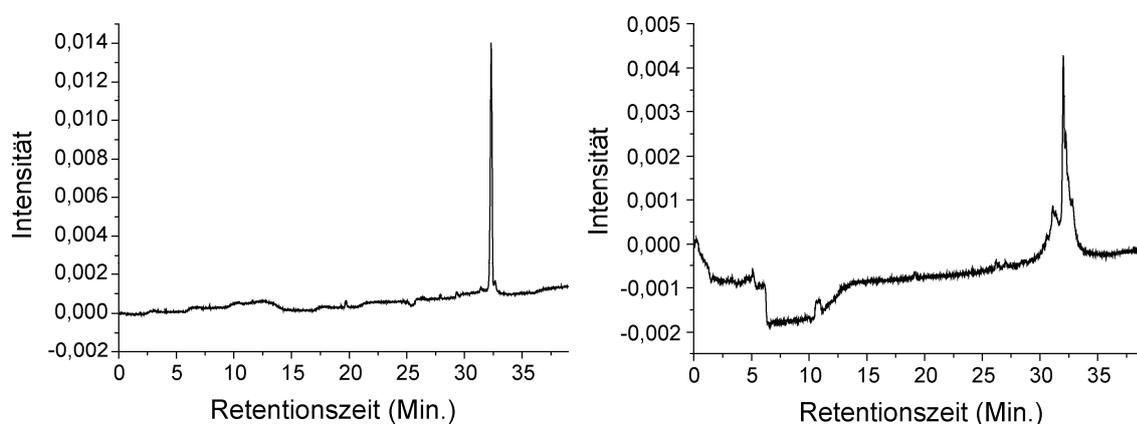


**Abbildung 51.** Belichtung der S0/S1 Duplex. Man erkennt die schnelle Zersetzung des Eduktstrangs bei ca. 50 Minuten und mehrere Produkte bei ca. 42 Minuten Retentionszeit.

Ausserdem sollte nicht nur die Debromierung quantifiziert werden, sondern auch das Verhältnis von Keton **29**/Hydroxid **30**, das Aufschluss über die Effizienz der Elektronenübertragung geben kann (Kapitel 3.2.2).

Die HPLC-Analysen der Belichtungsexperimente zeigten ein deutliche Umsetzung des Eduktstrangs, doch die Signale waren stets mit einer unangenehmen Signalverbreiterung und von Signalintensitätsverlust begleitet (Abbildung 51).

Kapillarelektrophorese (CE) ist in der Regel eine sensible Alternative zur HPLC-Analyse von DNA, besonders weil sie oft eine noch höhere Trennleistung hervorbringt. Sie verlangt nur geringe DNA-Mengen, jedoch eine exzellente Entsalzung der Proben.<sup>[69]</sup> Auch in den CE Analysen ergaben sich Interpretationsprobleme aufgrund der Signalüberlagerungen (Abbildung 52).



**Abbildung 52.** Kapillarelektrophorese des Einzelstrangs **S1** vor (links) und nach (rechts) der Belichtung.

Im Gegensatz zu Experimenten, in denen Pyren, Diaminonaphthalin oder Flavin als Donoren eingesetzt wurden, entstehen durch die *Norrish-Typ I* Spaltung des Donors **24** eine Vielzahl von Zersetzungsprodukten, die für diese Signalüberlagerungen verantwortlich sein könnten. Die Zersetzungsprodukte beinhalten Stränge mit dem Elektronenübertragungsprodukt (Keton **29**), Stränge mit dem Quenchingprodukt (Hydroxid **30**), Stränge mit den Diastereoisomeren von **29** und **30** (*cis/trans*-Amid) und natürlich debromierte bzw. bromierte Stränge (Siehe Kapitel 3.3).

In einem neuen Ansatz sollten die belichteten Stränge in ihre einzelnen Nukleoside hydrolysiert und per HPLC analysiert werden. Die einzelnen Nukleoside haben stark unterschiedliche Retentionszeiten, weshalb eine Integration der UV-Signale vereinfacht sein sollte. Auch die Analyse des Keton **29**/Hydroxid **30**-Verhältnisses sollte so einfacher sein, da die UV-Signale über HPLC-MS direkt dem Keton **29** bzw. Hydroxid **30** zugeordnet werden können.

### 3.6.2 Enzymatischer Verdau der modifizierten DNA-Stränge

Da die Analyse belichteter DNA-Duplexes, wie im vorigen Kapitel erläutert, nicht erfolgreich war, wurde in einem neuen Ansatz die Analyse hydrolysiertes DNA Duplexes getestet. Eine der mildesten Methoden DNA in ihre einzelnen Nucleoside zu spalten, ist die enzymatische Hydrolyse. Dabei wird die DNA mit Nucleasen zu den entsprechenden Nucleosidmonophosphaten umgesetzt. Die Monophosphate werden weiter mit Phosphatasen zu den Nucleosiden hydrolysiert. Die Aktivität der Enzyme hängt oft vom Puffer, den zugegebenen Kofaktoren und der Salzkonzentration ab.

Deswegen wurde anfangs die DNA-Lösung (3  $\mu\text{M}$ , 1 mL) nach den Belichtungen über SepPak® entsalzt, eingengt und in dem passenden Puffer wieder gelöst. Hauptproblem des Verdau war stets die Hydrolyse der Phosphatbindung zwischen Donor und dem 3'-Nucleosid, doch durch Optimierung der Bedingungen konnte voller Umsatz erreicht werden. Dies verlangte jedoch hohe Enzymkonzentrationen (200 Einheiten S1 Nuclease, 50 Einheiten Antarktische Phosphatase und 0.3 Einheiten Phosphodiesterase I) unter Standard-Pufferbedingungen (Tabelle 7).

Nuclease	Puffer	Temperatur	Zeit
S1 ( <i>Aspergillus oryzae</i> , Aldrich)	300 mM $\text{NH}_4\text{OAc}$ , 100 mM $\text{CaCl}_2$ , 1 mM $\text{ZnSO}_4$ , pH 5.7	37 °C	3 Stunden

Phosphatasen	Puffer	Temperatur	Zeit
Phosphodiesterase I ( <i>Crotalus adamanteus venom</i> , biomol 20240Y), Antarktische Phosphatase (Biolabs M0289)	500 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0	37 °C	3 Stunden

**Tabelle 7.** Verdauemethode der entsalzten und umgepufferten DNA-Stränge.

Die Verdau wurden jeweils dreimal an den belichteten und unbelichteten Strängen durchgeführt, um einerseits die Debromierung berechnen zu können, aber auch um die Verlässlichkeit der Daten über die Standardabweichung zu überprüfen. Anschließend wurde die Verdau-Lösungen filtriert und per HPLC untersucht. Die 5-Br-dU Signale wurden integriert und durch die entsprechenden Integrale der Adenosinsignale geteilt, um Konzentrationsunterschiede zwischen den Strängen abzugleichen. Trotz exzellenter Verdau und HPLC-Spektren wurden keine klaren Debromierungswerte erhalten. Oft wurde sogar Bromierung gewonnen, was auf störende Hintergrund-HPLC-Signale hindeutete. Zusätzlich ging bei der DNA-Entsalzung DNA verloren, weshalb angenommen wurde, dass bei der Entsalzung das Verhältnis von Strang zu Gegenstrang sich geändert haben könnte und deswegen keine klaren Debromierungswerte erhalten werden konnten. Um mögliche Einflüsse der Durchflussraten an der SepPak® Entsalzungskartusche auszuschließen, wurde die Lösungen mit Spritzenpumpen und damit durchwegs konstanten Geschwindigkeiten durch die Kartusche gepresst. Damit konnte aber lediglich gezeigt werden, dass die Kartuschen von unterschiedlicher Qualität sind und ihre Affinität für DNA von Kartusche zu Kartusche wechselt.

### 3. Ergebnisse & Diskussion

Nukleasen	Zugegebener Puffer	T, t	Phosphatasen	Puffer	T, t
400 E S1	300 mM NH <sub>4</sub> OAc, 100 mM CaCl <sub>2</sub> , 1 mM ZnSO <sub>4</sub> , pH 5.7*	37 °C, 3 Std.	100 E Antarktia	500 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0*	37 °C, 3 Std.
10.1 E P1	w.o.	w.o.	50 E w.o.	w.o.	w.o.
w.o.	w.o.	w.o.	100 E w.o.	w.o.	w.o.
400 E S1	Keine Pufferzugabe	w.o.	100 E w.o.	Keine Pufferzugabe	w.o.
0.5 E snake venom	20 mM Tris/HCl, 100 mM MgCl <sub>2</sub> , 1 M NaCl, pH 9.0*	37 °C, 6 Std.	50 E w.o.	w.o.	37 °C, 35 Min
w.o.	w.o.	w.o.	5 E CIP Phosphat.	w.o.	w.o.

**Tabelle 8.** Ansätze zum Verdau unbelichteter DNA-Stränge bei hohen Salzkonzentrationen. E = Einheiten, w.o. = wie oben, \* = 10× Puffer. Die grau unterlegten Verdauvarianten funktionierten einwandfrei. P1 (*Penicillium citrinum*, Aldrich), S1 (*Aspergillus oryzae*, Aldrich), Alkaline bzw. CIP Phosphatase (*Calf intestinal*, Biolabs), Antarktia (*Antartic phosphatase*, Biolabs), Phosphodiesterase bzw. snake venom (*Crotalus adamanteus venom*, biomol).

Alternativ wurde eine Verdauemethode entwickelt, die es erlaubte die DNA in Gegenwart hoher Salzkonzentrationen zu verdauen. Anstatt die DNA nach der Belichtung zu entsalzen, wurden die Belichtungslösungen sofort auf 100 µL eingengt, wodurch die Konzentrationen von Salz und Puffer auf 1.5 M bzw. 100 mM erhöht wurden. Damit sollte DNA-Verluste, die durch die Entsalzung erfolgten, ausgeschlossen werden können. In ersten Ansätzen wurden die etablierten Verdauensysteme an unbelichteten Duplexsträngen (2 nmol in 100 µL 10× Belichtungspuffer) getestet (Tabelle 8).

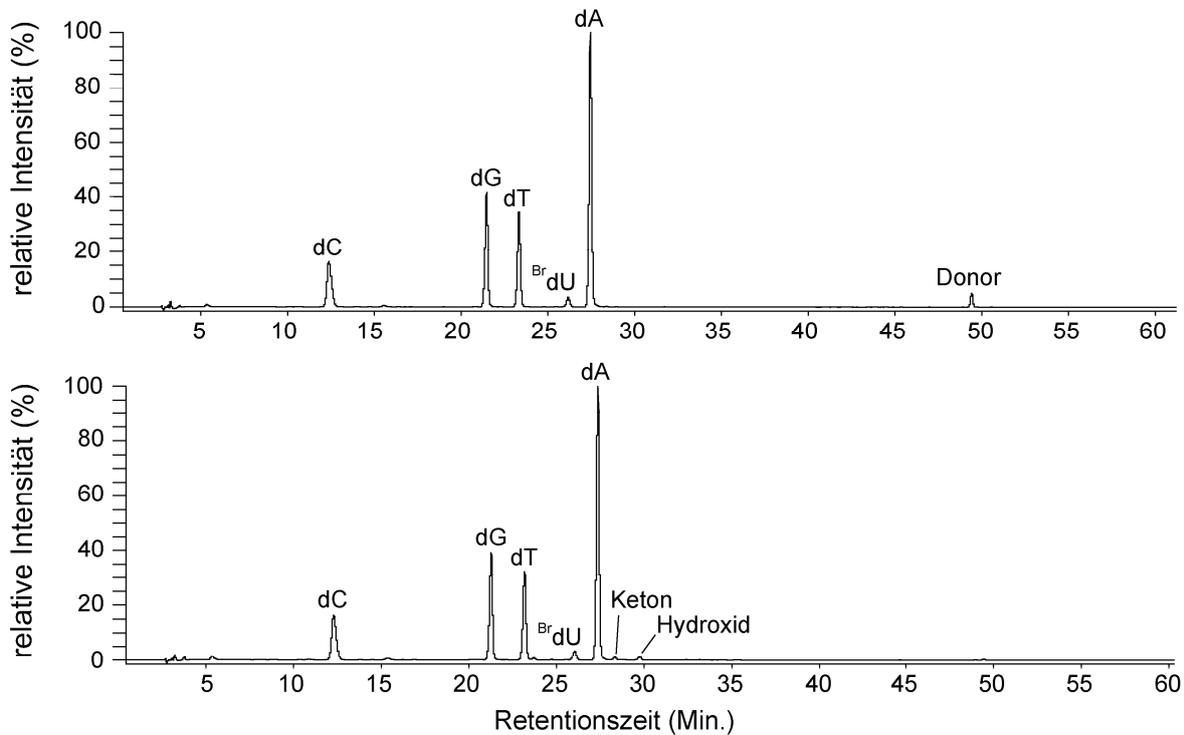
Nukleasen	Zugegebener Puffer	T, t	Phosphatasen	Puffer	T, t
200 E S1	300 mM NH <sub>4</sub> OAc, 100 mM CaCl <sub>2</sub> , 1 mM ZnSO <sub>4</sub> , pH 5.7*	37 °C, 3 Std.	25 E Antarktika, 0.3 E snake venom	500 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0*	37 °C, 3 Std.
200 E S1, 5 E BAL-31	w.o.	30 °C, 2 Std.	w.o.	w.o.	w.o.
w.o.	w.o. plus 120 mM CaCl <sub>2</sub> , 120 mM MgCl <sub>2</sub> , 10 mM EDTA‡	‡	w.o.	w.o.	w.o.
w.o.	120 mM CaCl <sub>2</sub> , 120 mM MgCl <sub>2</sub> , 10 mM EDTA*	30 °C, 3 Std.	w.o.	w.o.	37 °C, 2 Std.
5 E BAL-31	120 mM CaCl <sub>2</sub> , 120 mM MgCl <sub>2</sub> , 10 mM EDTA*	30 °C, 2 Std.	w.o.	w.o.	37 °C, 3 Std.
100 E S1, 10.1 E P1	300 mM NH <sub>4</sub> OAc, 100 mM CaCl <sub>2</sub> , 1 mM ZnSO <sub>4</sub> , pH 5.7*	37 °C, 3 Std.	w.o.	w.o.	w.o.

**Tabelle 9.** Ansätze zum Verdau belichteter und unbelichteter DNA-Stränge. E = Einheiten, w.o. = wie oben, \* = 10× Puffer, ‡ = zuerst wurde die DNA 2 Std. mit BAL-31 bei 30 °C verdaut, dann wurde die S1 Nuklease zugegeben und die Temp. auf 37 °C für 2 Std. erhöht. Die grau unterlegte Verdauvariante funktionierte einwandfrei. P1 (*Penicillium citrinum*, Aldrich), S1 (*Aspergillus oryzae*, Aldrich), Alkaline bzw. CIP Phosphatase (*Calf intestinal*, Biolabs), Antarktia (*Antartic phosphatase*, Biolabs), snake venom (*Crotalus adamanteus venom*, biomol), BAL-31 (*Alteromonas espejiana*, NEB).

### 3. Ergebnisse & Diskussion

Beim Verdau unbelichteter DNA-Stränge stellte sich die P1 Nuklease als effizientestes Enzym heraus. Da nach den Belichtungen sich die Struktur des Donors durch die *Norrish Typ I* Reaktion massiv geändert hat, wurde die P1 Nuklease auch mit belichteten Strängen getestet. Doch obwohl die Struktur des Donors vom Acyloin zum  $\beta$ -Hydroxy- bzw.  $\beta$ -Keto-amid sterisch weniger anspruchsvoll wird, funktionierte der Verdau an den belichteten Strängen mit der P1 Nuklease nicht mehr. In Folge wurden erneut Verdausysteme mit weiteren Nukleasen getestet, wobei jeweils belichtete als unbelichtete Stränge verwendet wurden (Tabelle 9):

Als exzellentes Verdausystem fungierte eine Nukleasenkombination von Phosphodiesterase I (snake venom), S1 und BAL-31 (Abbildung 53). Letzteres ist eine DNA-Duplex-Exonuklease, die sowohl 3'- als auch 5'-Termini abbaut.<sup>[288]</sup> Ausser bei DNA-Verformungen wie z.B. Krümmungen oder Lücken fungiert sie hochselektiv als Endonuklease.<sup>[289]</sup> Bei zu grossen Mengen an Phosphodiesterase I und langen Inkubationszeiten findet eine Zersetzung des Donors bzw. dessen Belichtungsprodukten

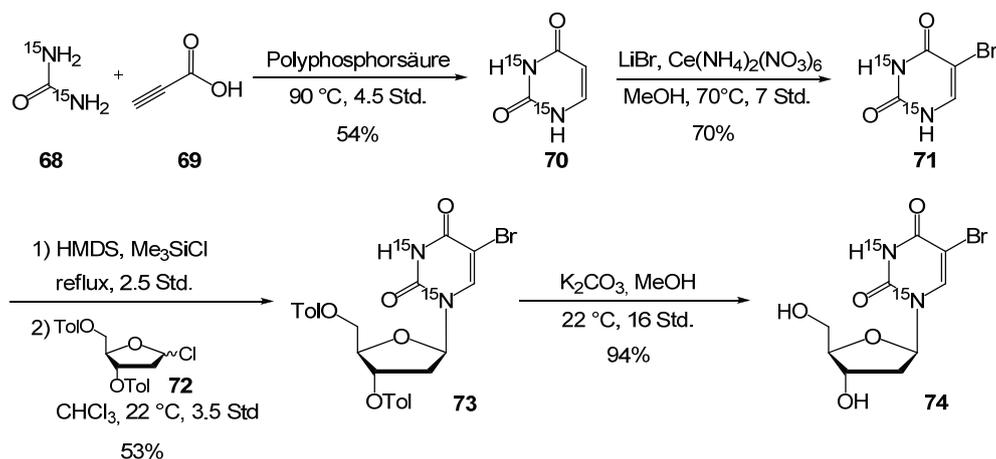


**Abbildung 53.** HPL-Chromatogramme der belichteten (unten) und unbelichteten (oben) verdauten DNA.

statt. Diese Nebenreaktion wurde durch Zugabe von maximal 0.3 Einheiten und einer Reaktionszeit von 2 Stunden verhindert. Der Verdau wurde auch mit reinem 5-Br-dU getestet, um eine enzymatische Zersetzung ausschließen zu können. HPLC-MS lieferte keine Hinweise auf derartige Nebenreaktionen, weshalb erneut eine Debromierungsquantifizierung vorgenommen wurde. Wie zuvor wurden wieder verschiedenste Bromierungswerte während der Belichtung festgestellt, was bei den geringen DNA-Mengen (1 nmol) auf das unregelmässige Hintergrundrauschen der HPLC-Spur zurückgeführt wurde. Die dreifache DNA-Menge (3 nmol) änderte daran aber auch nichts. Deswegen wurde in einem neuen Ansatz versucht, den Bromgehalt anstelle von UV-Absorptionsdaten massenanalytisch per HPLC-MS nachzuweisen.

### 3.6.3 Synthese von 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> zu massenspektrometrischen Quantifizierung der Debromierung

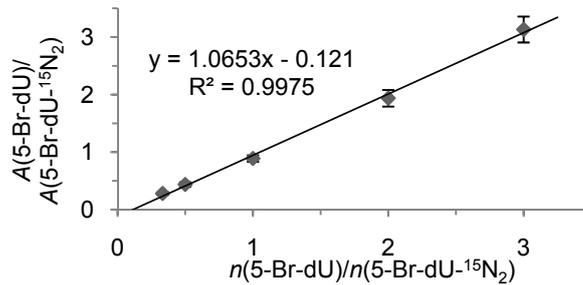
Da über einfache HPLC Auftrennung und entsprechende UV-Signal-Integration von belichteten DNA-Duplexes (Kapitel 3.6.1) als auch verdauten DNA-Strängen (voriges Kapitel) eine Debromierungsquantifizierung nicht möglich war, wurde eine alternative massenanalytische Methode getestet. In den Arbeiten von Tobias Brückl und Daniel Globisch zur massenanalytischen Quantifizierung von modifizierten RNA-Nukleosiden in verschiedenen Zelllinien, wurden exakt bestimmte Mengen an Isotopen-markierten Nukleosiden zu den Probelösungen gegeben und per HPLC-MS vermessen.<sup>[14]</sup> Über das Verhältnis der Integrale aus dem Totalen-Ionen-Strom von Isotopen-markiertem-Nukleosid und seinem natürlichen Gegenstück konnten exakte quantitative Aussagen über die Nukleoside getätigt werden. Diese Technik sollte bei der Quantifizierung der Debromierung die Probleme des HPLC-Hintergrundrauschens umgehen. In wenigen Schritten wurde Isotopen-markiertes 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> hergestellt (Schema 43). Als Isotopenquelle wurde dabei <sup>15</sup>N-haltiger Harnstoff **68** eingesetzt, der mit Carbonsäure **69** in Polyphosphorsäure als Lösungsmittel zu Uracil-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> **70** kondensiert wurde.<sup>[290]</sup>



*Schema 43. Synthese des Isotopen markierten 5-Brom-desoxyuridins 73.*

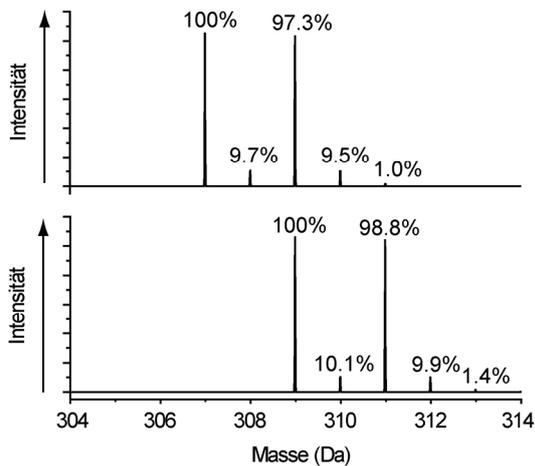
Vom Uracil ausgehend konnte nun entweder die glycosidische Bindungsreaktion mit anschließender Bromierung oder in umgekehrter Reihenfolge zuerst die Bromierung und dann die glycosidische Bindungsreaktion durchgeführt werden. Testreaktionen mit unmarkierten Edukten zeigten, dass letzteres die bessere Variante war, da die Ausbeuten deutlich höher waren, und die Trennung von  $\alpha,\beta$ -Isomeren sofort nach der glycosidischen Bindungsreaktion durch einfaches Ausfällen vorgenommen werden konnte. Die Bromierung des Uracil-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> **70** zu 5-Br-Uracil-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> **71** verlief nach einem bekannten Prozedere mit Cer(III) als Oxidationsmittel.<sup>[242]</sup> Zur anschließenden glycosidischen Bindungsreaktion à la Silyl-Hilbert-Johnson<sup>[291-292]</sup> bzw. Vorbrüggen<sup>[293-294]</sup> wurde kommerziell erhältlicher Toluoyl-geschützter Chlorzucker **72** eingesetzt. Mit 53%-iger Ausbeute wurde so das geschützte Brom-Nukleosid **73** hergestellt. Als milde und effiziente Entschützungsvariante erwies sich K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in MeOH. Obwohl Uridinderivate relativ apolar sind, ließ sich das 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> **74** kaum in organischen Lösungsmittel lösen. Aus diesem Grund musste der Reaktionsrückstand direkt in Silicagel

aufgenommen werden und chromatographisch gereinigt werden, wodurch die Ausbeute exzellent (94%) ausfiel.



**Abbildung 54.** Lineare Regression der Integrale des Totalen-Ionen-Stroms (HPLC-MS) und den eingesetzten Molmengen.

Um via HPLC-MS die Menge an 5-Br-dU bestimmen zu können, wurden Kalibrationskurven erstellt (Siehe Kapitel 5.3). Die resultierende lineare Korrelation lieferte den nötigen Zusammenhang zwischen den Integralen aus dem Totalen-Ionen-Strom und den eingesetzten 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub>-Mengen (Abbildung 54).



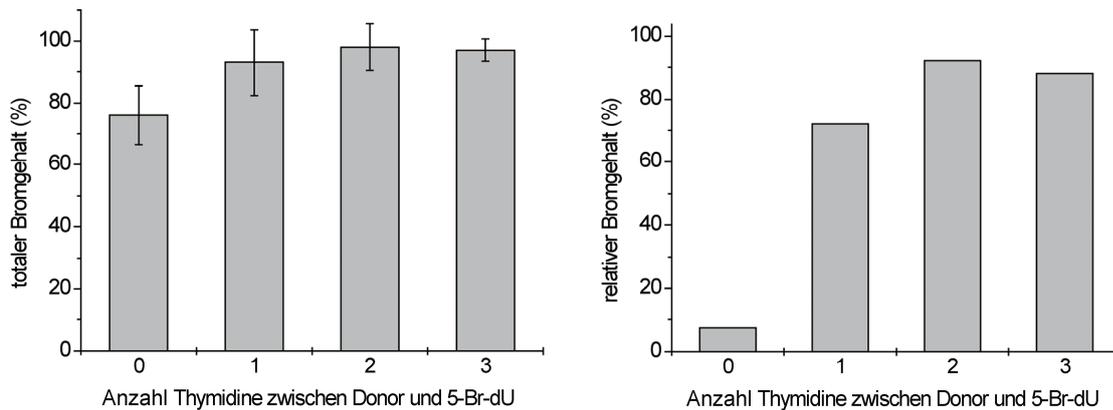
**Abbildung 55.** Berechnete Isotopenverteilungen von 5-Br-dU (oben) und markiertem 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> (unten). Zur Berechnung der Verteilung wurde jeweils das protonierte Nucleosid verwendet. Integration des Totalen-Ionen-Stroms erfolgte für das unmarkierte Nucleosid über das Signal bei 307 Da und für das <sup>15</sup>N-markierte bei 311 Da.

Einen Einfluss der natürlichen Isotopenverteilung des Bromatoms (Abbildung 55) musste bei der Berechnung der Integrale aus dem Totalen-Ionen-Stroms der HPLC-MS in Betracht gezogen werden. Integration des Totalen-Ionen-Stroms erfolgte für das unmarkierte Nucleosid über das Massensignal bei 307 Da und für das <sup>15</sup>N-markierte bei 311 Da (Abbildung 55). Weil 5-<sup>81</sup>Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> mit 1.2 % Unterschied etwas geringfügiger als 5-<sup>79</sup>Br-dU vorkommt, und das unmarkierte Nucleosid bei 311 Da noch 1.0% relative Intensität aufweist, wurden annähernd gleiche Substanzmengen des Isotopenlabels im Vergleich zum unmarkierten Nucleosid zugegeben. Bei Debromierungsprozentsätzen zwischen 2% und maximal 25% war die Abschätzung der zuzugebenden Menge an 5-Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> einfach. Mit einem 1:1 Molverhältnis der beiden Nucleoside ergäbe sich so ein beinahe 1:1 Verhältnis der Integrale, was gut mit den Daten der linearen Regression übereinstimmt. Findet z.B. 25% Debromierung bei der Belichtung statt, und es bildet sich ein 75:100 Verhältnis (A(5-<sup>79</sup>Br-dU):A(5-<sup>81</sup>Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub>)), so ist das Integral des markierten Nucleosids nur vernachlässigbar kleiner als das Integral unbelichteter Stränge. Aus diesem Grund wurde die kleine Abweichung der Isotopenverteilung zwischen den beiden Nucleosiden für die Bestimmung der Debromierung mit gutem Gewissen nicht weiter berücksichtigt.

### 3.7 Belichtungsexperimente (I)

Wie im vorigen Kapitel erläutert, wurde jeder Probe vor der Belichtung bzw. vor dem Verdau (bei den Unbelichteten) eine bestimmte Menge des 5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$  zugegeben und über das Verhältnis zu unmarkierten 5-Br-dU die Debromierung quantifiziert.

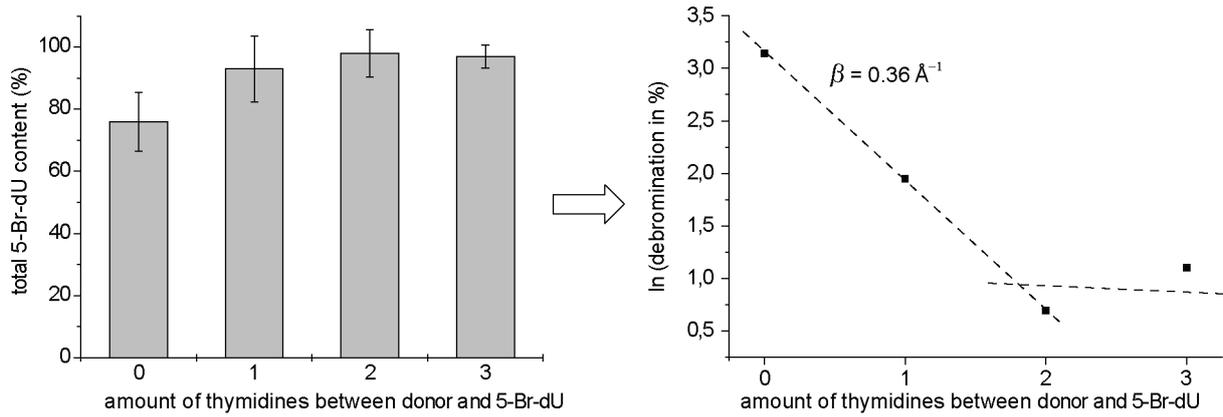
Die Belichtungen der DNA-Duplexes **S0/S1-S4** ergaben eine klare Abnahme der Debromierung mit zunehmender Transferdistanz. Bei Duplex **S0/S1**, bei dem der Donor direkt neben dem 5-Br-dU lokalisiert ist, wurde eine totale Debromierung von 23% erreicht. Unter Berücksichtigung der Resultate aus der Belichtung des einzelnen Donor-Nukleosids **24** (Abschnitt 3.2.2), bei der eine maximale Produktbildung von 40% erreicht wurde, zeigt 23% totale Debromierung sehr effizienten Elektronentransfer. Wird zudem noch das  $\beta$ -Ketoamid/ $\beta$ -Hydroxyamid-Verhältnis von bis zu 1.7, das aus den Verdau der DNA bestimmt wurde, mit einbezogen, werden maximal 25% der Elektronen aus der Donorspaltung auf die DNA übertragen. Damit wäre die relative Ausbeute bezogen auf die maximal mögliche Elektronenübertragung 92%. Die Belichtungsexperimente der Stränge, deren Donor durch 1, 2 oder 3 dazwischenliegende Thymidine von 5-Br-dU getrennt ist, lieferten totale Debromierungswerte von 23%, 7%, 2% bzw. 3%. Für die relativierten Debromierungswerte käme das 92%, 28%, 8% bzw. 12% gleich (Abbildung 56).



**Abbildung 56.** Links: Bromgehalt in Abhängigkeit von der Anzahl dazwischenliegender Thymidine. Rechts: Bromgehalt normiert auf die maximal mögliche Anzahl injizierter Elektronen (25%).

Eine derart starke Abnahme der Debromierung über eine kurze Distanz deutet auf einen direkten Transfer der Elektronen von Donor zu Akzeptor hin. *Superexchange*, wie er in der Einleitung erklärt ist (Kapitel 1.3.1), entspräche einem solchen exponentiell von der Distanz abhängigen Transfermechanismus.<sup>[15]</sup> Zur Überprüfung dieser Mechanismen wurden die erhaltenen Debromierungswerte (23%, 7%, 2% und 3%) logarithmisch aufgetragen und einer linearen Regression unterzogen. Diese ergab eine Steigung von  $0.36 \text{ \AA}^{-1}$ , was mit *Superexchange* oder *Tunneling* übereinstimmt (Abbildung 57).<sup>[4]</sup> Das Resultat passt sehr gut mit der Annahme überein, dass der Elektronentransfer auf 5-Br-dU wegen seiner hohen Elektronenaffinität begünstigt ist und deswegen stark von dessen Distanz zum Donor abhängt<sup>[4, 15]</sup>.

### 3. Ergebnisse & Diskussion



**Abbildung 57.** Lineare Regression der logarithmisch aufgetragenen Debromierungswerte ergibt den  $\beta$ -Wert, dessen Grösse als Hinweis auf den Transfermechanismus interpretiert werden kann.  $0.36 \text{ \AA}^{-1}$ , ist relativ gross und deutet auf Superexchange oder Tunneling hin.<sup>[15]</sup>

Bei Transferdistanzen grösser als 3 Thyminiden ( $> 13.6 \text{ \AA}$ ) findet kaum direkter Transfer mehr statt, sondern wahrscheinlich *Hopping* wie kleine  $\beta$ -Werte ( $0.1 - 0.3 \text{ \AA}^{-1}$ ) anderer Forschungsgruppen zeigen (Einleitung, Kapitel 1.3.2).<sup>[295]</sup> Obwohl der ermittelte  $\beta$ -Wert auf eine stark exponentielle Distanzabhängigkeit hindeutet, weicht der Wert geringfügig vom realen Wert ab, wie er durch folgende Formel aus Kapitel 1.3.1 für *Superexchange* beschrieben wird:

$$k \sim e^{-\bar{\beta}N}$$

$N$  = Anzahl Nukleobase über die *Tunneling* oder *Superexchange* stattfindet

$\bar{\beta}$  = Distanzabhängigkeitsfaktor

Im Falle des 5-Br-dU wird dessen Reduktion und Debromierung als sehr schneller Prozess angenommen. Trotzdem kann ein Equilibrium wie zum Beispiel reversible Reduktion des 5-Br-dU nicht ausgeschlossen werden. Deswegen ist der reale  $\bar{\beta}$ -Wert nur annähernd durch den neu bestimmten Wert von  $0.36 \text{ \AA}^{-1}$  gegeben.<sup>[15]</sup> Wegen der Verzerrung der  $\beta$ -Werte sind oft zeitaufgelöste Untersuchungen notwendig, um den realen  $\bar{\beta}$ -Wert bestimmen zu können. Lewis *et al.* fand in DNA-Haarnadeln, die Stilbene als Donor als auch Akzeptor enthalten, einen  $\beta$ -Wert von  $0.97 \text{ \AA}^{-1}$ .<sup>[295]</sup> Da es sich dabei aber um Lochtransferstudien handelt, ist der Wert nur beschränkt vergleichbar. Lediglich ein  $\beta$ -Wert von  $0.6 \text{ \AA}^{-1}$  wurde für Kurzstrecken-Überschusselektronentransfer entlang RNA bestimmt, allerdings handelt sich dabei um ein System, das Ladungsrekombination miteinbezieht.<sup>[102]</sup>

Für die Berechnung der  $\beta$ -Werte des Langstreckentransfers reicht die Ausflösung des hier entwickelten Systems noch nicht aus, weshalb, wie im nächsten Kapitel erläutert, verschiedene Optimierungsansätze durchgeführt worden sind.

### 3.8 Belichtungsexperimente (II)

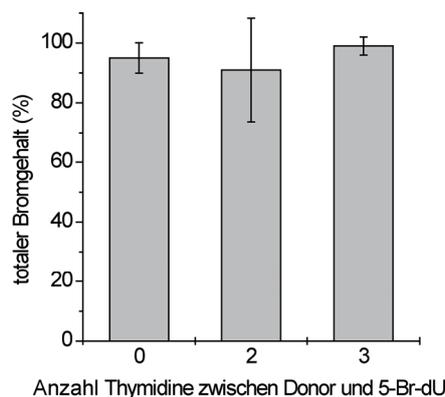
Elektronentransfer über 3 Thymidine resultierte in kleinen Debromierungswerten (vorheriges Kapitel 3.7). Für Langstreckentransferstudien über 3 Thymidine waren diese Debromierungswerte noch zu klein, da die Auflösung bzw. Standardabweichung keine klare Interpretation mehr zuließ. Deswegen wurden neue Stränge synthetisiert, deren Donor über eine endständige Position besser Elektronen auf die DNA übertragen sollte (Abbildung 58).

<b>S6</b>	5'-ATGTCGCAAAAA-3'	
<b>S7</b>	5'-D <sup>Br</sup> dUTTTGCGACG-3'	53 °C
<b>S8</b>	5'-DTT <sup>Br</sup> dUTGCGACG-3'	53 °C
<b>S9</b>	5'-DTT <sup>Br</sup> dUGCGACG-3'	53 °C

**Abbildung 58.** Synthetisierte DNA-Stränge **S7-S9** mit Endständigem Donor. Dahinter sind die Schmelzpunkte der Stränge **S7-S9** mit dem entsprechenden Gegenstrang **S6** aufgelistet.

Durch den endständigen Donor sollten grössere und besser analysierbare Debromierungswerte erhalten werden. Ein intern eingebauter Donor destabilisiert laut Schmelzpunktanalyse die DNA leicht (Siehe Kapitel 3.5, Abbildung 48). Ein endständig angebrachter Donor hingegen gewinnt an dynamischer Freiheit und führt daher zu einer stabileren DNA mit höherem Schmelzpunkt (Abbildung 58). Mit einer grösseren Bewegungsfreiheit sollte der Donor nach der *Norrish-Typ I* Spaltung das Ketylradikal näher an die Nukleobase heranbringen können und somit das Elektron effizienter übertragen. In einem ersten Ansatz wurde Glen UnySupport™ eingesetzt. Dieser ermöglicht es, spezielle Nukleoside am 3'-Ende einer synthetischen DNA anzubringen. Da für den Elektrontransfer vermutet wird, dass er in die 5'-Richtung besser verläuft, wurde dieser Festphasenträger für die DNA-Synthese gewählt. Die erste Kopplung mit dem Donor-Amidit **37** verlief aber in derart schlechter Ausbeute, dass für die DNA-Synthese schließlich Standard-Festphasenträger verwendet wurde. Damit ließ sich der Donor nicht mehr am 3'-Ende anbringen, sondern wurde alternativ am 5'-Ende installiert. Drei Stränge **S7-S9** mit jeweils unterschiedlicher Menge an dazwischenliegenden Thymidinen wurden hergestellt und aufgereinigt (Abbildung 58). Alle Duplexe **S6/S7-S9** hatten den gleichen Schmelzpunkt. Dieser lag trotz gleicher Nukleosidzusammensetzung der Einzelstränge ca. 7 °C über den Schmelzpunkten der Duplexes **S0/S1-S4**, was auf eine weniger eingeschränkte dynamische Freiheit des Donors hindeutete. In erneuten Belichtungsexperimenten wurde nun die These getestet, ob durch die endständige Stellung die Menge der injizierten Elektronen gesteigert werden könnte. Auch mit diesem Konzept konnte keine Verbesserung bewirkt werden. Vielmehr schien die Elektronenübertragung sogar schlechter zu werden. Obwohl die Standardabweichung für Strang **S6**, der kein Thymidin zwischen Donor und 5-Br-dU besitzt, nicht groß war, war die Debromierung ca. 17% schlechter (Abbildung 59). Infolge wurde untersucht, ob schlecht entgaste DNA-Lösungen eine

Rolle spielen. Schließlich könnte restlicher Sauerstoff durch die Ketylradikale reduziert werden. 6 Zyklen Pump & Tau-Entgasung vor der Belichtung ergaben aber keine besseren Resultate.



**Abbildung 59.** Debromierung der Stränge **S6**, **S7** und **S8** (endständiger Donor). Vom Einbau des Donors am Ende der DNA-Duplexes wurden verbesserte Elektronenübertragung erhofft. Doch wurde kaum Debromierung für entfernte 5-Br-dU's vorgefunden. Bei 0 dazwischenliegender Thymidine 5% Debromierung, bei 2 Thymidinen 9% und bei 3 Thymidinen 2%.

Mehrere Möglichkeiten könnten ebenfalls zu einer kleineren Elektronenübertragung führen: Laut Marcus-Theorie spielt bei einer Elektronenübertragung die Reorganisationsenergie der Solvatationshülle eine wichtige Rolle.<sup>[92]</sup> Durch die endständige Position in Strang **S6/S7** ist der Donor stärker dem Lösungsmittel exponiert, weshalb die Reorganisation der Solvatationshülle einen grösseren Einfluss als bei einem intern angebrachten Donor haben könnte. Außerdem hängt die Energie der Elektronenübertragung von den Oxidations- und Reduktionspotentialen ab. Letztere werden unter anderem von der Basenstapelung und damit von der Sequenz oder einer endständigen Position beeinflusst.<sup>[62, 101]</sup> Eine geringere Elektronenübertragung durch die verstärkte Bildung des Quenchingproduktes ( $\beta$ -Hydroxy-amid **30**) ließ sich aber nicht feststellen.

Möglicherweise gehen auch Elektronen in das Lösungsmittel verloren. Kürzlich publizierte Femtosekundenuntersuchungen von Radiolyseexperimenten mit Nukleotiden deuten darauf hin, dass prehydratisierte Elektronen  $e_{pre}^-$  und nicht hydratisierte Elektronen  $e_{aq}^-$  die reaktiven Spezies sind, die mit den Nukleotiden reagieren.<sup>[130, 132]</sup> Diese  $e_{pre}^-$  befinden sich in angeregten Zuständen und haben eine Lebensdauer von 200-500 fs. Nach der Reaktion eines  $e_{pre}^-$  mit einem Nukleotid kann dieses, solange es noch in einem angeregten Zustand ist, wieder dissoziieren. Es ist somit fragwürdig, ob die Dissoziation ins Lösungsmittel auch nach einer Elektronenübertragung von einem Donor stattfinden kann. Sie würde zumindest die verringerte Debromierung bei den endständigen Donoren erklären, die dem Lösungsmittel ausgesetzt sind.

Die Dissoziation von Elektronen aus der DNA wird immer wieder diskutiert. Möglicherweise spielen auch die Phosphodiestergruppen eine Rolle,<sup>[296]</sup> indem diese Elektronen von den Nukleobasen aufnehmen, was unter anderem zu den beobachteten Strangbrüchen führen könnte.<sup>[297-299]</sup>

Für weitere Untersuchungen wie zum Beispiel Weistrecken-Elektronentransfer ist die Präzision der Debromierungsquantifizierung jedoch noch zu gering. Mit einer Verbesserung der Auflösung könnten neue Fragestellungen angegangen werden und mechanistische Aspekte aufgeklärt werden.

### 3.9 Zusammenfassung und Ausblick

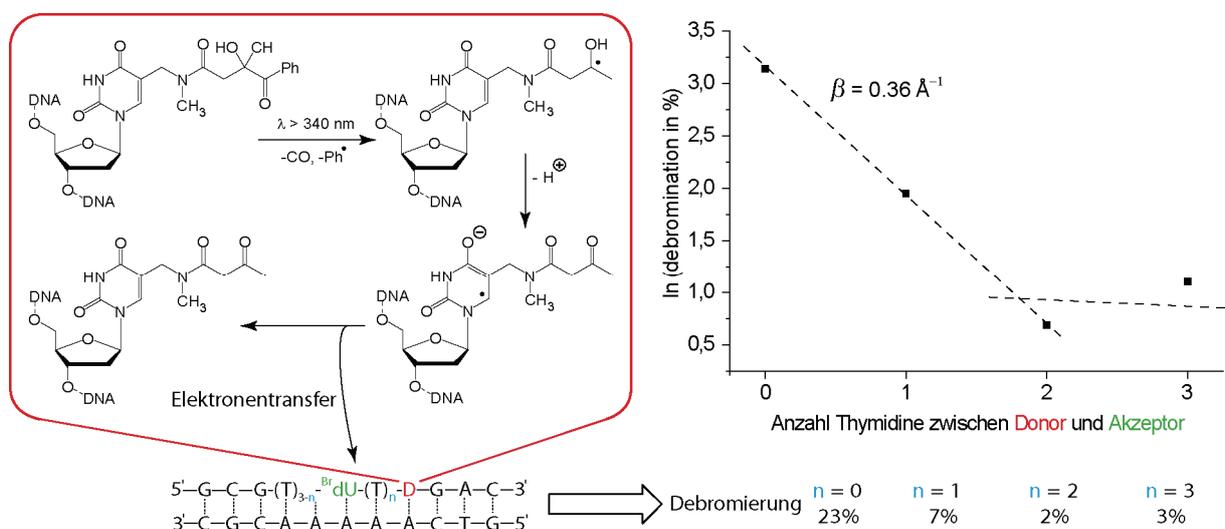
Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neuer Grundzustandsdonor entwickelt, der über eine *Norrish-Typ I* Reaktion ein einzelnes Elektron auf die DNA übertragen kann. Im Gegensatz zu einer Vielzahl anderer Elektronendonoren unterliegt er nicht unbestimmt vielen Photozyklen und Ladungsrekombinationsprozessen. Die neue Phenon-Funktionalität lässt eine *Norrish-Typ-I* Reaktion bei 355 nm Wellenlänge zu und somit in Gegenwart von 5-Br-dU. Interessanterweise spielt dabei die Amidbindung, über die die reaktive Acyloin-Funktionalität mit dem Thymidin verknüpft ist, eine wichtige Rolle, da die Ausbildung eines Lactams die *Norrish-Typ-I* Reaktion inhibieren kann.

Detaillierte Analysen des Donors und seinen Zersetzungsprodukten ergaben wertvolle Einblicke in die Effizienz der Elektronenübertragung. Insbesondere erlaubte die quantitative Untersuchung von  $\beta$ -Keto-amid **29** und  $\beta$ -Hydroxy-amid **30**, Aussagen über das spätere Verhalten des Donors in der DNA zu tätigen.

Der Donor wurde erfolgreich über Standard-Phosphoramidit-Chemie in kurze DNA-Stränge eingebaut, die über *rp*-HPLC aufgereinigt werden konnten.

Elektronentransfer wurde mit 5-Br-dU als Detektornukleosid (Debromierung) nachgewiesen. MALDI-MS war dabei für kleine Transferdistanzen (3.4 Å) eine einfache Analysemethode. Enzymatischer Verdau der DNA-Stränge lieferte saubere HPL-Chromatogramme. Massenanalytische Quantifizierung der Debromierung mit HPLC-MS wurde mit Isotopen-markierten 5-<sup>81</sup>Br-dU-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> durchgeführt. Andere Analysemethoden wie CE und HPLC reichten nicht aus, um unverdaute, belichtete Stränge zu analysieren.

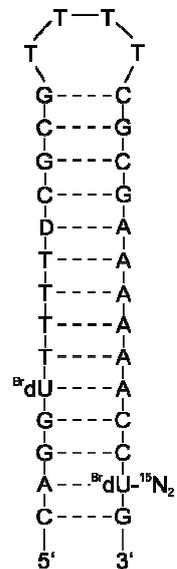
Die Debromierungseffizienz nimmt mit steigender Transferdistanz ab (Abbildung 60). Bei Distanzen bis zu 13.6 Å gehen dabei ca. 90% der injizierten Elektronen verloren, was darauf hinweist, dass die Elektronen entweder aus der DNA diffundieren, keine Triebkraft für eine Migration in eine bestimmte Richtung haben oder zum Beispiel über protonengekoppelte Quenchingprozesse aufgehalten werden.



**Abbildung 60.** Die Debromierung nimmt steigender Transferdistanz exponentiell ab, was auf den stark distanzabhängigen Superexchange-Mechanismus hindeutet. Ein distanzunabhängiger  $\beta$ -Wert von 0.36 konnte ermittelt werden.

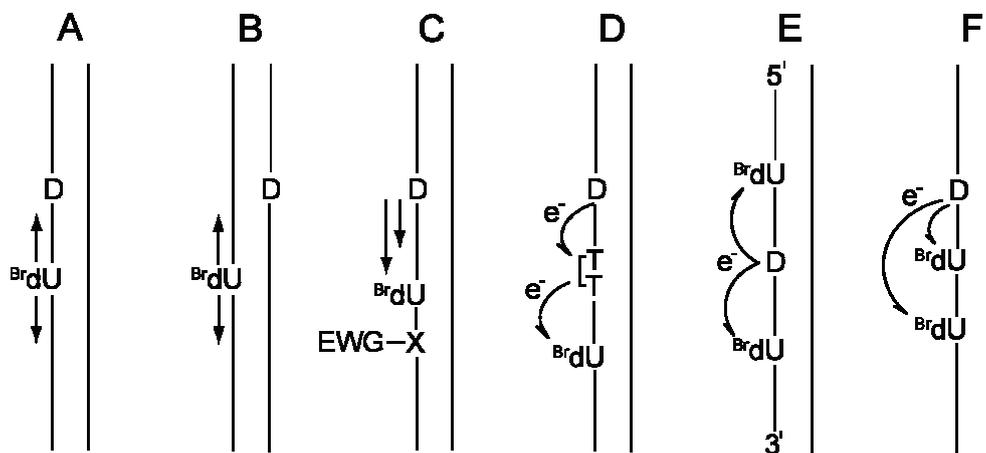
Das Vorliegen eines grossen  $\beta$ -Wertes von  $0.36 \text{ \AA}^{-1}$  erlaubt zudem, den Mechanismus des vorliegenden Kurzstreckentransfers auf *Tunneling* oder *Superexchange* zu beschränken.

Trotz eines neuen nun sehr gut untersuchten Donor-Systems, muss die Analyse der Debromierung für Untersuchungen wie z.B. Weitsreckentransfer noch präziser werden. Durch Ausgrenzen von Fehlerquellen wie kleinsten Abweichungen in den Strang/Gegenstrang-Verhältnissen oder den zugegebenen Mengen an 5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$  könnte dies erreicht werden. Die Synthese von DNA-Loops, die den Donor, 5-Br-dU und 5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$  enthielten, würde diese Fehlerquellen sofort eliminieren. Zudem wäre mit dem Isotopenlabel ein interner Standard von vornherein vorhanden, weshalb unbelichtete Stränge zur Nullwertbestimmung nicht mehr vermessen werden müssten (Abbildung 61). CE-Analysen der verdauten DNA-Stränge könnten durch die oft exzellente Auflösung der Methode die Quantifizierung über UV-Absorptionsdaten ermöglichen.



**Abbildung 61.** Die Synthese einer DNA-Haarnadel könnte Hybridisierungsprobleme und Pipettierfehler massiv korrigieren.

Mit einer Steigerung der Auflösung könnten Intra- Interstrangtransfer (A, B) bei Weitsrecken verglichen werden (Abbildung 62). Diese Vergleiche wurden bereits getätigt, allerdings nur für kurze Transferdistanzen, bei denen *Tunneling* oder *Superexchange* nicht ausgeschlossen werden konnte.<sup>[210]</sup> Mechanistische Untersuchungen zu Transfertheorien wie Polaron oder *Delocalized domain hopping* ließen sich durch Einbau elektronenentziehender Gruppen (EWG) angehen (C, D).



**Abbildung 62.** Mögliche Untersuchungen zur Effizienz des Elektronentransfers: Inter- und Intrastrangtransfer (A, B), Einfluss elektronenentziehender Gruppen (C, D), Direktionalität (E) und Abschätzungen der Transfergeschwindigkeit (F).

Ein konsekutiv zu einem T=T Dimer eingebautes 5-Br-dU könnte Transferraten erhöhen und die Dimerspaltung dadurch sowohl erhöhen als auch reduzieren. Auch die Frage nach einer Direktionalität (E) ist noch offen. Zwar wurden Untersuchungen dazu schon unternommen, aber entweder nur für Kurzstreckentransfer<sup>[181, 210]</sup> oder in Kombination mit dem T=T Dimer,<sup>[199]</sup> das nur langsam gespalten wird und dadurch kinetische Unterschiede der Transferraten kaum auflösen kann. Durch Einbau zweier 5-Br-dU's wäre die Elektronentransfergeschwindigkeit (F) einschätzbar. Würde bei

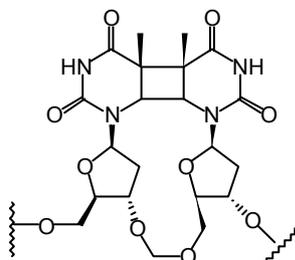
Langstreckentransfer nur das nähere 5-Br-dU (zum Donor) debromiert werden, wäre die Debromierung schneller als der Transfer. Wie im Falle der Direktionalität oder Inter-/Intrastrang-transfervergleichen wurden auch hier bereits Untersuchungen gemacht, aber ebenfalls nur im Kurzstreckenbereich.<sup>[101, 199]</sup>

Interessant wäre auch der Einsatz von 2'-Desoxyuridin anstelle von Thymidin als leitende Spezies. Es lässt sich etwas einfacher reduzieren als Thymidin und könnte zu einer Steigerung der Transfer-effizienz führen. Genau dies wurde von Yamana *et al.*<sup>[102]</sup> in Experimenten mit Pyren als Donor und RNA als leitendes Medium gezeigt.

Der neue Ein-Elektronen-Donor wäre ein optimaler Kandidat, weitere Einblicke in eine mögliche biologische Relevanz des Elektronentransfers innerhalb der RNA zu gewinnen.

#### 4. Synthese von DNA-Strängen mit dem Ein-Elektronen-Donor **24** und dem CPD-Photoschaden

Mit der Beobachtung der drastischen Abnahme der Debromierung, wie sie in den Strängen mit 5-Br-dU als Elektronenakzeptor beobachtet wurde, sollten Stränge synthetisiert werden, die den



**Abbildung 63.** *Cis-syn Cyclopyrimidin-Dimer (CPD bzw. T=T-Dimer) mit Formacetalrückgrat.*

Cyclobutanpyrimidin Photoschaden (CPD bzw. T=T-Dimer) beinhalten (Abbildung 63). Dieser lässt sich mit einem Reduktionspotential von -2.2 V schlechter reduzieren als 5-Br-dU (-1.64 V).<sup>[68]</sup> Dieser massive Unterschied könnte zu einem deutlichen Unterschied in der Triebkraft des direkten Elektronentransfers führen. Möglicherweise würde der CPD-Schaden für Kurzstreckentransfer sogar einen Mechanismuswechsel bewirken (von *Superexchange* oder *Tunneling* zu *Hopping*). Im Rahmen dieser Arbeit war für Stränge mit 5-Br-dU eine exponentiell distanzabhängige Transfereffizienz festgestellt worden (Kapitel 3.7). Ein  $\beta$ -Wert von  $0.36 \text{ \AA}^{-1}$  bekräftigte dabei, dass es sich wahrscheinlich um *Superexchange* oder *Tunneling* handelt. Im Falle des T=T-Dimers würde ein Mechanismuswechsel, eine deutlich geringere Distanzabhängigkeit und somit kleinen  $\beta$ -Wert bedeuten. Der  $\beta$ -Wert kann allerdings nur bestimmt werden, wenn die Dimerspaltung quantifizierbar ist. Als Alternative könnte das Verhältnis von  $\beta$ -Keto-amid **29** zu  $\beta$ -Hydroxy-amid **30** über enzymatischen Verdau der belichteten DNA bestimmt werden. Bei Strängen mit 5-Br-dU sollten im Vergleich zu Strängen mit dem T=T-Dimer mehr Elektronen vom Donor direkt übertragen werden. Je höher die Triebkraft für eine Elektronenübertragung umso eher werden mehr Elektronen übertragen, umso mehr  $\beta$ -Keto-amid sollte gebildet werden. In der Hoffnung, einen derartigen Effekt vorzufinden, wurden Stränge synthetisiert, die den CPD Schaden in Kombination mit dem Ein-Elektronen-Donor **24** enthielten (Abbildung 64). Das *Cis-syn* T=T-Dimer wurde als Phosphoramidit (von Veronika Welzmler bereitgestellt) in die DNA eingebaut. Es handelte sich bei dem Photoschaden aber nicht um den natürlichen, sondern aus synthetischen Gründen um ein Formacetal überbrücktes Derivat.<sup>[286]</sup> Wie beim Donor **24** wurden verlängerte Kupplungszeiten für die Sonderamidite und für das darauffolgende Phosphoramidit verwendet. Drei Stränge **S11-S13** wurden synthetisiert, deren Schmelzpunktanalysen auf eine massive Destabilisierung der DNA durch die beiden Sondernukleotide hinwiesen. Anstelle eines Schmelzpunktes um  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , wie es für 5-Br-dU-haltige Stränge der Fall war, wurden Schmelzpunkte  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  darunter gemessen (Abbildung 64). Eine stabile Basenpaarung lässt sich

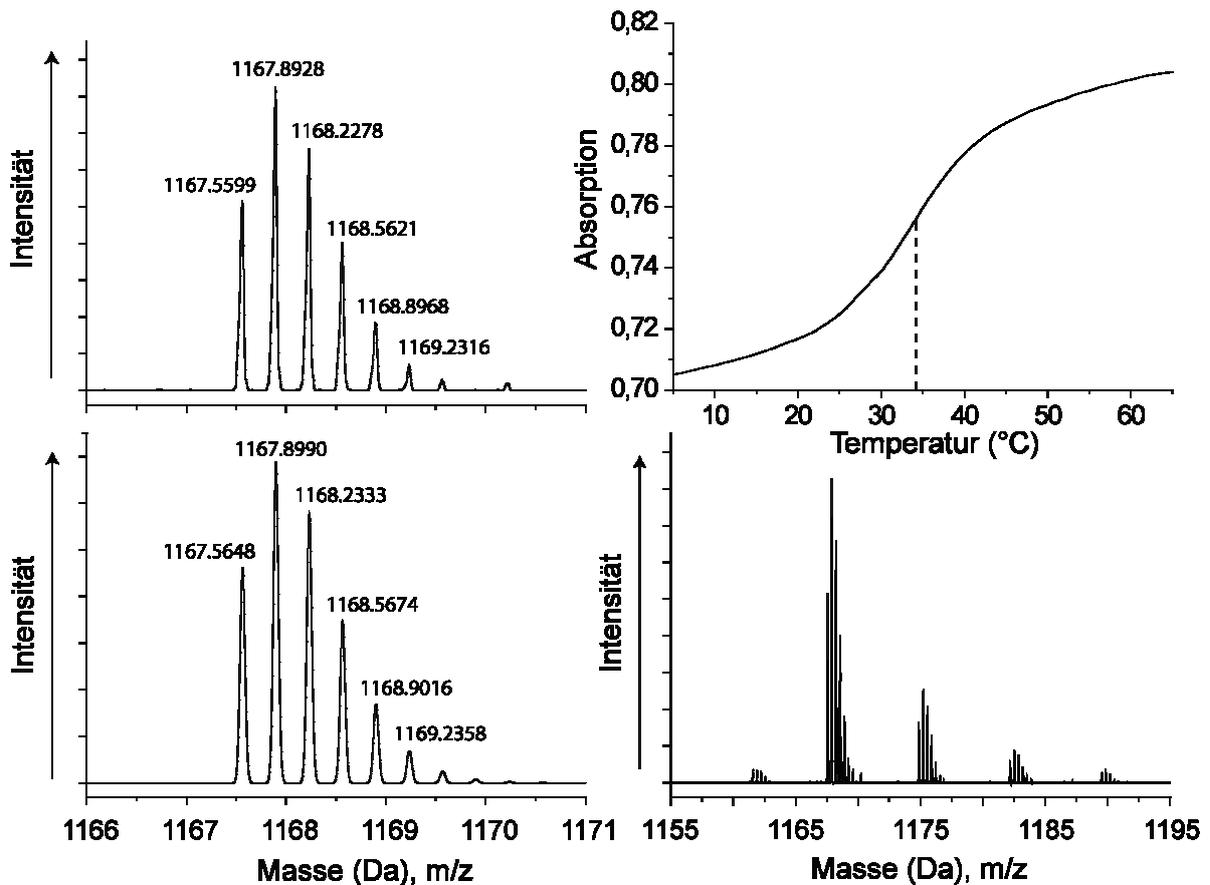
## 4. Ergebnisse & Diskussion

durch tiefe Temperaturen (10 °C) gewährleisten, doch kann die Elektronenübertragung von Nukleobase zu Nukleobase durch die gestörte DNA-Helix erschwert werden.<sup>[86-87, 300]</sup>

<b>S0</b>	5'-ATGTCAAAAACGCTA-3'	
<b>S11</b>	5'-GCGTT <sup>T</sup> DGAC-3'	34 °C
<b>S12</b>	5'-GCGT <sup>T</sup> DGAC-3'	31 °C
<b>S13</b>	5'-GCG <sup>T</sup> TTDGAC-3'	32 °C

**Abbildung 64.** DNA-Stränge **S11-S13** mit **Donor D** und dem Formacetal überbrückten **T=T-Dimer**. Die Schmelzpunkte der Stränge **S11-S13** mit Gegenstrang **S0** sind dahinter angegeben. Die Schmelzpunkte sind deutlich tiefer als diejenigen der 5-Br-dU-haltigen Stränge. Diese große Differenz kommt hauptsächlich durch den DNA Photoschaden zustande, bei dem die beiden Thymidin-Basen anstelle einer beinahe koplanaren Anordnung einen Winkel (tilt) von -18 ° zur DNA-Achse haben. Ausserdem wird durch den Cyclobutanring die für B-DNA typische Rotation pro Basenpaar (twist)<sup>[301]</sup> von ca. 35.9 ° auf 26.6 ° beschränkt.<sup>[302]</sup>

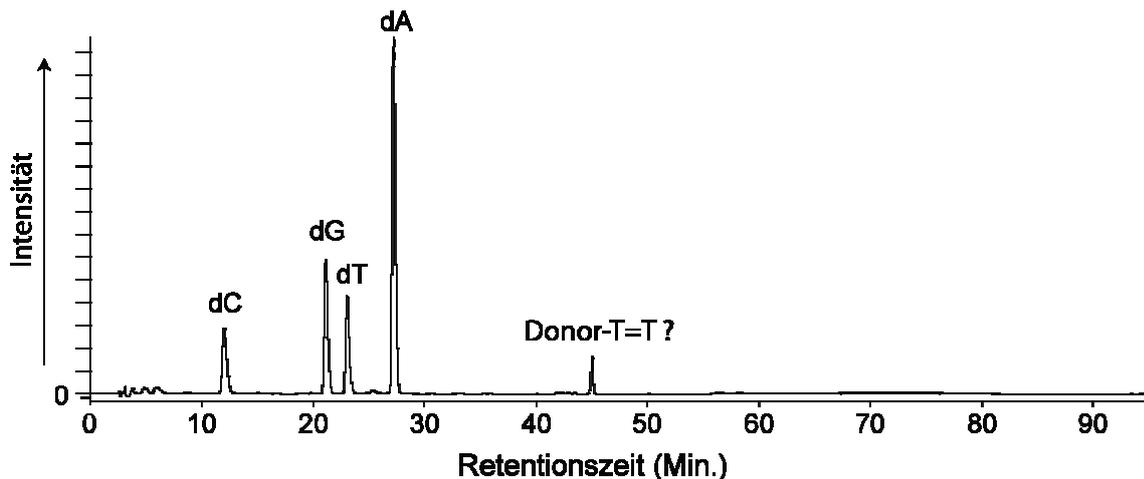
Für die Untersuchung des *Superexchange* Elektronentransfers sollte die leicht gestörte DNA-Geometrie aber nur einen kleinen Einfluss haben. Hochauflösende ESI-MS bestätigte die Identität der Stränge **S11-S13** (Abbildung 65).



**Abbildung 65.** Analytik des **S1** DNA-Strangs. O.l. Experimentelle ESI-Daten des dreifach geladenen Moleküls. U.l. Berechnetes Spektrum. U.r. Grosser Ausschnitt des Massenspektrums. O.r. Schmelzpunktanalyse.

Bei früheren Untersuchungen des Überschuss-Elektronen-Transfers in DNA in Kombination eines Ein-Elektronen-Donors mit dem CPD-Schaden wurde das T=T-Dimer mit offenem Rückgrat (ohne Formacetalbrücke) eingesetzt.<sup>[11]</sup> Dies erlaubte eine vereinfachte Analyse der Belichtung per HPLC, da durch die Dimeröffnung ein Strangbruch stattfand, und der neue Strang eine deutlich andere Retentionszeit besaß. Für die Beobachtung des Hydroxy/Keton-Verhältnisses wurde jedoch das Formacetal überbrückte Dimer verwendet, weshalb kein Strangbruch durch Dimeröffnung stattfinden konnte. Diese Eigenschaft sollte genutzt werden, um den reparierten Schaden über HPL-Chromatographie von den normalen Thyminen unterscheiden zu können.

Wie in den Belichtungen mit 5-Br-dU (Kapitel 3.7) sollten auch die DNA-Stränge **S0/S11-S13** durch enzymatische Hydrolyse analysiert werden. Allerdings erwies sich diese Methode, wie im Falle unbelichteter Stränge, als ungeeignet, da die Stränge sich nicht komplett hydrolysieren ließen (Verdau 3, Kapitel 5.2.3). Zum Beispiel ließ sich der Strang **S11**, bei dem Donor und T=T-Dimer direkt nebeneinander liegen, nicht komplett verdauen. Wahrscheinlich bildete sich das nicht verdaubare Dinukleotid, das leider sowohl im positiven als auch negativen Modus nicht gemessen werden konnte (Abbildung 66).



**Abbildung 66.** HPLC-MS des verdauten **S11** Strangs. Bei dem Signal bei einer Retentionszeit von ca. 45 Minuten handelt es sich höchstwahrscheinlich um das T=T-Dimer, das mit dem Donor noch kovalent verbunden ist. Die Massenanalyse konnte aber sowohl im negativen als auch positiven Modus das Addukt nicht nachweisen.

In den Experimenten mit belichteten Strängen war in der Massenspur zwar  $\beta$ -Ketoamid **29** vorzufinden, aber kein  $\beta$ -Hydroxyamid **30**. In der UV-Spur war keines von beiden zu sehen, was auf nur kleine Mengen dieser hydrolysierten Nukleoside hindeutete. Womöglich waren die Zersetzungsprodukte des Donors mit der P1 und S1 Nukleasenkombination nur sehr schwer zu hydrolysieren, oder sie wurden durch diese Enzymkombination zersetzt. Da die BAL-31 und Phosphodiesterase I sich für den Verdau der 5-Br-dU-enthaltenden Stränge **S1-S4** als geeignet erwiesen hatten, wurden die Enzyme zusammen mit P1 und S1 getestet. Doch auch in diesem Fall wurden nur Spuren der Zersetzungsprodukte des Donors vorgefunden. Trotz Optimierungsversuchen mit verschiedenen Enzymkonstellationen konnten keine Bedingungen gefunden werden, die nicht zu einer Zersetzung der

Donorderivate oder zu ungenügender Hydrolyse führten. Trotz der erfolgreichen Bestimmung des Elektronentransfermechanismus für DNA-Stränge mit 5-Br-dU, konnte keine ähnliche Untersuchung für Stränge mit dem T=T-Dimer durchgeführt werden. Für die Bestimmung des Transfermechanismus mit dem T=T-Dimer zusätzlich zu den Untersuchungen mit 5-Br-dU muss daher ein neues System entwickelt werden, das möglichst auf der Quantifizierung der CPD-Spaltung basiert.

### 4.1 Resultate und Ausblick

Anstelle von 5-Br-dU als Detektor-Nukleosid wurde der CPD-Photoschaden in die DNA-Stränge eingebaut, um mögliche Unterschiede in den Transfermechanismen in Abhängigkeit dieser beiden Akzeptoren vorzufinden. Dabei wurde nicht das natürliche Derivat, sondern das Formacetal-überbrückte verwendet, was laut Schmelzpunktanalysen zu einer deutlichen Destabilisierung der DNA führte.

Über das Verhältnis von  $\beta$ -Keto-amid **29** zu  $\beta$ -Hydroxy-amid **30** sollte die Menge an direktem Transfer ermittelt werden, allerdings wurde die Analyse durch unvollständige enzymatische Hydrolyse erschwert. Analyse des Mechanismus ist demnach auf diese Weise nicht möglich, weshalb eine andere Möglichkeit gefunden werden muss, den Transfermechanismus aufzuklären.

Zum Beispiel würde die Verwendung eines T=T-Dimers mit offenem Rückgrat bei dessen Spaltung zur Bildung von deutlich kürzeren DNA-Strängen führen. Diese ließen sich anstatt per Verdau über direkte HPL-Chromatographie analysieren. Durch Quantifizierung des Spaltungsausbeutes wäre eine Bestimmung des  $\beta$ -Wertes, wie sie in dieser Arbeit für die 5-Br-dU enthaltenden Stränge durchgeführt worden ist, ebenfalls möglich.

Zudem scheint angesichts der destabilisierten Stränge das Haarnadeldesign, wie es im Ausblick von Kapitel 3.9 vorgeschlagen wurde, auch hier angebracht zu sein.

Gerade bei DNA-Schäden sind mechanistische Untersuchungen hochinteressant, da aus solchen Systemen, wie sie in dieser Arbeit entwickelt wurden, neue Hinweise auf die Effizienz des Überschuss-Elektronentransfers und dessen mögliche Rolle in der Natur z.B. DNA-Schadensreparatur gewonnen werden können.

## 5. Experimenteller Teil

### 5.1 Material und Methoden

**Dünnschichtchromatogramme** wurden auf Aluminium-Fertigplatten *Kieselgel-60 F<sub>254</sub>* der Firma *Merck* angefertigt. Die Substanzen wurden unter UV-Licht (254 nm) oder durch Anfärben mit verschiedenen Tauchreagenzien detektiert. Verwendete Färbereagenzien: Anisaldehyd-Lsg. (0.5 mL Anisaldehyd in 50 mL Eisessig und 1 mL Schwefelsäure, Platte erhitzen), Cermolybdat-Lsg. (120 g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot\text{H}_2\text{O}$  und 5 g  $\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$  in 800 mL 10%-ige  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Platte erhitzen), 0.5%-ige  $\text{KMnO}_4$ -Lsg. in 1 M NaOH, Bromcresol-Lsg. (0.1 g Bromcresol, 500 mL EtOH, 5 mL 0.1 M NaOH-Lsg.), Ninhydrin-Lsg. (1.5 g Ninhydrin, 100 mL *n*-Butanol, 3 mL Eisessig, Platte erhitzen).

**Säulenchromatographie** wurde nach der Flash-Methode durchgeführt. Es wurde Kieselgel 60 (Korngröße 0.040-0.063 mm) der Firma Merck verwendet. Die Elution erfolgte bei Raumtemperatur unter Verwendung eines  $\text{N}_2$ -Überdruckes. Das verwendete Lösungsmittelgemisch ist jeweils in Volumenanteilen angegeben.

**Schmelzpunkte** wurden auf einer Büchi B-540-Schmelzpunktapparatur gemessen und sind nicht korrigiert.

**Kernresonanzspektren (NMR)** wurden bei Raumtemperatur auf den Geräten *Varian VNMRS 300*, *Varian INOVA 400*, *Varian VNMRS 600* und *Varian Oxford 200* aufgenommen. Bei den höherfrequenten Spektrometern erfolgte die Messung durch die NMR-Abteilung des Departments für Chemie und Biochemie, Ludwig-Maximilians-Universität München. Die Messfrequenz in MHz sowie das Lösungsmittel sind jeweils in Klammern vermerkt. Die chemische Verschiebung  $\delta$  ist in ppm relativ zu TMS und die Kopplungskonstante  $J$  in Hz angegeben. Die Signalmultiplizitäten wurden mit den Symbolen *s* (Singulett), *d* (Dublett), *t* (Triplet), *q* (Quadruplett), *m* (Multiplet) sowie ggf. deren Kombination gekennzeichnet.

**Massenspektren (MS)** wurden durch die MS-Abteilung des Departments Chemie und Biochemie, Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. ESI-Massenspektren wurden mit einem *Finnegan LTQ-FT* FT-ICR-Spektrometer mit ESI-Quelle gemessen. LC-MS-Messungen von Nukleosidverdauen wurden auf einem *Thermo-Finnegan LTQ* FT-ICR Spektrometer mit einer Surveyor MS-Pumpe und einer Uptisphere 120-3HDO Säule von *Interchim* durchgeführt. MALDI-TOF-Massenspektren wurden auf einem *Bruker Autoflex II* bei einer Beschleunigungsspannung von 19 kV im Reflektormodus gemessen (Matrix: 6-Aza-2-thiothymin (gesättigt in Wasser/Acetonitril 1:1) für Kleinmoleküle oder 3-Hydroxypicolinsäure (7 mg in 100  $\mu\text{L}$  Wasser/Acetonitril 1:1) für Oligonukleotide). Die wichtigsten Signale werden in *m/z*-Einheiten angegeben. Die Zuordnung ist in Klammern angemerkt.

**Infrarot-Spektren (IR)** wurden auf einem *Perkin-Elmer FT-IR Spectrum 100*-Spektrometer, welches mit einer ATR-Einheit (Totalreflexionsverfahren) ausgestattet war, aufgenommen. Die relativen Intensitäten sind mit den Symbolen *s* (stark), *m* (mittel), *w* (schwach), *br* (breit) gekennzeichnet.

**HPL-Chromatographie** wurde auf mehreren *Merck-Hitachi*- bzw. *Waters*-Anlagen durchgeführt. Die Komponenten waren im Einzelnen:

- *Merck*<sub>analytisch</sub>: *L-7000* Interface Modul, *L-7100* Pumpe, *L-7200* Autosampler, *L-7400* UV-Detektor, *L-7480* Fluoreszenzdetektor, *L-7612* Lösungsmittel-Entgaser, bzw. *L-7000* Interface Modul, *L-7100* Pumpe, *L-7200* Autosampler, *L-7420* UV/Vis-Detektor, *L-7612* Lösungsmittel-Entgaser;
- *Merck*<sub>präparativ</sub>: *L-1000* Interface Modul, *L-7150* Pumpe, *Rheodyne P/N 77 25i* Einspritzventil, *L-7420* UV-Detektor, *ERC-3415 a* Lösungsmittel-Entgaser;
- *Waters*<sub>analytisch</sub>: *2996 Diode Array Detector*, *2695 Separation Module*;
- *Waters*<sub>präparativ</sub>: *1525 HPLC Pump*, *2487 Dual Wavelength UV Detector*.

Alle eingesetzten Säulen waren von der Firma *Macherey-Nagel*. Zum Einsatz für analytische *rp*-Trennungen kamen hierbei die *VP 250/4 Nucleodur 100-3 C18 ec* und *CC 250/4 Nucleosil 120-3 C18* Säulen. Für analytische *np*-Trennungen wurden die *CC 250/4 Nucleosil 100-5* und *CC 250/4 Nucleosil 120-3* Säulen verwendet. Für präparative *rp*-Trennungen wurde eine *VP 250/10 Nucleosil 100-7 C18* Säule und für präparative *np*-Trennungen eine *VP 250/10 Nucleodur 100-5* und eine *VP 250/21 Nucleodur 100-5* Säule eingesetzt.

**Oligonukleotidsynthese** wurden auf einem *Expedite Nucleic Acid Synthesis System* der Firma *PerSeptive Biosystems* oder auf einem *Äkta oligopilot* der Firma *Amersham Biosciences* im 1  $\mu$ mol Maßstab durchgeführt. Die Ultramild<sup>®</sup>-Phosphoramidite und das CPG-Trägermaterial (mit Q-Linker) wurden von der Firma *Glen Research* bezogen. Phosphoramidite und Aktivoren wurden in Acetonitril der Firma *Riedel de Haen* oder *Sigma-Aldrich* (Wassergehalt  $\leq 0.1$  ppm) gelöst, für die übrigen Reagenzien wurde Acetonitril der Firma *Roth* (Wassergehalt  $\leq 0.3$  ppm) als Lösungsmittel verwendet. Die Synthese natürlicher Oligonukleotide erfolgte nach Standardprotokollen des Geräteherstellers, Stränge ohne Sonderbasen oder mit 5-Br-dU wurden bei der Firma *Metabion* bezogen.

**Schmelzpunkte von Oligonukleotiden** wurden mit einem *Varian Cary 100 Bio* oder mit einem *Jasco V-650* Photospectrometer (mit Temperaturcontroller, Transporteinheit und *MultiCellBlock*) aufgenommen. Der Temperaturgradient betrug 0.5 °C/min. Es wurden pro Messung mindestens 3 Abkühlkurven (65 °C  $\rightarrow$  0 °C) und 3 Aufheizkurven (0 °C  $\rightarrow$  65 °C) bei 260 nm und 340 nm

aufgenommen. Die Temperaturmessung erfolgte beim Gerät *Cary 100 Bio* der Firma *Varian* in einer Referenzküvette. Der Probenraum wurde während der Messung mit Stickstoff gespült, um ein Anlaufen der Küvette bei tiefen Temperaturen zu verhindern. Für die Messungen wurden Küvetten mit 4 mm Innendurchmesser und 10 mm Strahlendurchgang (Messvolumen 750 – 1000  $\mu\text{L}$ ) der Firma *Helma* verwendet. Für die Schmelzkurven wurden 1-3  $\mu\text{M}$  DNA-Duplexlösungen angesetzt, welche zusätzlich 150 mM NaCl und 10 mM Tris HCl (pH 7.4) enthielten. In den Küvetten wurden die Lösungen mit Dimethylpolysiloxan überschichtet, um ein Verdampfen der Probe zu verhindern. Die Auswertung der Messung erfolgte unter Verwendung von *Microcal Origin*. Hierzu wurden die erhaltenen Kurven bei 260 nm gemittelt und die gemittelte Hintergrundmessung bei 350 nm subtrahiert. Die so erzeugten Kurven wurden durch ein Polynom 9. Ordnung approximiert, das Maximum der 1. Ableitung der Näherungsfunktion stellt den gesuchten Schmelzpunkt dar.

**Lösungsmittel** und **Chemikalien** wurden, falls nicht anders erwähnt, in der kommerziell erhältlichen Qualität *puriss p.a.* oder *purum* eingesetzt und von den Firmen *Fluka*, *Aldrich*, *Acros*, *Merck*, *Lancaster* oder *Sigma* bezogen. Bidestilliertes Wasser wurde mit einer *Milli-Q Plus* Anlage der Firma *Millipore* erzeugt. Trockene Lösungsmittel wurden von den Firmen *Fluka*, *Acros* oder *Aldrich* bezogen. Lösungsmittel für Extraktionen und Säulenchromatographie waren von technischer Qualität und wurden vor der Verwendung destilliert. Das Einengen von Lösungsmittel *in vacuo* wurde in einem Rotationsverdampfer der Firma *Heidolph* im Membranpumpenvakuum (*Vario PC2001*-Membranpumpenstand der Firma *Vacuubrand*) durchgeführt. Zur Feintrocknung *in vacuo* wurde in eine Ölvakuumpumpe *RZ-2.5* der Firma *Vacuubrand* verwendet. Kleinere Mengen an wässrigen oder acetonitrilhaltigen Lösungen wurden mit einer *SpeedVac Plus SC110A*, *SpeedVac SPD 111V* der Firma *Savant* bzw. einer *RVC 2-25* mit *2-50* oder *2-50SR* Kompressorkühlfallen der Firma *Christ* entfernt. Zur Lyophilisierung wässriger Lösungen wurde ein *Alpha 2-4 LDplus* Lyophilisator der Firma *Christ* verwendet.

**Belichtungsexperimente** wurden auf mit einer 1000 W Xe/Hg-Mitteldruckbogenlampe der Firma *Thermo-Oriel* mit einer Strahlendichte von ca. 15 mW/cm<sup>2</sup> bei 360 nm Wellenlänge durchgeführt. Die Apparatur bestand aus einem Rückreflektor und F/1 UV Quarzkondensator, einem Wasserfilter mit externer Kühlung (10 °C, Länge: 96 mm, Apertur: 48 mm), einem dichroitischen Spiegel (280-400 nm) und einer Plankonvexlinse (Durchmesser: 50.8 mm, Brennweite 175.0 mm, Mittendicke: 6.4 mm). Um DNA-Schäden und eine Debromierung von 5-Br-dU durch UV-Licht zu vermeiden, wurde ein Filter (C3C17, 4.5 x 4.5 mm, Dicke: 3 mm, Produkt der Sowjet-,Firma“ *Mashpriborintorg*) verwendet, der durch aktive Wasserkühlung auf 10 °C temperiert wurde. Ebenso wurde der Küvettenhalter für die Probe auf 10 °C gekühlt (*Tabelle 10*).

$\lambda$ in nm	280	290	300	310	320	330	340	350	360	370	380
k ( $\lambda$ )	6	3.7	2.20	1.03	0.47	0.21	0.096	0.047	0.026	0.018	0.016
$\lambda$ in nm	390	400	410	420	430	440	450	460	470	480	490
k ( $\lambda$ )	0.011	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.010	0.009	0.008	0.009
$\lambda$ in nm	500	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
k ( $\lambda$ )	0.010	0.011	0.014	0.018	0.023	0.029	0.037	0.046	0.055	0.066	0.077
$\lambda$ in nm	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700	710
k ( $\lambda$ )	0.089	0.101	0.113	0.125	0.136	0.147	0.158	0.168	0.177	0.186	0.190
$\lambda$ in nm	720	730	740	750	760	780	800	820	840	860	880
k ( $\lambda$ )	0.20	0.20	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.20	0.190	0.180	0.175

**Tabelle 10.** Absorptionskoeffizienten  $k(\lambda)$  des C3C17-Filters. Die externe nominale Transmission  $T'(\lambda)$  lässt sich aus dem wellenlängenabhängigen Absorptionskoeffizienten  $k(\lambda)$  und der Filterdicke  $z$  (in mm) berechnen, wobei die Korrekturfunktion  $f(\lambda)$  laut Hersteller in guter Näherung mit 0.9 als konstant angesehen werden kann:  $T'(\lambda) = f(\lambda) * 10^{-k(\lambda)*z}$

**Kapillarelektrophorese** wurde mit einem P/ACE™ MDQ DNA System der Firma *Beckmann-Coulter* durchgeführt. Es wurden mit Polyacrylamid beschichtete Silica-kapillaren verwendet (Länge bis zum Detektorfenster 20 cm, Gesamtlänge: 30 cm, lineares 6%-iges Polyacrylamid als stationäre Phase, denaturierender Tris-Borat-EDTA-Puffer: TBE, 0.1 M TrisBorat, 1 mM EDTA mit 7 M Harnstoff). Die Proben wurden elektrokinetisch injiziert (10 kV, 1 - 8 s) und durch eine Trennungsspannung ca. 9 kV bei ca. 50 Min getrennt. Detektion erfolgte bei 254 nm Wellenlänge. Proben wurden vor der Injektion mittels SepPak® entsalzt, lyophilisiert und in ca. 100  $\mu$ L bidest. Wasser gelöst (Konz. 0.1 – 1  $\mu$ M).

**UV/Vis-Spektren** wurden mit einem *Varian Cary 100 Bio* oder mit einem *Jasco V-650* Photospektrometer (mit Temperaturcontroller, Transporteinheit und *MultiCellBlock*) aufgenommen. Die Bestimmung der DNA-Absorption/Konzentration wurde mit einem ND-1000 Photospektrometer der Firma *Nanodrop* durchgeführt. Die zur Berechnung der DNA-Konzentration notwendigen Extinktionskoeffizienten der Nukleoside wurden entweder aus der Literatur übernommen oder durch lineare Regression (Absorption versus verschiedene Nukleosid-Konzentrationen) bestimmt. Für die Bestimmung wurden mindestens 5 verschiedene Konzentrationen hergestellt.

Die **Nomenklatur** erfolgte im Wesentlichen den Vorschlägen des Computerprogramms Chemdraw® 12.0 von *CambridgeSoft*. Die Nummerierung der Atome in den Abbildungen wurde willkürlich festgelegt, um Zuordnungen der <sup>1</sup>H-NMR-Signale zu ermöglichen.

**Röntgenkristallstrukturanalysen** wurden an einem IPDS/CCD-Gerät der Firma *Stoe* durchgeführt.

## 5.2 Synthese, Aufreinigung und Verdau der Oligonukleotide

### 5.2.1 Synthese

Für die DNA-Synthese wurde als DNA-Trägermaterial *controlled pore glas* (CPG) verwendet, an das das erste Nukleosid über einen Hydroquinon-diessigsäureester-Linker (Q-Linker) bereits gekuppelt war. Ausserdem wurden nur Phosphoramidite verwendet, deren Schutzgruppen ultramild entfernt werden konnten. *Ultramild* CE Phosphoramidite und beladene CPG-Träger wurden mit folgenden Schutzgruppen eingesetzt:

- dC: *N*-Acetyl (Ac-dC)
- dA: *N*-Phenoxyacetyl (Pac-dA)
- dG: *N*-*i*Propylphenoxyacetyl (*i*Pr-Pac-dG)
- dT: ohne Schutzgruppe

Die Phosphoramidite wurden 0.1 M in Acetonitril gelöst und über 3 Å Molsieb am Gerät trocken gehalten. Syntheseansätze wurden im 1 µmol Massstab durchgeführt. Folgende Reagenzien wurden für Kupplung, Capping, Oxidation und DMT-Entschützung eingesetzt:

- DMT-Abspaltung: 3% Dichloressigsäure in Toluol
- Capping A: 0.5 M Phenoxyessigsäureanhydrid in Acetonitril:Lutidin (9:1)
- Capping B: 16% *N*-Methylimidazol in Acetonitril
- Oxidation: 0.025 M Iod in 2,6-Lutidin:Acetonitril:Wasser (6:65:30)
- Phosphoramidit-Aktivierung: 0.25 M 5-Benzylthiotetrazol (BTT) in Acetonitril

Die Kupplungszeit für Standardbasen betrug 96 s während für 5-Br-dU, für das Donor-Nukleosid und für das darauffolgenden Nukleosid die Zeit auf 10 min erhöht wurde.

### 5.2.2 Aufreinigung

Nach Abschluss der Synthese wurden die CPG Träger im Hochvakuum getrocknet und in 1.5 mL *Eppendorf tubes* überführt. Zur Abspaltung der DNA von der Festphase und zum Entfernen der Schutzgruppen wurde 1.25 mL einer Lösung aus K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in MeOH (0.05 M) zugegeben. Die Suspension wurde nach 4 Std. bei 25 °C in einer SpeedVac bei 50 °C auf ein Volumen von ca. 300 µL eingengt und mit 1 mL neutralem 1 N NEt<sub>3</sub>/HOAc Puffer verdünnt. Die Suspension wurde durch einen 13 mm Acrodisc® Spritzenfilter (*PALL Life sciences*, 0.2 µm GHP Membran (hydrophiles Propylen)) filtriert, wobei der Rückstand mehrfach mit dem Puffer extrahiert wurde. Das Filtrat wurde mittels analytischer HPLC untersucht, und ein passender Gradient für die Aufreinigung festgelegt. Dabei wurde meist ein sehr flacher Gradient angewendet, damit das Produkt über eine breite Zeitspanne hinweg eluiert wird. Das ermöglichte eine multiple Fraktionierung, die nötig war, um die

## 5. Experimentalteil

Diastereoisomere sauber aufzutrennen. Desweiteren ließ sich so hydrolysiertes Nebenprodukt abtrennen. Folgende Puffer und Gradienten wurden benutzt (Tabelle 11):

- Puffer A: 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  in  $\text{H}_2\text{O}$
- Puffer B: 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  in  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  (80/20)

Zeit (min)	Puffer A (%)	Puffer B (%)
0	100	0
65	75	25
68	0	100
73	0	100
76	100	0
80	100	0

**Tabelle 11.** HPLC-Gradient für die Aufreinigung der DNA-Stränge.

Jede Fraktion wurde mittels MALDI und analytischer HPLC auf Sauberkeit und Donor-Hydrolyse untersucht. Saubere Fraktionen wurden lyophilisiert und in bidest. Wasser angelöst.

In gleicher Art und Weise wurde mit „DMT-on“ Syntheseprodukten verfahren. Diese wurden jedoch zuerst mit einem steileren Gradienten grob aufgereinigt (Tabelle 12). Nach dieser ersten HPLC-Aufreinigung erfolgte eine nachträgliche DMT-Entschützung mittels TFA auf einer SepPak® Kartusche.

Die SepPak® Kartusche wurde hierbei mit 10 mL Acetonitril gewaschen und anschließend mit 10 mL Wasser konditioniert. Die DNA Probe wurde langsam auf die Kartusche aufgetragen und mit 6 mL Wasser gewaschen. Eine 1.5%-ige wässrige TFA-Lösung wurde langsam solange über die Kartusche gespritzt, bis keine Rotfärbung mehr sichtbar war (ca. 4 mL). Sofort wurde mit 5 mL an neutralem 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  Puffer nachgewaschen. Die entschützten Stränge wurden mit 4 mL  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  (2:8) eluiert, eingengt und erneut mit HPLC aufgereinigt.

Zeit (min)	Puffer A (%)	Puffer B (%)
0	100	0
45	55	45
48	0	100
53	0	100
56	100	0
60	100	0

**Tabelle 12.** HPLC-Gradient für die Aufreinigung der DNA-Stränge mit terminaler DMT-Schutzgruppe.

### 5.2.3 Enzymatischer Verdau der Oligonukleotide

In Abhängigkeit von der Salzkonzentration und den DNA-Modifikationen wurden drei Verdauvarianten angewendet. Bei allen Varianten wurde von einer DNA-Menge von 1-3  $\mu\text{mol}$  in 100  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$  (bzw. Pufferkonzentrat) ausgegangen. Varianten 1 und 3 wurden vor dem Verdau mittels SepPak® entsalzt und auf 100  $\mu\text{L}$  eingengt, während bei Variante 2 die Entsalzung weggelassen wurde. Die Entsalzung mittels SepPak® funktioniert wie im Abschnitt 4.2.2 beschrieben, ausser dass die Schritte, die die Verwendung der TFA-Lösung und des Puffers beinhalten, übersprungen wurden. Folgende Puffer und Enzyme wurden je nach Variante eingesetzt:

- S1 Nuklease (*Aspergillus oryzae*): Aldrich; Lieferbedingungen: 344 U/ $\mu\text{L}$ ,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , 20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 0.1 mM  $\text{ZnCl}_2$ , 50% Glycerin (v/v), pH 7.5; Zur Anwendung mit bidest.  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt auf 20 U/ $\mu\text{L}$ .
- P1 Nuklease (*Penicillium citrinum*): Aldrich; Lieferbedingungen: lyophilisiert,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ; Zur Anwendung bei einer Konzentration von 2.2 U/ $\mu\text{L}$  in  $\text{NH}_4\text{OAc}$  Puffer (30 mM, pH 5) gelöst.
- BAL-31 Nuklease (*Alteromonas espejana*): New England Biolabs; Lieferbedingungen: 1 U/ $\mu\text{L}$ ,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , 10 mM Tris-HCl, 600 mM NaCl, 1.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 1.5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.25 mM EDTA, 200  $\mu\text{g/ml}$  BSA, 50% Glycerin (v/v), pH 8.
- Phosphodiesterase I (*Crotalus adamanteus venom*): biomol; Lieferbedingungen: lyophilisiert,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ; Zur Anwendung bei einer Konzentration von 0.1 U/ $\mu\text{L}$  in Puffer (110 mM Tris-HCl, 110 mM NaCl, 15 mM  $\text{MgCl}_2$ , 50% Glycerin (v/v), pH 8.9) gelöst.
- Antarktische Phosphatase (*E. coli*): New England Biolabs; Lieferbedingungen: 5 U/ $\mu\text{L}$ ,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , 10 mM Tris-HCl, 1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 mM DTT, 50% Glycerin (v/v), pH 7.4.
- 10 $\times$  Puffer A: 300 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , 100 mM  $\text{CaCl}_2$ , 1 mM  $\text{ZnSO}_4$ , pH 5.7.
- 10 $\times$  Puffer B: 500 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0.
- 10 $\times$  Puffer C: 120 mM  $\text{CaCl}_2$ , 120 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM EDTA.

**Verdau-Variante 1:** 5-Br-dU und Donor enthaltende DNA-Stränge (entsalzt)

- a) 100  $\mu\text{L}$  DNA-Lösung, 10  $\mu\text{L}$  Puffer A, 10  $\mu\text{L}$  S1 Nuklease, 3 Std,  $37\text{ }^\circ\text{C}$ .
- b) 12  $\mu\text{L}$  Puffer B, 3  $\mu\text{L}$  Phosphodiesterase I, 10  $\mu\text{L}$  Antarktische Phosphatase, 3 Std.,  $37\text{ }^\circ\text{C}$ .

**Verdau-Variante 2:** 5-Br-dU und Donor enthaltende DNA-Stränge (hohe Salzkonzentration)

- a) 100  $\mu\text{L}$  DNA-Lösung (im Belichtungspufferkonzentrat: 1.5 M NaCl, 0.1 M Tris-HCl, pH 7.4), 10  $\mu\text{L}$  Puffer C, 5  $\mu\text{L}$  BAL-31 Nuklease, 10  $\mu\text{L}$  S1 Nuklease, 3 Std.,  $30\text{ }^\circ\text{C}$ .
- b) 12  $\mu\text{L}$  Puffer B, 5  $\mu\text{L}$  Antarktische Phosphatase, 0.3  $\mu\text{L}$  Phosphodiesterase I, 2 Std.,  $37\text{ }^\circ\text{C}$ .

**Verdau-Variante 3:** T=T Dimer (CPD Schaden) und Donor enthaltende DNA-Stränge (entsalzt)

- a) 100  $\mu\text{L}$  DNA-Lsg., 10  $\mu\text{L}$  Puffer A, 5  $\mu\text{L}$  P1 Nuklease, 10  $\mu\text{L}$  S1 Nuklease, 135 min,  $37\text{ }^\circ\text{C}$ .
- b) 12  $\mu\text{L}$  Puffer B, 5  $\mu\text{L}$  Antarktische Phosphatase, 0.3  $\mu\text{L}$  Phosphodiesterase I, 2 Std.,  $37\text{ }^\circ\text{C}$ .

### 5.3 Massenanalytische Quantifizierung von 5-Br-dU

#### 5.3.1 LC-ESI-MS

Jeweils 100  $\mu\text{L}$  der Nukleosidgemische (100  $\mu\text{L}$ ) wurden zur HPLC-MS-Analyse injiziert. Dabei wurde die *Surveyor MS* Pumpe auf einen Fluss von 150  $\mu\text{L}/\text{min}$  eingestellt, während die Uptisphere 120-3 HDO Säule bei einer Temperatur von 30 °C gehalten wurde. Die Elution wurde bei 260 nm beobachtet. Folgende Puffer und Gradienten wurden verwendet (Tabelle 13):

- Puffer A: 2 mM  $\text{HCOONH}_4$  in  $\text{H}_2\text{O}$  (pH 5.5)
- Puffer B: 2 mM  $\text{HCOONH}_4$  in  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$  20/80 (pH 5.5)

Zeit (min)	Puffer A (%)	Puffer B (%)
0	100	0
13	55	45
35	30	100
53	0	100
56	100	0
60	100	0

**Tabelle 13.** Gradient für die HPLC-MS-Analyse der verdauten DNA-Stränge.

Die Ionen wurde im positiven Modus in einem Bereich von 200-1000 D und bei höchster Auflösung ermittelt. Die Geräteparameter wurden mit frisch hergestellter Uridinlg. (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in Puffer A) optimiert: *sheath gas flow rate*: 25 arb, *auxiliary gas flow rate*: 5 arb, *sweep gas flow rate*: 5 arb, *spray voltage*: 4.5 kV, *capillary temperature*: 200 °C, *capillary voltage*: 47 V und *tube lens*: 115V.

#### 5.3.2 Kalibrierkurven

Jeder Probe wurden 2-3  $\mu\text{L}$  einer Lösung aus zweifach  $^{15}\text{N}$  markiertem 5-Br-dU zugegeben. (ca. 322  $\mu\text{M}$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Für die quantitative Bestimmung der 5-Br-dU-Mengen wurde zuvor mit dieser Stammlösung des  $^{15}\text{N}$ -markierten Nukleosids massenanalytische Kalibrationskurven durchgeführt.

	5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$				
A (5-Br-dU)	3:1	2:1	1:1	1:2	1:3
B (5-Br-dU)	3:1	2:1	1:1	1:2	1:3
C (5-Br-dU)	3:1	2:1	1:1	1:2	1:3

**Tabelle 14.** Mischverhältnisse für drei verschiedene 5-Br-dU-Lösungen (A, B, D) mit einer Lösung von 5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$ .

Dabei wurde die Stammlösung des isotonenmarkierten Nucleosids in 5 verschiedenen Stoffmengenverhältnissen (3:1, 2:1, 1:1, 1:2 und 1:3) mit jeweils einer von drei 5-Br-dU-Lösungen (jeweils 8-12 mg in 1000 mL) gemischt (Tabelle 14). Die Flächen des markierten und unmarkierten 5-Br-dU aus der LC-MS Messung wurden mit dem *Qual Browser 2.0 (Xcalibur®)* der *Thermo Electron Corporation* durch Extraktion der genauen Massen ( $[5\text{-Br-dU}+\text{H}]^+$ : 306.9874 - 306.9974 bzw.  $[5\text{-Br-dU-}^{15}\text{N}_2+\text{H}]^+$ : 310.9800 - 310.9900) aus dem *total ion current* bestimmt. Für jedes Stoffmengenverhältnis wurden damit drei Messwerte mit entsprechender Standardabweichung erhalten. Die lineare Regression an die fünf Stoffmengenkorrelationspunkte ergab einen  $R^2$ -Wert von 0.9975 (Abbildung 67).

Mit der Gleichung aus der linearen Regression konnte nun über die Fläche des isotonenmarkierten 5-Br-dU die genaue Menge an unmarkierten 5-Br-dU bestimmt werden.

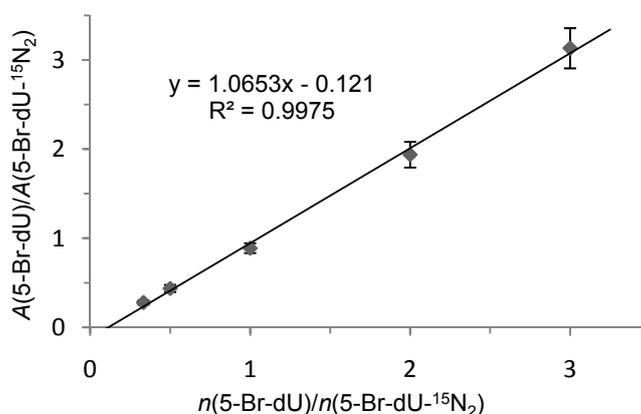
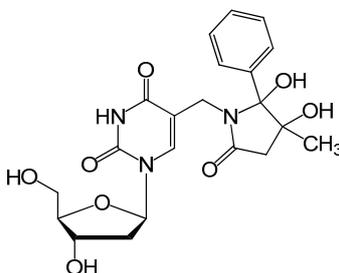


Abbildung 67. Lineare Regression an verschiedene Stoffmengenverhältnisse von 5-Br-dU zu 5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$ .

Wie in Kapitel 3.7 erläutert, wurde die Quantifizierung der Debromierung durch die Standardabweichungen erschwert. Eine Vielzahl von Messungen ermöglichte es jedoch, grobe Kriterien zur Detektion von „Ausreißern“ zu entwickeln. Eine Möglichkeit besteht darin, errechnete Flächen-Flächen-Verhältnisse von 5-Br-dU zu 5-Br-dU- $^{15}\text{N}_2$  mit den experimentellen zu vergleichen. Bei geringen Debromierungswerten waren Abweichungen innerhalb der Verhältnisse von über 25% unrealistisch und konnten ausgeschlossen werden. Ausserdem wurden deutlich vom optimalen 1:1 Verhältnis abweichende Werte nicht in die Auswertung miteinbezogen, da diese, wie in der Kalibrierung gezeigt wurde, grössere Fehler aufwiesen. Im Falle sehr geringer Debromierungswerte von 2 - 3% lässt sich argumentieren, dass mit den Standardabweichungen überhaupt keine Bromabspaltung stattgefunden haben könnte. Doch die HPLC-MS-Analyse zeigt jedoch Massensignale für 2'-Desoxyuridin. Diese waren zwar schwach, aber klar vorhanden.

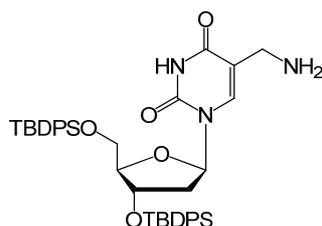
## 5.4 Synthesevorschriften

## 5-((2,3-Dihydroxy-3-methyl-5-oxo-2-phenylpyrrolidin-1-yl)methyl)-2'-desoxyuridin (2)



Das geschützte Nucleosid **19** (1.06 g, 1.1 mmol) wurde in 9.3 mL Pyridin gelöst und bei 0 °C mit HF•Pyridin (70% HF, 878 µL, 731 mg, 36.6 mmol) versehen. Nach 18 Std. bei 22 °C wurde die Reaktion durch Zugabe von Me<sub>3</sub>SiOMe (20 mL, 146 mmol) gestoppt. Nach einer weiteren Stunde wurde die Lösung *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 22:3). Ausbeute 489 mg (99%). Farbloser Feststoff. Die NMR Analyse 16 Std. nach der Produktisolierung zeigte 2 Diastereoisomere (A und B).

$R_f$  (Isomer B) = 0.29 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 22:3),  $R_f$  (Isomer A) = 0.24 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 22:3); Schmp.: 60-64 °C; IR: 3300 $m$ , 3061 $w$ , 2930 $w$ , 1672 $s$ , 1469 $m$ , 1448 $m$ , 1402 $m$ , 1340 $w$ , 1272 $s$ , 1196 $w$ , 1151 $w$ , 1094 $m$ , 1047 $s$ , 1022 $s$ , 999 $s$ , 931 $m$ , 856 $w$ , 821 $w$ , 759 $s$ , 733 $w$ , 701 $m$ , 640 $w$ ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : Isomer A: 0.85 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.09 (*ddd*,  $J = 13.55, 7.00, 6.31$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.21 (*ddd*,  $J = 13.66, 6.24, 3.58$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 2.47 (*d*,  $J = 16.97$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO)), 2.62 (*d*,  $J = 16.93$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO)), 3.71 (*dd*,  $J = 12.10, 4.33$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.77 (*dd*,  $J = 12.11, 3.74$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 3.89 (*dd*,  $J = 7.52, 3.80$  Hz, 1 H, H4'), 4.09 (*s*, 2 H, CH<sub>2</sub>N), 4.31-4.40 (*m*, 1 H, H3'), 6.17 (*t*,  $J = 6.67$  Hz, 1 H, H1'), 7.16-7.42 (*m*, 5 H, HC(arom., Phenyl)), 7.80 (*s*, 1 H, H6); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 21.60, 35.59, 39.80, 44.23, 61.64, 70.87, 75.91, 84.98, 87.52, 95.43, 109.31, 126.04, 128.04 (2 $\times$ ), 128.06 (2 $\times$ ), 139.26, 139.43, 150.43, 163.66, 173.58; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : Isomer B: 0.90 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.17 (*ddd*,  $J = 13.56, 7.09, 6.31$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.28 (*ddd*,  $J = 13.63, 6.20, 3.53$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 2.54 (*d*,  $J = 17.13$ , 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO)), 2.67 (*d*,  $J = 17.13$ , 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO)), 3.75 (*dd*,  $J = 12.26, 3.81$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.80 (*dd*,  $J = 12.22, 3.37$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 3.82 (*dd*,  $J = 15.95, 1.04$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N)), 3.93 (*dd*,  $J = 6.87, 3.45$  Hz, 1 H, H4'), 4.21 (*dd*,  $J = 15.99, 0.63$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N)), 4.37-4.42 (*m*, 1 H, H3'), 6.26 (*t*,  $J = 6.72$  Hz, 1 H, H1'), 7.25-7.46 (*m*, 5 H, HC(arom., Phenyl)), 7.79 (*s*, 1 H, H6); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 23.19, 37.62, 41.48, 45.64, 63.04, 72.44, 77.58, 86.66, 89.10, 97.41, 111.40, 127.70, 129.76 (2 $\times$ ), 129.82 (2 $\times$ ), 139.56, 140.38, 152.09, 165.17, 175.31; MS (ESI): berechnet für [C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>+H]<sup>+</sup>: 448.1714; gefunden 448.1722.

**5-Aminomethyl-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (7)**

Zu einer Lösung des Bromids **16** (4.21 g, 5.28 mmol) in 85 mL DMF wurde Hünig's Base (5 mL, 3.4 g, 26.4 mmol) gegeben. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit NH<sub>3</sub> gesättigt. Nach 18 Std. bei 22 °C wurde die Reaktion *in vacuo* eingengt und der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 15:1). Ausbeute 1.17 g (30%). Farbloser Feststoff.

$R_f = 0.34$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 15:1); Schmp.: 100-103 °C; IR: 3183<sub>w</sub>, 3069<sub>w</sub>, 2929<sub>m</sub>, 2855<sub>m</sub>, 1683<sub>s</sub>, 1588<sub>w</sub>, 1461<sub>m</sub>, 1426<sub>s</sub>, 1361<sub>m</sub>, 1272<sub>m</sub>, 1193<sub>m</sub>, 1104<sub>s</sub>, 1025<sub>m</sub>, 968<sub>m</sub>, 936<sub>w</sub>, 822<sub>m</sub>, 739<sub>s</sub>, 700<sub>s</sub>, 611<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.93 (s, 9 H, *t*Bu), 1.09 (s, 9 H, *t*Bu), 1.96 (*ddd*,  $J = 13.14, 9.08, 5.75$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.35 (*dd*,  $J = 13.08, 5.29$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 3.03 (*d*,  $J = 14.47$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)), 3.06 (*d*,  $J = 14.59$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>Br)), 3.33 (*dd*,  $J = 11.53, 2.51$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.75 (*dd*,  $J = 11.52, 2.27$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 4.01-4.03 (*m*, 1 H, H<sub>4</sub>'), 4.55 (*d*,  $J = 5.63$  Hz, 1 H, H<sub>3</sub>'), 6.51 (*dd*,  $J = 9.03, 5.27$  Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'), 7.28-7.65 (*m*, 21 H, HC(arom., TBDPS), H<sub>6</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 19.00, 19.33, 26.88 (3×), 26.89 (3×), 39.38, 41.28, 63.98, 73.96, 84.91, 87.83, 116.20, 127.88 (4×), 127.89 (2×), 127.94 (2×), 130.00 (2×), 130.04, 130.06, 132.15, 133.07, 133.09, 133.16, 135.10 (2×), 135.38 (2×), 135.65 (2×), 135.70 (2×), 135.71, 150.09, 163.12; MS (ESI): berechnet für [C<sub>42</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>: 734.3440; gefunden 734.3455.

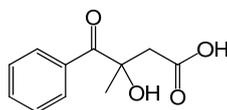
**3-Hydroxy-3-methyldihydrofuran-2(3H)-on (8)<sup>[216]</sup>**

Zu einer Eis-gekühlten Lösung aus NaHSO<sub>3</sub> (23.9 g, 225 mmol) in 45 mL H<sub>2</sub>O wurde langsam 4-Hydroxy-2-butanon (20 mL, 19.4 g, 232 mmol) getropft. Anschließend wurde langsam eine KCN-Lsg. (15.6 g, 240 mmol in 45 mL H<sub>2</sub>O) zugetropft, und das Eisbad entfernt. Nach 1 Std. bei 22 °C wurde erneut auf 0 °C gekühlt und konz. HCl (37%, 110 mL) sehr langsam zugetropft. Nach 16 Std. wurde die Lösung *in vacuo* eingengt. Das braune Öl wurde abfiltriert und in einem Flüssig-Flüssig-Extraktor (Perforator) 72 Std. mit Et<sub>2</sub>O extrahiert. Die zurückgebliebenen Kristalle wurde mit heissem Essigester (2 × 100 mL) gewaschen, der Essigester wurde mit dem Etherextrakt vereinigt und die vereinigten organischen Phasen *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde über NaOH im

Exsikator getrocknet und schließlich durch Destillation (20 mbar, 124 °C) gereinigt. Ausbeute: 16.2 g (63%). Farblose Kristalle.

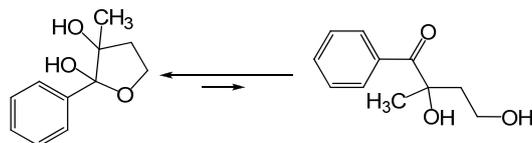
Schmp.: 20-22 °C. IR: 3415 $m$ , 2983 $w$ , 2929 $w$ , 1757 $s$ , 1380 $m$ , 1222 $s$ , 1200 $s$ , 1153 $s$ , 1091 $s$ , 1016 $s$ , 929 $m$ , 728 $m$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.41 ( $d$ ,  $J = 0.43$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 2.17 ( $ddd$ ,  $J = 13.05$ , 7.06, 4.76, Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 2.35 ( $dddd$ ,  $J = 13.07$ , 7.97, 7.60, 0.40 Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 3.57 (1 H, OH), 4.33 ( $ddd$ ,  $J = 9.17$ , 8.01, 4.76 Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 4.15 ( $ddd$ ,  $J = 9.17$ , 7.52, 7.08 Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 23.51, 36.82, 65.46, 72.26, 179.85; MS (EI): berechnet für  $[\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3]^+$ : 116.0468; gefunden 116.0468.

### 3-Hydroxy-3-methyl-4-oxo-4-phenylbutansäure (10)



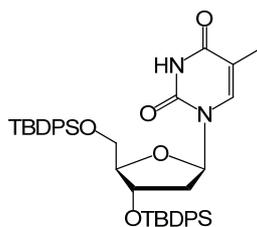
Eine Suspension aus **13** (1.5 g, 7.72 mmol) und TEMPO (84 mg, 0.54 mmol) in  $\text{CH}_3\text{CN}$  (40 mL) und 1 M Phosphat-Puffer (29 mL, pH 6.8) wurde auf 35 °C erhitzt. 20% der wässrigen  $\text{NaClO}_2$ -Lösung (80% (technisch), 1.75 g, 15.45 mmol in 7.8 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) gefolgt von 20% der wässrigen  $\text{NaOCl}$ -Lösung (13% in  $\text{H}_2\text{O}$ , 90  $\mu\text{L}$  in 3.81 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) wurden tropfenweise beigegeben. Die restlichen 80% der  $\text{NaClO}_2$ - and  $\text{NaOCl}$ -Lösungen wurden synchron während 2 Stunden zugetropft. Nach 29 Stunden bei 35 °C wurde die gelbe Lösung mit 60 mL Wasser verdünnt und der pH wurde mit 2 N  $\text{NaOH}$  auf 8 eingestellt. Eine auf 0 °C gekühlte wässrige  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (2.3 g in 40 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) Lösung wurde zugegeben und die Lösung wurde auf 22 °C aufwärmen gelassen. Nach einer Stunde wurde die Suspension mit TBME gewaschen und anschließend mit 2 N  $\text{HCl}$  auf pH 3 eingestellt. Die Suspension wurde mit TBME extrahiert, die organische Phase über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Ausbeute: 1.41 g (88%). Farblose Kristalle.

IR: 3417 $m$ , 3153 $m$ , 3065 $m$ , 2979 $m$ , 2937 $m$ , 1790 $w$ , 1705 $s$ , 1675 $s$ , 1597 $m$ , 1579 $w$ , 1447 $w$ , 1390 $m$ , 1370 $m$ , 1318 $w$ , 1279 $m$ , 1233 $s$ , 1198 $s$ , 1174 $s$ , 1125 $m$ , 1096 $m$ , 1070 $m$ , 1032 $w$ , 1002 $w$ , 980 $m$ , 950 $m$ , 926 $m$ , 864 $w$ , 844 $w$ , 795 $w$ , 774 $w$ , 717 $m$ , 692 $m$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.21 ( $s$ , 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 2.72 ( $d$ ,  $J = 17.06$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2)$ ), 3.31 ( $d$ ,  $J = 16.98$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2)$ ), 7.44-7.50 ( $m$ , 2 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, \text{meta})$ ), 7.55-7.65 ( $m$ , 1 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, \text{para})$ ), 8.18-8.21 ( $m$ , 2 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, \text{ortho})$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 26.53, 44.00, 78.40, 128.27 (2 $\times$ ), 128.45, 130.13 (2 $\times$ ), 132.93, 177.3, 202.6; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{-H}]^-$ : 207.0657; gefunden 207.0665.

**2,4-Dihydroxy-2-methyl-1-phenylbutan-1-on (13a) bzw.****3-Methyl-2-phenyltetrahydrofuran-2,3-diol (13) <sup>[214]</sup>**

Zu einer Suspension des Lactons **8** (2.5 g, 21.5 mmol) und *N,O*-Dimethyl-hydroxylamin-hydrochlorid (8.4 g, 86 mmol) in 10 mL THF wurde bei -20 °C *i*PrMgCl (2 M in Et<sub>2</sub>O, 86 mL, 172 mmol) gegeben. Die Suspension wurde über eine Stunde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen, wobei sich eine klare Lösung bildete. Die Lösung wurde erneut auf -40 °C gekühlt. Ph-Li (1.75 M in Bu<sub>2</sub>O, 45 mL, 86 mmol) wurde langsam zutropft. Nach 30 min bei -40 °C wurde die Reaktion auf 22 °C aufwärmen gelassen. Nach weiteren 2 Std. wurde die Reaktion durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. gequenchet. Ether wurde hinzugegeben und mehrfach mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde in Isohexan/AcOEt (7:3) suspendiert, filtriert und mit wenig Isohexan/AcOEt gewaschen. Ausbeute: 2.73 g (65%).

$R_f = 0.24$  (Isohexan:AcOEt 1:1); Schmp.: 126 – 129 °C; IR: 3340<sub>s</sub>, 3038<sub>w</sub>, 3012<sub>w</sub>, 2969<sub>m</sub>, 2948<sub>m</sub>, 1495<sub>w</sub>, 1482<sub>w</sub>, 1448<sub>m</sub>, 1438<sub>m</sub>, 1402<sub>m</sub>, 1388<sub>m</sub>, 1267<sub>m</sub>, 1214<sub>m</sub>, 1174<sub>m</sub>, 1123<sub>s</sub>, 1051<sub>s</sub>, 1033<sub>s</sub>, 1023<sub>s</sub>, 1016<sub>s</sub>, 984<sub>s</sub>, 945<sub>s</sub>, 915<sub>m</sub>, 881<sub>m</sub>, 761<sub>s</sub>, 703<sub>s</sub>, 668<sub>s</sub>, 616<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 1.18 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1.88 (*ddd*, *J* = 12.05, 7.36, 2.4 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)), 2.28 (*dt*, *J* = 12.03, 9.45 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)), 3.93 (*ddd*, *J* = 9.87, 7.62, 2.39 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>-O)), 4.06 (*dt*, *J* = 9.16, 7.48 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>-O)), 4.15 (*s*, 1 H, OH), 5.98 (*s*, 1 H, OH), 7.22-7.31 (*m*, 3 H, CH(*meta/para*)), 7.48-7.51 (*m*, 2 H, CH(*ortho*)). <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 21.66, 39.30, 64.37, 79.78, 106.92, 127.04 (2×), 127.46, 128.32 (2×), 141.56; MS (ESI): berechnet für [C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>+Cl]<sup>-</sup>: 229.0637; gefunden: 229.0636.

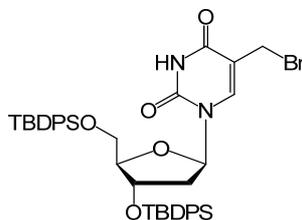
**5',3'-Bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-thymidin (15) <sup>[303]</sup>**

Zu einer Lösung aus Thymidin (5 g, 20.6 mmol) und Imidazol (6.2 g, 91 mmol) in 100 mL DMF wurde TBDPS-Cl (13.4 mL, 14.2 g, 51.5 mmol) zugespritzt. Nach 16 Std. bei 22 °C wurde die Lösung mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in*

*vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, *i*Hexan:AcOEt 4:1 → 3:1). Ausbeute 14.69 g (99%).

$R_f = 0.24$  (*i*Hexan:AcOEt 7:3); Schmp.: 84 – 87 °C; IR: 3183<sub>w</sub>, 3071<sub>w</sub>, 3048<sub>w</sub>, 2930<sub>m</sub>, 2857<sub>m</sub>, 1685<sub>s</sub>, 1589<sub>w</sub>, 1471<sub>m</sub>, 1427<sub>m</sub>, 1363<sub>m</sub>, 1274<sub>m</sub>, 1249<sub>w</sub>, 1199<sub>w</sub>, 1104<sub>s</sub>, 1030<sub>m</sub>, 968<sub>w</sub>, 914<sub>w</sub>, 887<sub>w</sub>, 822<sub>w</sub>, 805<sub>w</sub>, 771<sub>w</sub>, 739<sub>w</sub>, 700<sub>s</sub>, 608<sub>w</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.92 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.07 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.48 (*d*,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1.95 (*ddd*,  $J = 13.06, 9.08, 5.70$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.32 (*ddd*,  $J = 12.99, 5.3, 1.3$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 3.30 (*dd*,  $J = 11.57, 2.46$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.73 (*dd*,  $J = 11.55, 2.17$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 3.98 (*dd*,  $J = 3.92, 2.19$  Hz, 1 H, H<sub>4</sub>'), 4.54 (*d*,  $J = 5.6$  Hz, 1 H, H<sub>3</sub>'), 6.50 (*dd*,  $J = 9.1, 5.2$  Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'), 7.19-7.66 (*m*, 21 H, HC(arom., TBDPS), H<sub>6</sub>), 8.36 (*s*, 1 H, NH); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 11.83, 18.98, 19.27, 26.86 (6×), 41.26, 63.98, 73.95, 84.75, 87.75, 111.02, 127.84 (4×), 127.86 (2×), 127.88 (2×), 129.92, 129.96, 130.00 (2×), 132.13, 132.95, 133.09, 133.18, 135.12 (2×), 135.37, 135.40 (2×), 135.63 (2×), 135.68 (2×), 150.16, 163.50; MS (ESI): berechnet für [C<sub>42</sub>H<sub>50</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>: 719.3331; gefunden 719.3349.

### 5-Brommethyl-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (16)

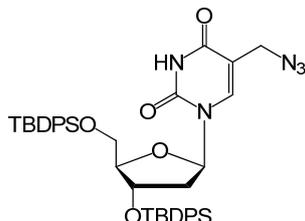


Zu einer heissen (~70 °C) Lösung des geschützten Thymidins **15** (8.06 g, 11.2 mmol) in 240 mL trockenem Benzol wurde zuerst NBS (2.40 g, 13.4 mmol) und anschließend AIBN (257 mg, 1.56 mmol) gegeben (Achtung: Schäumen!). Nach 3 Stunden unter Rückfluss wurde die Reaktionslösung *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 7:3). Ausbeute 4.21 g (47%, 59% bezogen auf 1.66 g rückisoliertes Edukt). Farbloser Feststoff.

$R_f = 0.41$  (Isohexan:AcOEt 7:3); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.95 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.09 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.96 (*ddd*,  $J = 13.21, 8.92, 5.69$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.41 (*dd*,  $J = 12.91, 5.25$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 3.33 (*dd*,  $J = 11.60, 2.42$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.58 (*d*,  $J = 10.60$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>Br)), 3.69 (*d*,  $J = 10.60$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>Br)), 3.76 (*dd*,  $J = 11.59, 2.22$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 4.02-4.03 (*m*, 1 H, H<sub>4</sub>'), 4.54-4.56 (*m*, 1 H, H<sub>3</sub>'), 6.48 (*dd*,  $J = 8.87, 5.27$  Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'), 7.29-7.64 (*m*, 20 H, CH(arom., TBDPS)), 7.73 (*s*, 1 H, H<sub>6</sub>), 8.58 (*s*, 1 H, NH); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 18.95, 19.34, 24.64, 26.87 (3×), 26.98 (3×), 41.72, 63.93, 73.95, 85.31, 88.04, 111.98, 127.91 (2×), 127.92 (2×), 128.01 (2×), 128.02 (2×), 130.05, 130.09, 130.11, 130.13, 131.89, 132.98, 133.09, 133.14, 135.08 (2×), 135.47 (2×), 135.63 (2×), 135.58

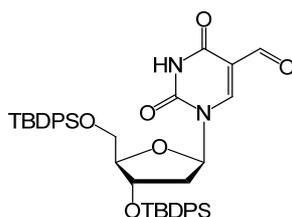
(2×), 138.72, 149.65, 161.22; MS (ESI): berechnet für  $[C_{42}H_{49}BrN_2O_5Si_2+H]^+$ : 797.2436; gefunden 797.2467.

### 5-Azidomethyl-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (17)



NBS (1.19 g, 6.68 mmol) und AIBN (128 mg, 0.78 mmol) wurden langsam zu einer heissen (~70 °C) Lösung des geschützten Thymidins **15** (4 g, 5.56 mmol) in 120 mL trockenem Benzol gegeben (Achtung: Schäumen!). Nach 3 Std. Erhitzen unter Rückfluss wurde das Lsgm. *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde in 120 mL DMF gelöst, und NaN<sub>3</sub> (1.81 g, 27.82 mmol) wurde zugegeben. Die Suspension wurde 16 Std. bei 22 °C gerührt, schließlich mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 7:3). Ausbeute 2.17 g (51%, 69% bezogen auf 900 mg rückisoliertes Edukt). Farbloser Feststoff.

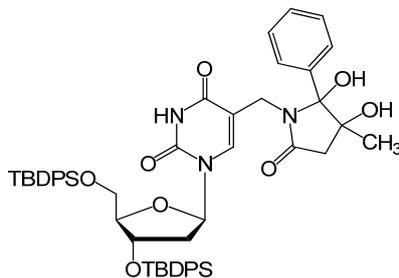
$R_f$  = 0.34 (Isohexan:AcOEt 7:3); Schmp.: 65 – 68 °C; IR: 3188 $w$ , 3069 $w$ , 2929 $w$ , 2856 $w$ , 2099 $m$ , 1683 $s$ , 1470 $m$ , 1427 $m$ , 1362 $w$ , 1271 $m$ , 1195 $w$ , 1104 $s$ , 1065 $m$ , 1026 $m$ , 968 $m$ , 891 $w$ , 822 $m$ , 740 $m$ , 700 $s$ , 606 $m$ ; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.94 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.09 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.95 (*ddd*,  $J$  = 13.15, 8.92, 5.70 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.41 (*ddd*,  $J$  = 12.97, 5.27, 1.16 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 3.34 (*dd*,  $J$  = 11.59, 2.46 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.53 (*d*,  $J$  = 13.72 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)), 3.56 (*d*,  $J$  = 13.75 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)), 3.75 (*dd*,  $J$  = 11.58, 2.31 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 4.03 (*d*,  $J$  = 1.78 Hz, 1 H, H<sub>4</sub>'), 4.54 (*d*,  $J$  = 5.61 Hz, 1 H, H<sub>3</sub>'), 6.49 (*dd*,  $J$  = 8.89, 5.28 Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'), 7.71-7.27 (*m*, 21 H, HC(arom., TBDPS), H<sub>6</sub>), 8.82 (*s*, 1 H, NH); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 19.00, 19.31, 26.88 (2×), 26.89, 26.91 (2×), 26.93, 41.57, 46.61, 63.94, 73.93, 85.25, 88.00, 109.64, 127.90 (2×), 127.92 (2×), 127.95 (2×), 127.97 (2×), 130.03, 130.05, 130.08, 130.09, 132.00, 133.00, 133.11 (2×), 135.08, 135.10, 135.41, 135.42, 135.64, 135.65, 135.69, 135.70, 138.57, 149.85, 162.38; MS (ESI): berechnet für  $[C_{42}H_{49}N_5O_5Si_2+H]^+$ : 760.3345; gefunden 760.3395.

**5-Formyl-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (18)**

Zu einer Lösung des geschützten Thymidins **15** (1 g, 1.39 mmol) in 8.5 mL CH<sub>3</sub>CN wurde Lutidin und eine Lösung von Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (913 mg, 2.78 mmol) und CuSO<sub>4</sub>×5H<sub>2</sub>O (139 mg, 0.56 mmol) in 1.75 mL H<sub>2</sub>O gegeben. Nach 2 Std. heftigem Rühren bei 65 °C (nach 90 min hatte sich die Suspension gelb gefärbt) wurde die Suspension filtriert, und der Rückstand wurde mit CH<sub>3</sub>CN gewaschen. Das Filtrat wurde mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub> → CHCl<sub>3</sub>:MeOH 98:2). Ausbeute 450 mg (44%). Farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.44 (Isohexan:AcOEt 6:4); Schmp.: 103 – 106 °C; IR: 3196<sub>w</sub>, 3069<sub>w</sub>, 2929<sub>m</sub>, 2856<sub>m</sub>, 1688<sub>s</sub>, 1598<sub>m</sub>, 1471<sub>m</sub>, 1427<sub>m</sub>, 1374<sub>m</sub>, 1274<sub>m</sub>, 1194<sub>w</sub>, 1112<sub>s</sub>, 1104<sub>s</sub>, 1026<sub>m</sub>, 1007<sub>w</sub>, 968<sub>m</sub>, 894<sub>w</sub>, 822<sub>m</sub>, 741<sub>m</sub>, 700<sub>s</sub>, 612<sub>w</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.90 (s, 9 H, *t*Bu), 1.07 (s, 9 H, *t*Bu), 2.00 (*ddd*,  $J$  = 13.37, 8.40, 5.4 Hz, 1 H, H<sub>a2'</sub>), 2.60 (*dd*,  $J$  = 12.93, 5.41 Hz, 1 H, H<sub>b2'</sub>), 3.29 (*dd*,  $J$  = 11.73, 2.88 Hz, 1 H, H<sub>a5'</sub>), 3.70 (*dd*,  $J$  = 11.74, 2.56 Hz, 1 H, H<sub>b5'</sub>), 4.05 (s, 1 H, H<sub>4'</sub>), 4.44 (*d*,  $J$  = 5.20 Hz, 1 H, H<sub>3'</sub>), 6.31 (*dd*,  $J$  = 8.38, 5.30 Hz, 1 H, H<sub>1'</sub>), 7.68–7.14 (*m*, 20 H, CH(arom., TBDPS)), 8.51 (s, 1 H, H<sub>6</sub>), 9.17 (s, 1 H, NH), 9.83 (s, 1 H, CHO); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 18.94, 19.09, 26.84 (3×), 26.86 (3×), 42.56, 63.84, 74.38, 87.66, 89.06, 110.83, 127.80 (2×), 127.81 (2×), 127.89 (2×), 127.90 (2×), 129.96, 129.98, 130.03, 130.06, 132.20, 132.29, 132.90, 133.01, 135.52 (2×), 135.54 (2×), 135.56 (2×), 135.64 (2×), 145.45, 149.12, 161.72, 185.24; MS (ESI): berechnet für [C<sub>42</sub>H<sub>48</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>: 733.3124; gefunden 733.3144.

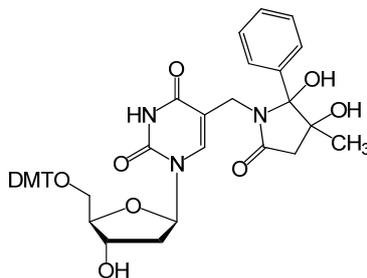
**5-((2,3-Dihydroxy-3-methyl-5-oxo-2-phenylpyrrolidin-1-yl)methyl)-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (19)**



Zu einer Lösung der Säure **10** (45 mg, 0.22 mmol) in 5 mL DMF wurde bei 0 °C Hünig's Base (41 µL, 31 mg, 0.24 mmol) und HBTU (90 mg, 0.24 mmol) gegeben. Nach 1 Std. bei 22 °C wurde das Amin **7** (164 mg, 0.22 mmol) zugegeben und die Lösung wurde auf 50 °C erhitzt. Nach 16 Std. bei 50 °C wurde die Reaktionslösung mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 7:3). Ausbeute 150 mg (73%). 2 Diastereoisomere (A und B).

$R_f$  = 0.22 (Isohexan:AcOEt 3:7); Schmp.: 108 – 111 °C; IR: 3369<sub>w</sub>, 3188<sub>w</sub>, 2929<sub>w</sub>, 2855<sub>w</sub>, 1693<sub>s</sub>, 1589<sub>w</sub>, 1471<sub>m</sub>, 1426<sub>m</sub>, 1391<sub>w</sub>, 1275<sub>m</sub>, 1193<sub>w</sub>, 1104<sub>s</sub>, 1026<sub>m</sub>, 998<sub>w</sub>, 969<sub>w</sub>, 933<sub>w</sub>, 855<sub>w</sub>, 822<sub>m</sub>, 794<sub>w</sub>, 757<sub>w</sub>, 740<sub>m</sub>, 700<sub>s</sub>, 610<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.87 (s, 9 H, *t*Bu), 0.88 (s, 6 H, CH<sub>3</sub>(A, B)), 0.98 (s, 9 H, *t*Bu), 1.09 (s, 9 H, *t*Bu), 1.10 (s, 9 H, *t*Bu), 2.09-1.93 (m, 2 H, H<sub>a</sub>2'(A, B)), 2.38 (d,  $J$  = 16.90 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A))), 2.40 (d,  $J$  = 16.93 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(B))), 2.45-2.39 (m, 1 H, H<sub>b</sub>2'(A)), 2.54 (dd,  $J$  = 13.08, 5.45 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'(B)), 2.57 (d,  $J$  = 16.78 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A))), 2.59 (d,  $J$  = 16.90 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(B))), 3.36 (d,  $J$  = 14.65 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(B))), 3.38 (dd,  $J$  = 11.39, 2.52 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'(B)), 3.44 (dd,  $J$  = 11.49, 4.59 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'(A)), 3.50 (d,  $J$  = 14.93, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N(B))), 3.57 (d,  $J$  = 15.06, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(A))), 3.60 (dd,  $J$  = 11.67, 3.60 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'(A)), 3.63 (d,  $J$  = 14.87 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N(A))), 3.88 (dd,  $J$  = 11.54, 2.49 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'(B)), 4.08 (dd,  $J$  = 5.22, 4.46 Hz, 1 H, H4'(A)), 4.13 (s, 1 H, H4'(B)), 4.50 (d,  $J$  = 5.74 Hz, 1 H, H3'(A)), 4.52 (d,  $J$  = 5.24 Hz, 1 H, H3'(B)), 6.38 (dd,  $J$  = 8.30, 5.45 Hz, 1 H, H1'(B)), 6.43 (s, 1 H, OH(B)), 6.49 (dd,  $J$  = 8.62, 5.54, 1 H, H1'(A)), 6.52 (s, 1 H, OH(A)), 7.66-7.13 (m, 50 H, HC(arom., TBDPS), HC(arom., Phenyl)), 7.68 (s, 1 H, H6(A)), 8.05 (s, 1 H, H6(B)), 9.75 (s, 1 H, NH(B)), 9.77 (s, 1 H, NH(A)); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 19.00, 19.05, 19.26, 19.27, 23.41, 23.59, 26.89 (3×), 26.90 (3×), 26.93 (3×), 26.97 (3×), 37.91, 37.95, 40.68, 42.39, 44.37 (2×), 63.97, 64.24, 73.46, 74.54, 76.26, 76.27, 85.04, 86.82, 87.96, 88.57, 94.74, 94.85, 108.08, 108.45, 127.74 (2×), 127.79 (4×), 127.86 (2×), 127.87 (2×), 127.89 (2×), 127.93 (2×), 128.04 (2×), 128.26 (4×), 128.31, 128.36, 128.39 (4×), 129.78, 129.79, 129.83, 129.95, 129.97, 130.01 (2×), 130.02, 132.10, 132.75, 132.99, 133.07, 133.09, 133.15, 133.19, 133.20, 135.28 (4×), 135.54 (2×), 135.60 (2×), 135.66 (2×), 135.68 (2×), 135.69 (2×), 135.72 (2×), 138.94, 138.96, 141.88, 142.15, 149.51, 149.74, 164.98, 165.05, 173.41, 173.44; MS (ESI): berechnet für [C<sub>53</sub>H<sub>61</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>: 924.4070; gefunden 924.4098.

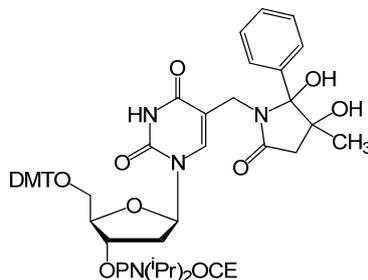
**5-((2,3-Dihydroxy-3-methyl-5-oxo-2-phenylpyrrolidin-1-yl)methyl)-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-desoxyuridin (22)**



Thymidinderivat **2** (349 mg, 0.78 mmol) wurde mit Pyridin dreimal co-evaporiert, schließlich in 4.5 mL Pyridin gelöst und mit 3 Å Molsieb versehen. DMT-OTf (706 mg, 1.56 mmol) wurde ebenfalls in 2.5 mL Pyridin gelöst und mit 3 Å Molsieb versehen. Nach 1 Std. wurden die beiden Lösungen vereinigt. Das Gemisch wurde nach 5.5 Std. mit wenig MeOH verdünnt und *in vacuo* bei 30 °C eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 24:1 + 1% Pyridin). Ausbeute 282 mg (53%). Farbloser Feststoff.

$R_f = 0.31$  (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 9:1); Schmp.: 125 – 128 °C; IR: 3414<sub>w</sub>, 3050<sub>w</sub>, 2924<sub>w</sub>, 2824<sub>w</sub>, 1677<sub>s</sub>, 1606<sub>m</sub>, 1507<sub>m</sub>, 1439<sub>m</sub>, 1404<sub>m</sub>, 1273<sub>m</sub>, 1247<sub>m</sub>, 1174<sub>m</sub>, 1058<sub>m</sub>, 1031<sub>m</sub>, 1000<sub>m</sub>, 932<sub>m</sub>, 827<sub>m</sub>, 790<sub>w</sub>, 754<sub>m</sub>, 701<sub>s</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.85 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>(B)), 0.87 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>(A)), 2.14-2.23 (*m*, 1 H, H<sub>a</sub>2'(B)), 2.29-2.36 (*m*, 1 H, H<sub>a</sub>2'(A)), 2.35-2.41 (*m*, 1 H, H<sub>b</sub>2'(A)), 2.40 (*d*,  $J = 17.04$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(B))), 2.41 (*d*,  $J = 16.70$ , 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A))), 2.46-2.48 (*m*, 1 H, H<sub>b</sub>2'(B)), 2.56 (*d*,  $J = 18.30$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(B))), 2.58 (*d*,  $J = 17.49$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A))), 3.36-3.48 (*m*, 6 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(B)), H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N(B)), H<sub>a</sub>5'(A, B), H<sub>b</sub>5'(A, B)), 3.53 (*d*,  $J = 14.83$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(A))), 3.63 (*d*,  $J = 14.82$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N(A))), 3.66 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>O(B)), 3.67 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>O(B)), 3.70 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>O(A)), 3.71 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>O(A)), 4.00-4.04 (*m*, 1 H, H4'(A)), 4.09-4.12 (*m*, 1 H, H4'(B)), 4.42-4.46 (*m*, 1 H, H3'(A)), 4.54-4.58 (*m*, 1 H, H3'(B)), 6.12 (*t*,  $J = 6.12$  Hz, 1 H, H1'(B)), 6.35 (*t*,  $J = 6.27$  Hz, 1 H, H1'(A)), 6.70-6.83 (*m*, 8 H, HC(arom., DMT)), 7.01-7.49 (*m*, 28 H, HC(arom., DMT), HC(arom., Phenyl)), 7.78 (*s*, 1 H, H6(A)), 8.01 (*s*, 1 H, H6(B)); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 23.09, 23.45, 37.63, 38.00, 40.51, 41.38, 44.37, 44.54, 55.13 (2×), 55.15 (2×), 63.50, 63.76, 70.88, 71.82, 76.33, 76.36, 84.43, 85.70, 86.37, 86.47, 86.59, 86.81, 95.01, 95.10, 108.43, 108.54, 113.20 (4×), 113.23 (2×), 113.24 (2×), 126.85, 126.94, 127.90 (4×), 127.92 (4×), 128.24 (4×), 128.29 (4×), 128.32, 128.38, 130.12 (2×), 130.15 (4×), 130.22 (2×), 135.48, 135.57, 135.80 (2×), 138.73, 138.92, 141.36, 142.20, 144.45, 144.61, 149.95, 150.03, 158.45 (2×), 158.52 (2×), 164.73, 164.99, 173.60, 173.87; MS (ESI): berechnet für [C<sub>42</sub>H<sub>44</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>-H]<sup>-</sup>: 748.2876; gefunden 748.2875.

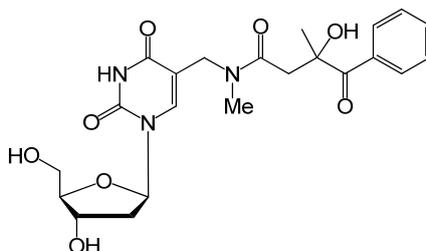
**5-((2,3-Dihydroxy-3-methyl-5-oxo-2-phenylpyrrolidin-1-yl)methyl)-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3'-O-(2-cyanoethoxydiisopropylaminophosphino)-2'-desoxyuridin (23)**



Das DMT-geschützte Nukleosid **22** (73 mg, 97  $\mu\text{mol}$ ) wurde zwei Mal mit trockenem Pyridin co-evaporiert und anschließend in 1.5 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt, und Isopropylammoniumtetrazolid (20 mg, 117  $\mu\text{mol}$ ) und Cyanoethylphosphordiamidit (37  $\mu\text{L}$ , 117  $\mu\text{mol}$ ) wurden zugegeben. Nach 5 Std. bei Raumtemperatur wurde erneut Cyanoethylphosphordiamidit (37  $\mu\text{L}$ , 117  $\mu\text{mol}$ ) zugegeben. Nach einer weiteren Std. wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, und der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 9:1 + 1% Pyridin). Das Produkt wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mit *i*Hexan ausgefällt. Ausbeute: 61 mg (67%). Farbloser Feststoff.

$R_f = 0.56$  ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH 9:1);  $^{31}\text{P}$ -NMR (81 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 149.56, 150.05, 150.25, 150.32.

**5-((3-Hydroxy-N,3-dimethyl-4-oxo-4-phenylbutanamido)methyl)-2'-desoxyuridin (24)**

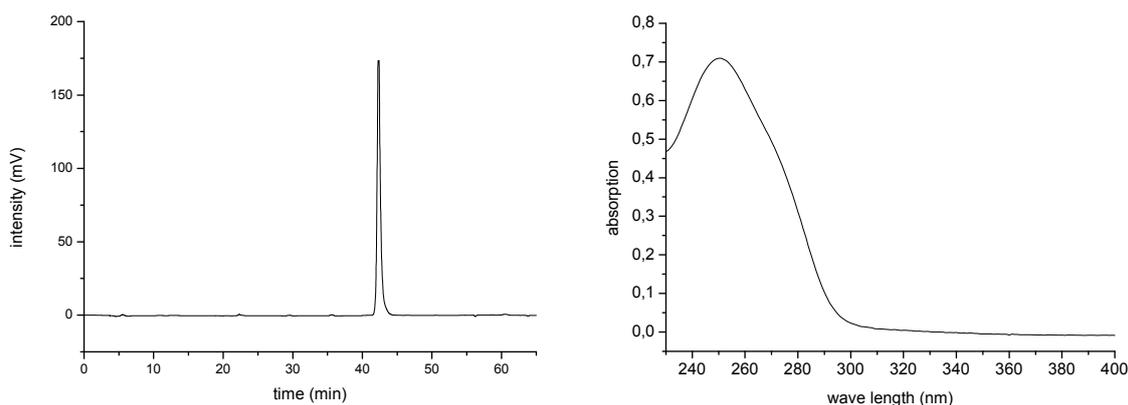


**25** (698 mg, 0.74 mmol) wurde in Pyridin (6 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. HF·Pyridin (70% HF, 22.2 mmol, 533  $\mu\text{L}$ ) wurde tropfenweise zugegeben. Die Reaktion wurde für 18 Std. bei 22 °C gerührt und schließlich mit  $\text{Me}_3\text{SiOMe}$  (10.2 mL, 74 mmol) gestoppt. Nach 30 min wurden die Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH, 22:3). Ausbeute: 335 mg (98%). Farbloser Schaum. Vier Diastereoisomere im Verhältnis ~18:18:32:32. Die Reinheit wurde zusätzlich mithilfe von HPLC überprüft (Abbildung 68).

$R_f = 0.26$  ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH 9:1); Schmp.: 60 – 64 °C; IR: 3411 $m$ , 3062 $w$ , 2934 $w$ , 1670 $s$ , 1615 $s$ , 1467 $m$ , 1400 $m$ , 1313 $w$ , 1274 $m$ , 1218 $m$ , 1174 $w$ , 1092 $m$ , 1051 $m$ , 1001 $w$ , 981 $w$ , 920 $w$ , 870 $w$ , 822 $w$ , 794 $w$ , 719 $w$ , 690 $w$ ;  $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.50 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{B})$ ), 1.51 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{A})$ ), 1.52 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{D})$ ), 1.53 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{C})$ ), 2.04-2.35 (*m*, 8 H,  $\text{H}_2'(\text{A, B, C, D})$ ), 2.47-2.50 (*m*, 2 H,

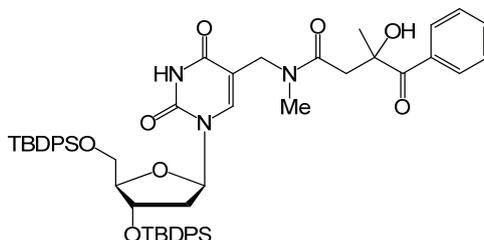
## 5. Experimentalteil

$H_a(CH_2CO(C, D))$ , 2.53-2.58 (*m*, 2 H,  $H_a(CH_2CO(A, B))$ ) 2.82 (*s*, 3 H,  $CH_3N(B)$ ), 2.833 (*s*, 3 H,  $CH_3N(A)$ ), 3.07 (*s*, 3 H,  $CH_3N(C)$ ), 3.08 (*s*, 3 H,  $CH_3N(D)$ ), 3.34-3.42 (*m*, 4 H,  $H_b(CH_2CO(A, B, C, D))$ ), 3.52-3.83 (*m*, 8 H,  $H_a5'(A, B, C, D)$ ,  $H_b5'(A, B, C, D)$ ), 3.87-3.91 (*m*, 2 H,  $H4'(C, D)$ ), 3.97-3.99 (*m*, 2 H,  $H4'(A, B)$ ), 4.06-4.32 (*m*, 9 H,  $H_a(CH_2N(A, B, C, D))$ ,  $H_b(CH_2N(A, B, C, D))$ ,  $H3'(D)$ ), 4.42-4.54 (*m*, 3 H,  $H3'(A, B, C)$ ), 6.16-6.20 (*m*, 2 H,  $H1'(C, D)$ ), 6.30 (*t*,  $J = 6.59$  Hz, 1 H,  $H1'(B)$ ), 6.39 (*t*,  $J = 6.40$  Hz, 1 H,  $H1'(A)$ ), 7.33-7.38 (*m*, 8 H,  $HC(Phenon, meta, A, B, C, D)$ ), 7.42-7.48 (*m*, 4 H,  $HC(Phenon, para, A, B, C, D)$ ), 7.81 (*s*, 1 H,  $H6(C)$ ), 7.83 (*s*, 1 H,  $H6(D)$ ), 7.85 (*s*, 1 H,  $H6(A)$ ), 7.92 (*s*, 1 H,  $H6(B)$ ), 8.14-8.16 (*m*, 8 H,  $HC(Phenon, ortho, A, B, C, D)$ ), 10.09 (*s*, 2 H,  $NH(C, D)$ ), 10.23-10.24 (*m*, 2 H,  $NH(A, B)$ );  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 26.30, 26.46, 26.49, 26.51, 33.69, 33.85, 36.64, 36.68, 40.38, 40.50, 40.60, 40.99, 43.13, 43.35, 43.52, 43.80, 43.90, 44.03, 46.38, 46.48, 61.72, 61.93 (2 $\times$ ), 62.17, 71.30, 71.33, 71.38, 71.84, 79.27, 79.30, 79.39 (2 $\times$ ), 85.54, 85.87, 85.98, 86.06, 87.40, 87.45 (2 $\times$ ), 87.54, 108.79, 108.98, 109.58, 109.71, 127.98 (2 $\times$ ), 128.06 (4 $\times$ ), 128.09 (2 $\times$ ), 130.19 (4 $\times$ ), 162.65 (4 $\times$ ), 132.70 (4 $\times$ ), 134.72 (4 $\times$ ), 137.29, 137.64, 139.64, 140.13, 150.44 (2 $\times$ ), 150.48, 150.58, 163.13, 163.18, 163.72, 163.77, 172.89, 173.06 (2 $\times$ ), 173.29, 204.90, 205.09, 205.15, 205.34; MS (ESI): berechnet für  $[C_{22}H_{28}N_3O_8+H]^+$ : 462.1876; gefunden 462.1853.



**Abbildung 68.** Rechts: UV-Spektrum von Donor **24**: 70  $\mu M$  in  $MeOH:H_2O$  1:4,  $\lambda_{max} = 251$  nm,  $\epsilon_{260nm} = 10120$   $M^{-1}cm^{-1}$ ,  $\epsilon_{340nm} = 37$   $M^{-1}cm^{-1}$ ; Links: HPLC (Merck Hitachi, CC 250/4 Nucleosil 100-5 C18) von **24**, Gradient: 100% to 25% 0.1 M  $NEt_3/AcOH$  in  $H_2O$  and 75% 0.1 M  $NEt_3/AcOH$  in  $MeOH/H_2O$  80/20 in 45 min

**5-((3-Hydroxy-N,3-dimethyl-4-oxo-4-phenylbutanamido)methyl)-5',3'-bis-O-tert-butylidiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (25)**

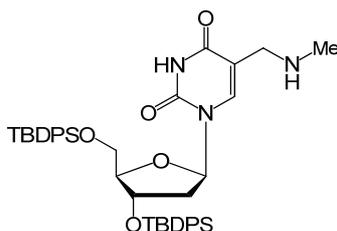


Eine Lösung aus HBTU (287 mg, 0.76 mmol),  $\text{NEt}(i\text{Pr})_2$  (132  $\mu\text{L}$ , 0.76 mmol) und **10** (143 mg, 0.69 mmol) in trockenem DMF (8 mL) wurde bei 22 °C gerührt. Nach 30 min wurde eine Lösung aus **26** (536 mg, 0.72 mmol) in trockenem DMF (8 mL) zugegeben und das Gemisch auf 50 °C erhitzt. Nach 16 Std. wurde AcOEt und Wasser zugegeben. Die organische Phase wurde drei Mal mit Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, *in vacuo* eingeeengt und chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 1:1). Ausbeute: 580 mg (86%). Farbloser Feststoff. Vier Diastereoisomere im Verhältnis ~ 18:18:32:32.

$R_f$  = 0.38 (Isohexan:AcOEt 1:1); Schmp.: 87 – 91 °C; IR: 3178 $w$ , 3071 $m$ , 3050 $m$ , 2931 $s$ , 2857 $s$ , 1715 $s$ , 1680 $s$ , 1634 $m$ , 1462 $m$ , 1427 $m$ , 1392 $m$ , 1364 $m$ , 1275 $m$ , 1232 $w$ , 1201 $w$ , 1104 $s$ , 1027 $m$ , 999 $w$ , 972 $w$ , 937 $w$ , 822 $m$ , 793 $w$ , 740 $m$ , 700 $s$ , 609 $m$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.87 (*s*, 9 H, *t*Bu(C)), 0.88 (*s*, 9 H, *t*Bu(D)), 0.94 (*s*, 9 H, *t*Bu(A)), 0.9 (*s*, 9 H, *t*Bu(B)), 1.07 (*s*, 9 H, *t*Bu(D)), 1.09 (*s*, 9 H, *t*Bu(C)), 1.11 (*s*, 18 H,  $2 \times t\text{Bu(A+B)}$ ), 1.52 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{C})$ ), 1.53 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{B})$ ), 1.54 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{D})$ ), 1.55 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3(\text{A})$ ), 1.77 (*ddd*,  $J = 13.80, 8.58, 5.22$  Hz, 1 H,  $\text{H}_{a2}'(\text{D})$ ), 1.97-2.03 (*m*, 2 H,  $\text{H}_{a2}'(\text{B, C})$ ), 2.16-2.21 (*m*, 1 H,  $\text{H}_{a2}'(\text{A})$ ), 2.26-2.34 (*m*, 4 H,  $\text{H}_{b2}'(\text{C, D})$ ,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{C, D}))$ ), 2.39-2.45 (*m*, 2 H,  $\text{H}_{b2}'(\text{A, B})$ ), 2.44 (*s*, 3 H,  $\text{NCH}_3(\text{B})$ ), 2.50 (*s*, 3 H,  $\text{NCH}_3(\text{A})$ ), 2.71 (*d*,  $J = 16.15$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ), 2.72 (*d*,  $J = 16.23$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ), 3.06 (*s*, 3 H,  $\text{NCH}_3(\text{C})$ ), 3.16 (*s*, 3 H,  $\text{NCH}_3(\text{D})$ ), 3.22 (*dd*,  $J = 11.46, 4.33$  Hz, 1 H,  $\text{H}_{a5}'(\text{D})$ ), 3.27 (*d*,  $J = 16.17$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{C}))$ ), 3.30 (*dd*,  $J = 11.58, 4.07$  Hz, 1 H,  $\text{H}_{a5}'(\text{C})$ ), 3.33 (*d*,  $J = 15.89$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{D}))$ ), 3.37 (*d*,  $J = 16.17$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ), 3.45 (*dd*,  $J = 11.42, 3.48$  Hz, 1 H,  $\text{H}_{b5}'(\text{D})$ ), 3.48-3.56 (*m*, 6 H,  $\text{H}_{a5}'(\text{A, B})$ ,  $\text{H}_{b5}'(\text{C})$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{A, B}))$ ), 3.74-3.75 (*m*, 1 H,  $\text{H}_{b5}'(\text{A})$ ), 3.75-3.76 (*m*, 1 H,  $\text{H}_{b5}'(\text{B})$ ), 3.85-3.90 (*m*, 3 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{C, D}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{B}))$ ), 3.98-4.03 (*m*, 5 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{A, C, D}))$ ,  $\text{H4}'(\text{C, D})$ ), 4.08-4.16 (*m*, 2 H,  $\text{H4}'(\text{A, B})$ ), 4.30 (*d*,  $J = 5.34$  Hz, 1 H,  $\text{H3}'(\text{D})$ ), 4.47 (*d*,  $J = 5.50$  Hz, 1 H,  $\text{H3}'(\text{C})$ ), 4.57 (*d*,  $J = 5.90$  Hz, 1 H,  $\text{H3}'(\text{B})$ ), 4.59 (*d*,  $J = 5.62$  Hz, 1 H,  $\text{H3}'(\text{A})$ ), 6.37 (*dd*,  $J = 8.71, 5.38$  Hz, 1 H,  $\text{H1}'(\text{D})$ ), 6.42 (*dd*,  $J = 8.80, 5.40$  Hz, 1 H,  $\text{H1}'(\text{C})$ ), 6.50 (*dd*,  $J = 8.14, 5.78$  Hz, 1 H,  $\text{H1}'(\text{B})$ ), 6.56 (*dd*,  $J = 8.73, 5.43$  Hz, 1 H,  $\text{H1}'(\text{A})$ ), 7.22-7.69 (*m*, 96 H,  $\text{HC}(\text{Phenon, meta/para}$  und *arom.*, TBDPS),  $\text{H6}(\text{A, B, C, D})$ ), 8.18-8.22 (*m*, 8 H,  $\text{HC}(\text{Phenon, ortho})$ ), 9.66-9.79 (*bm*, 4 H,  $\text{NH}(\text{A, B, C, D})$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.01, 19.03, 19.06, 19.07, 19.09, 19.12, 19.34, 19.39, 26.51, 26.52 (2 $\times$ ), 26.57, 26.82 (4 $\times$ ), 26.83 (4 $\times$ ), 26.89 (4 $\times$ ), 26.93 (11 $\times$ ), 26.96, 31.79, 32.15, 36.76, 37.17, 40.44, 40.67, 40.77, 41.02, 42.48, 42.49, 42.60, 42.99, 44.31, 44.40, 45.84, 46.08, 63.87 (2 $\times$ ), 63.95 (2 $\times$ ), 73.51, 73.92, 73.95, 74.00, 79.45, 79.58, 79.67, 79.80, 85.26, 85.28, 85.38, 85.85, 87.85

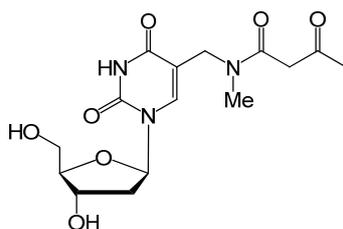
(2×), 87.93, 88.90, 108.95, 109.12, 109.87, 109.89, 127.68-135.72 (96×), 137.85, 138.75, 139.89, 140.86, 150.12 (2×), 150.23 (2×), 162.78 (2×), 163.71, 163.97, 172.78, 173.09, 173.23, 173.25; MS (ESI): berechnet für  $[C_{54}H_{64}N_3O_8Si_2+H]^+$ : 938.4232; gefunden 938.4250.

### 5-((Methylamino)methyl)-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (26)



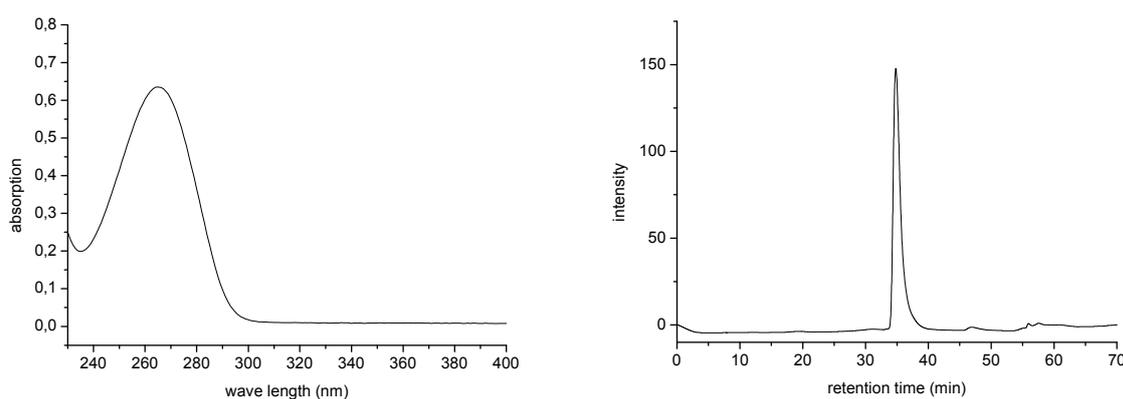
Eine Lösung des 3'-und 5'-TBDPS geschützten 5-(Brommethyl)-2'-desoxyuridins **16** (1.9 g, 2.38 mmol) in trockenem DMF wurde bei 0 °C mit MeNH<sub>2</sub> gesättigt. Die Lösung wurde 16 Std. bei 22 °C gerührt und schließlich mit AcOEt und H<sub>2</sub>O verdünnt. Die organische Phase wurde drei Mal mit H<sub>2</sub>O gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, *in vacuo* eingengt und chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 15:1). Ausbeute: 1.158 mg (64%). Farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.24 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 9:1); Schmp.: 79 – 82 °C; IR: 3178<sub>w</sub>, 3071<sub>m</sub>, 3049<sub>m</sub>, 2931<sub>s</sub>, 2857<sub>s</sub>, 2798<sub>w</sub>, 1705<sub>s</sub>, 1680<sub>s</sub>, 1590<sub>w</sub>, 1471<sub>m</sub>, 1462<sub>m</sub>, 1427<sub>s</sub>, 1364<sub>m</sub>, 1323<sub>w</sub>, 1275<sub>m</sub>, 1251<sub>m</sub>, 1196<sub>m</sub>, 1104<sub>s</sub>, 1064<sub>m</sub>, 1027<sub>m</sub>, 1007<sub>m</sub>, 969<sub>m</sub>, 937<sub>w</sub>, 917<sub>w</sub>, 890<sub>w</sub>, 822<sub>m</sub>, 795<sub>w</sub>, 739<sub>m</sub>, 700<sub>s</sub>, 638<sub>w</sub>, 610<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.93 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.08 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.90–2.00 (*m*, 1 H, H<sub>a</sub>2'), 2.15 (*s*, 3 H, NCH<sub>3</sub>), 2.34 (*ddd*, *J* = 13.0, 5.2, 1.2 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>2'), 3.01 (*d*, *J* = 13.65 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N)), 3.07 (*d*, *J* = 13.85 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N)), 3.34 (*dd*, *J* = 11.5, 2.2 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>5'), 3.77 (*dd*, *J* = 11.4, 2.2 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>5'), 4.00 (*s*, 1 H, H4'), 4.55 (*d*, *J* = 5.5 Hz, 1 H, H3'), 5.63 (*bs*, 1 H, NH), 6.57 (*dd*, *J* = 9.2, 5.4 Hz, 1 H, H1'), 7.30–7.65 (*m*, 21 H, H6, 20× CH(arom., TBDPS)); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 19.01, 19.29, 26.89 (3×), 26.91 (3×), 34.93, 41.29, 47.75, 63.93, 73.83, 84.93, 87.78, 112.06, 127.87 (2×), 127.90 (4×), 127.91 (2×), 129.98 (2×), 130.01, 130.03, 132.23, 133.04, 133.06, 133.17, 135.15 (2×), 135.43 (2×), 135.65 (2×), 135.71 (2×), 137.30, 150.38, 163.72; MS (ESI): berechnet für  $[C_{43}H_{54}N_3O_5Si_2+H]^+$ : 748.3602; gefunden 748.3610.

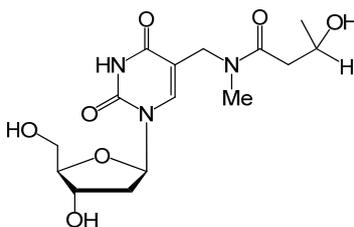
5-((*N*-Methyl-3-oxobutanamido)methyl)-2'-desoxyuridin (**29**)

Das Entschützens- und *workup* Prozedere des 3',5'-TBDPS-ethers **35** (247 mg, 0.3 mmol) wurde analog zur Synthese von **24** durchgeführt. Ausbeute: 85 mg (81%). Farbloser Feststoff. Zwei Konformationsstereoisomere im Verhältnis ~ 35:65. Die Reinheit wurde zusätzlich mithilfe von HPLC überprüft (Abbildung 69).

$R_f = 0.45$  ( $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  9:1); Schmp.: 119 – 123 °C; 3481 $m$ , 3379 $m$ , 3148 $m$ , 3004 $m$ , 2932 $m$ , 2879 $m$ , 2819 $m$ , 1705 $s$ , 1673 $s$ , 1646 $s$ , 1619 $s$ , 1497 $w$ , 1462 $m$ , 1418 $m$ , 1395 $m$ , 1362 $m$ , 1306 $m$ , 1274 $m$ , 1244 $m$ , 1224 $m$ , 1198 $m$ , 1178 $m$ , 1132 $m$ , 1051 $s$ , 1025 $s$ , 958 $m$ , 938 $m$ , 902 $m$ , 803 $w$ , 773 $w$ , 755 $m$ , 735 $w$ , 693 $w$ , 660 $w$ , 635 $w$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 2.21 ( $s$ , 3 H,  $\text{CH}_3(\text{B})$ ), 2.22 ( $s$ , 3 H,  $\text{CH}_3(\text{A})$ ), 2.23–2.26 ( $m$ , 4 H,  $\text{H}_{a2}'(\text{A, B})$ ,  $\text{H}_{b2}'(\text{A, B})$ ), 2.85 ( $s$ , 3 H,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{B})$ ), 3.02 ( $s$ , 3 H,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{A})$ ), 3.68–3.82 ( $m$ , 6 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ,  $\text{H}_{a5}'(\text{A, B})$ ,  $\text{H}_{b5}'(\text{A, B})$ ), 3.88–3.94 ( $m$ , 4 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ,  $\text{H}_{a4}'(\text{A, B})$ ), 4.11 ( $d$ ,  $J = 15.95$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}))$ ), 4.19 ( $d$ ,  $J = 15.95$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}))$ ), 4.33–4.42 ( $m$ , 4 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}))$ ,  $\text{H}_{3'}(\text{A, B})$ ), 6.24–6.29 ( $m$ , 2 H,  $\text{H}_{1'}(\text{A, B})$ ), 7.86 ( $s$ , 1 H,  $\text{H}_6(\text{A})$ ), 8.06 ( $s$ , 1 H,  $\text{H}_6(\text{B})$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 28.96, 28.99, 31.68, 35.83, 39.62, 40.22, 43.78, 46.83, 47.90 (2x), 61.25, 61.71, 70.68, 70.96, 85.02, 85.30, 87.55, 87.64, 108.56, 109.34, 138.85, 139.45, 150.59, 150.66, 163.61, 163.92, 168.71, 168.92, 203.69, 204.04; MS (ESI): calc. for  $[\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_7+\text{H}]^+$ : 356.1458; found: 356.1456.

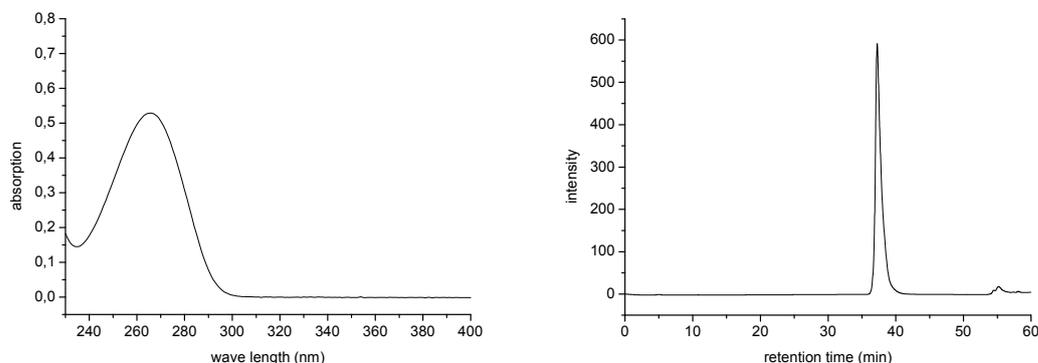


**Abbildung 69.** Links: UV-Absorption: 70  $\mu\text{M}$  in  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  1:4,  $\lambda_{\text{max}} = 265$  nm,  $\epsilon_{260\text{nm}} = 8770$   $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ; Rechts: reversed phase HPLC (Merck Hitachi, CC 250/4 Nucleosil 100-5 C18), Gradient: 100% to 96% 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  in  $\text{H}_2\text{O}$  and 4% 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  in  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  80/20 in 45 min

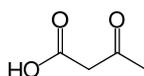
5-((3-Hydroxy-N-methylbutanamido)methyl)-2'-desoxyuridin (**30**)

Das Entschützungs- und *workup* Prozedere des 3',5'-TBDPS-ethers **35** (214 mg, 0.26 mmol) wurde analog zur Synthese von **29** durchgeführt. Ausbeute: 68 mg (74%). Farbloser Feststoff. Vier Diastereoisomere im Verhältnis ~ 17:17:33:33. Die Reinheit wurde zusätzlich mithilfe von HPLC überprüft (Abbildung 70).

$R_f = 0.06$  ( $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  9:1); Schmp.: 137 – 141 °C; IR: 3376 $m$ , 3061 $w$ , 2971 $w$ , 2932 $w$ , 2822 $w$ , 1675 $s$ , 1611 $s$ , 1468 $m$ , 1403 $m$ , 1346 $w$ , 1273 $m$ , 1196 $w$ , 1090 $m$ , 1052 $m$ , 992 $w$ , 942 $w$ , 852 $w$ , 818 $w$ , 758 $w$ , 681 $w$ , 653 $w$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 1.21 ( $s$ , 6 H,  $\text{CH}_3(\text{A}, \text{B})$ ), 1.22 ( $s$ , 6 H,  $\text{CH}_3(\text{C}, \text{D})$ ), 2.15-2.33 ( $m$ , 8 H,  $\text{H}_{a2}'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ,  $\text{H}_{b2}'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ), 2.46 ( $dd$ ,  $J = 15.45, 4.41$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ), 2.47 ( $dd$ ,  $J = 15.51, 4.47$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ), 2.58 ( $dd$ ,  $J = 15.51, 8.12$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ), 2.59 ( $dd$ ,  $J = 15.42, 8.21$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ), 2.62 ( $dd$ ,  $J = 15.21, 3.91$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{C}))$ ), 2.63 ( $dd$ ,  $J = 15.30, 4.38$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{D}))$ ), 2.70 ( $dd$ ,  $J = 15.42, 8.02$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{C}))$ ), 2.71 ( $dd$ ,  $J = 15.46, 7.95$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{D}))$ ), 2.87 ( $s$ , 6 H,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{C}, \text{D})$ ), 3.11 ( $s$ , 6 H,  $\text{CH}_3\text{N}(\text{A}, \text{B})$ ), 3.69-3.81 ( $m$ , 8 H,  $\text{H}_{a5}'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ,  $\text{H}_{b5}'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ), 3.90-3.94 ( $m$ , 4 H,  $\text{H}4'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ), 4.15-4.41 ( $m$ , 16 H,  $\text{CHCH}_3(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D}))$ ,  $\text{H}3'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ), 6.25-6.30 ( $m$ , 4 H,  $\text{H}1'(\text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{D})$ ), 7.88 ( $s$ , 1 H,  $\text{H}6(\text{A})$ ), 7.90 ( $s$ ,  $\text{H}6(\text{B})$ ), 8.01 ( $s$ ,  $\text{H}6(\text{C})$ ), 8.03 ( $s$ ,  $\text{H}6(\text{D})$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 21.91 (4 $\times$ ), 32.06, 32.09, 35.54, 35.55, 39.95 (2 $\times$ ), 40.20, 40.28, 41.26, 41.28, 41.58, 41.59, 43.76, 43.78, 46.28 (2 $\times$ ), 61.22, 61.29, 61.52, 61.55, 64.47, 64.50, 64.75, 64.76, 70.74, 70.83, 70.94, 70.98, 85.17, 85.02, 85.25, 85.29, 87.64 (2 $\times$ ), 87.69 (2 $\times$ ), 109.00 (2 $\times$ ), 109.61, 109.62, 138.70, 138.79, 138.88, 138.94, 150.64 (4 $\times$ ), 163.55, 163.57, 164.01 (2 $\times$ ), 173.02, 173.05, 173.10, 173.12; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_7+\text{H}]^+$ : 358.1614; gefunden 358.1614.

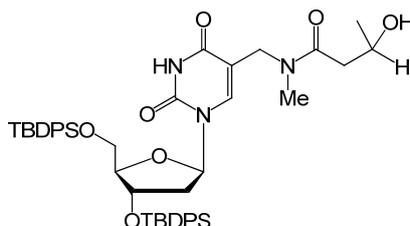


**Abbildung 70.** Links: UV-Absorption of **30**: 70  $\mu\text{M}$  in  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  1:4,  $\lambda_{\text{max}} = 266$  nm,  $\epsilon_{260\text{nm}} = 7090$   $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ; Rechts: reversed phase HPLC (Merck Hitachi, CC 250/4 Nucleosil 100-5 C18) of **30**, Gradient: 100% to 96% 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  in  $\text{H}_2\text{O}$  and 4% 0.1 M  $\text{NEt}_3/\text{AcOH}$  in  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  80/20 in 45 min

**Acetoessigsäure (33)**<sup>[253]</sup>

Eine Lösung von *tert*-Butylacetoacetat **32** (3.2 g, 3.3 mL, 20 mmol) in 10 mL TFA wurde 20 Std. bei 22 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Ausbeute: 1.94 g (95 %). Farblose Kristalle.

Schmp.: 25 – 29 °C. IR: 3081 $m$ , 2971 $m$ , 2667 $w$ , 1703 $s$ , 1562 $w$ , 1417 $m$ , 1360 $s$ , 1305 $m$ , 1204 $m$ , 1152 $m$ , 1024 $m$ , 1154 $s$ , 1024 $w$ , 861 $w$ , 697 $w$ ; <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.28 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 3.55 (*s*, 2 H, CH<sub>2</sub>), 10.50-10.65 (*bs*, 1 H, CO<sub>2</sub>H).

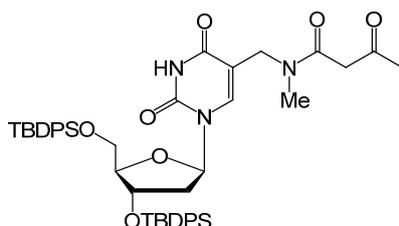
**5-((3-Hydroxy-*N*-methylbutanamido)methyl)-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (31)**

Eine Lösung aus HBTU (54 mg, 0.14 mmol), NEt(*i*Pr)<sub>2</sub> (27  $\mu$ L, 0.14 mmol) und 3-Hydroxybuttersäure (13  $\mu$ L, 0.13 mmol) in DMF (1.5 mL) wurde bei 22 °C gerührt. Nach 30 min wurde eine Lösung von Amin **26** (100 mg, 0.13 mmol) in DMF (1.5 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch auf 45 °C erhitzt. Nach 24 Std. wurde die Reaktionslösung mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 5:3). Ausbeute: 104 mg (93%). Farbloser Schaum. Vier Diastereoisomere.

$R_f$  = 0.42 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 9:1); Schmp.: 98 – 102 °C; IR: 3457 $w$ , 3178 $w$ , 3071 $m$ , 3017 $m$ , 2957 $s$ , 2932 $s$ , 1715 $s$ , 1680 $s$ , 1621 $m$ , 1463 $m$ , 1427 $m$ , 1401 $m$ , 1373 $m$ , 1275 $m$ , 1229 $w$ , 1217 $w$ , 1199 $w$ , 1104 $s$ , 1027 $m$ , 1007 $m$ , 971 $w$ , 917 $w$ , 822 $m$ , 786 $w$ , 740 $m$ , 700 $s$ , 610 $m$ ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 0.93-0.94 (*m*, 36 H, 4 $\times$  *t*Bu), 1.06-1.07 (*m*, 18 H, 2 $\times$  *t*Bu), 1.09 (*s*, 18 H, 2 $\times$  *t*Bu), 1.16-1.21 (*m*, 12 H, 4 $\times$  CH<sub>3</sub>), 1.87-1.99 (*m*, 4 H, H<sub>a</sub>2'(A, B, C, D)), 2.18 (*d*,  $J$  = 16.57 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(C))), 2.21 (*d*,  $J$  = 16.51 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(D))), 2.30-2.46 (*m*, 14 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A, B)), H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(C, D)), H<sub>b</sub>2'(A, B, C, D), NCH<sub>3</sub>(A, B)), 2.72 (*dd*,  $J$  = 16.33, 2.19 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A))), 2.82 (*dd*,  $J$  = 16.31, 1.93 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(B))), 2.97 (*m*, 6 H, NCH<sub>3</sub>(C, D)), 3.04 (*d*,  $J$  = 14.95, 1 H, H<sub>a</sub>(NCH<sub>2</sub>(B))), 3.32-3.51 (*m*, 4 H, H<sub>a</sub>(NCH<sub>2</sub>(A)), H<sub>b</sub>(NCH<sub>2</sub>(A)), H<sub>a</sub>5'(C, D)), 3.66-3.70 (*m*, 2 H, H<sub>b</sub>5'(C, D)), 3.74 (*d*,  $J$  = 15.60 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(NCH<sub>2</sub>(B))), 3.79-3.92 (*m*, 7 H, H<sub>a</sub>(NCH<sub>2</sub>(C, D)), H<sub>b</sub>(NCH<sub>2</sub>(D)), H<sub>a</sub>5'(A, B)), H<sub>b</sub>5'(A, B)), 3.97 (*d*,  $J$  = 14.23 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(NCH<sub>2</sub>(C))), 4.03-4.27 (*m*, 8 H, H<sub>a</sub>4'(A, B, C, D)), CHCH<sub>3</sub>(A, B, C, D)), 4.45-

4.48 (*m*, 2 H, H3'(C, D)), 4.55-4.57 (*m*, 2 H, H3'(A, B)), 6.37-6.41 (*m*, 2 H, H1'(C, D)), 6.46-6.05 (*m*, 2 H, H1'(A, B)), 7.25-7.66 (*m*, 82 H, HC(arom.), H6(A, B)), 7.74 (*s*, 1 H, H6(D)), 7.77 (*s*, 1 H, H6(C)), 9.48 (*bs*, 2 H, NH(C, D)), 9.67 (*bs*, 2 H, NH(A, B));  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 18.98 (2 $\times$ ), 19.01 (2 $\times$ ), 19.19 (2 $\times$ ), 19.41, 19.42, 22.12 (2 $\times$ ), 22.21, 22.26, 26.87 (18 $\times$ ), 26.96 (6 $\times$ ), 31.25, 31.27, 36.55, 36.54, 40.61, 40.64, 40.93, 41.02, 41.08 (2 $\times$ ), 41.41, 41.58, 44.36, 44.49, 45.69, 45.76, 63.74, 63.77, 63.94, 64.02, 64.09 (2 $\times$ ), 64.42 (2 $\times$ ), 73.43, 73.57, 73.76, 73.92, 84.98, 85.16, 85.51, 85.66, 87.74, 87.83, 87.90, 87.98, 109.10, 109.16, 110.10, 110.13, 127.73-135.68 (96 $\times$ ), 138.45, 138.54, 140.70, 140.77, 150.02, 150.05 (2 $\times$ ), 150.08, 162.59, 162.61, 163.69, 163.71, 172.84, 172.88, 173.05, 173.08; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_{47}\text{H}_{60}\text{N}_3\text{O}_7\text{Si}_2+\text{H}]^+$ : 834.3970; gefunden 834.3981.

### 5-((*N*-Methyl-3-oxobutanamido)methyl)-5',3'-bis-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-desoxyuridin (35)

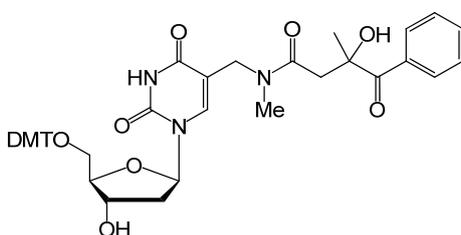


Amin **26** (150 mg, 0.2 mmol), EDC (43 mg, 0.22 mmol) und HOBt (33 mg, 0.24 mmol) wurden in trockenem DMF (2 mL) gelöst. Eine Lösung aus 3-Oxo-buttersäure (42 mg, 0.4 mmol) in DMF (1.5 mL) wurde bei 0 °C hinzugegeben. Nach 24 Std. bei 22 °C wurde das Gemisch mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingedunstet. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 5:3  $\rightarrow$  1:1). Ausbeute: 175 mg (63%). Farbloser Schaum. Zwei Konformationsisomere im Verhältnis 6:4.

$R_f$  = 0.45 ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH 9:1); Schmp.: 84 - 87 °C; IR: 3178 $w$ , 3071 $w$ , 3049 $w$ , 2931 $m$ , 2858 $m$ , 1713 $s$ , 1685 $s$ , 1651 $s$ , 1589 $w$ , 1463 $m$ , 1427 $m$ , 1392 $w$ , 1378 $w$ , 1362 $w$ , 1274 $w$ , 1193 $w$ , 1104 $s$ , 1027 $w$ , 998 $w$ , 971 $w$ , 937 $w$ , 882 $w$ , 822 $m$ , 740 $w$ , 701 $s$ , 611 $w$ ;  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.92 (*s*, 18 H, 2 $\times$  *t*Bu(A)), 1.05 (*s*, 9 H, *t*Bu(B)), 1.08 (*s*, 9 H *t*Bu(B)), 1.86-1.98 (*m*, 2 H,  $\text{H}_a2'$ (A, B)), 2.10 (*s*, 3 H,  $\text{COCH}_3$ (B)), 2.20 (*s*, 3 H,  $\text{COCH}_3$ (A)), 2.31-2.42 (*m*, 5 H,  $\text{H}_b2'$ (A, B),  $\text{CH}_3\text{N}$ (B)), 2.90 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3\text{N}$ (A)), 3.19 (*d*,  $J$  = 15.09 Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{B}))$ ), 3.40-3.45 (*m*, 4 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{A}))$ ,  $\text{H}_a5'$ (A, B)), 3.53 (*d*, 1 H  $J$  = 15.09 Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{B}))$ ), 3.63-3.67 (*dd*,  $J$  = 11.30, 3.61 Hz, 1 H,  $\text{H}_b5'$ (A)), 3.77-3.86 (*m*, 3 H,  $\text{H}_b5'$ (B),  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{CO}(\text{B}))$ ), 3.89 (*d*,  $J$  = 14.61 Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}))$ ), 4.00 (*d*,  $J$  = 14.42 Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{N}(\text{A}))$ ), 4.04-4.10 (*m*, 2 H,  $\text{H}4'$ (A, B)), 4.45 (*d*,  $J$  = 5.53 Hz, 1 H,  $\text{H}3'$ (A)), 4.54 (*s*, 1 H,  $\text{H}3'$ (B)), 6.37 (*dd*,  $J$  = 8.45, 5.48 Hz, 1 H,  $\text{H}1'$ (A)), 6.46 (*dd*,  $J$  = 7.94, 5.56 Hz, 1 H,  $\text{H}1'$ (B)), 7.24-7.65 (*m*, 41 H, HC(arom., TBDPS(A, B)),  $\text{H}6$ (B)), 7.70 (*s*, 1 H,  $\text{H}6$ (A)), 9.34 (*bs*, 1 H, NH(A)), 9.59 (*bs*, 1 H, NH(B));  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,

CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.19 (2x), 19.37, 19.61, 27.04 (3x), 27.07 (6x), 27.15 (3x), 30.25, 30.49, 37.28 (2x), 40.80, 41.64, 44.76, 46.88, 49.91, 50.37, 63.93, 64.24, 73.71, 74.05, 85.27, 85.79, 88.01, 88.14, 109.24, 109.98, 127.93-135.88 (48x), 138.90, 140.41, 150.19, 150.27, 162.99, 163.75, 167.06, 167.43, 202.43, 202.43; MS (ESI): berechnet für [C<sub>47</sub>H<sub>58</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Si<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>: 832.3813; gefunden 832.3827.

**5-((3-Hydroxy-N,3-dimethyl-4-oxo-4-phenylbutanamido)methyl)-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-desoxyuridin (36)**

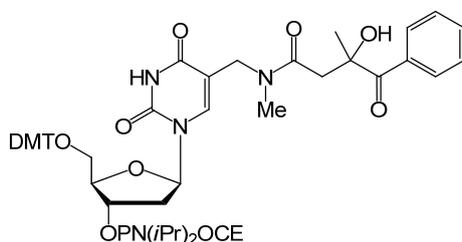


Amide **24** (321 mg, 0.7 mmol) wurde mit Pyridin drei Mal co-evaporiert, dann in Pyridin (4 mL) gelöst und mit 3 Å Molsieb versehen. Nach 1 Std. wurde eine Lösung von DMT-OTf (629 mg, 1.39 mmol) in 2.5 ml Pyridin (Lösung auch über 3 Å Molsieb 1 Std. getrocknet) zugespritzt. Nach 4 Std. bei 22 °C wurde die Reaktion durch Zugabe von MeOH gestoppt, *in vacuo* eingengt und chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>→CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 24:1 + 1% Pyridin). Ausbeute: 474 mg (89%). Hellgelber Feststoff. Vier Diastereoisomere im Verhältnis von ~ 19:19:31:31.

$R_f$  = 0.33 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 9:1); <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.48 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>(B)), 1.50 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>(D)), 1.52 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>(A)), 1.53 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>(C)), 1.94-2.05 (*m*, 1 H, H<sub>a</sub>2'(D)), 2.13-2.17 (*m*, 1 H, H<sub>b</sub>2'(D)), 2.22-2.37 (*m*, 3 H, H<sub>a</sub>2'(B, C), H<sub>b</sub>2'(C)), 2.29 (*d*,  $J$  = 16.11 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(C))), 2.32 (*d*,  $J$  = 16.06 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(D))), 2.43-2.47 (*m*, 2 H, H<sub>a</sub>2'(A), H<sub>b</sub>2'(B)), 2.51-2.58 (*m*, 1 H, H<sub>b</sub>2'(A)), 2.51 (*s*, 3 H, NCH<sub>3</sub>(A)), 2.53 (*s*, 3 H, NCH<sub>3</sub>(B)), 2.62 (*d*,  $J$  = 16.20 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(B))), 2.64 (*d*,  $J$  = 16.13 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A))), 3.01 (*s*, 3 H, NCH<sub>3</sub>(C)), 3.12 (*s*, 3 H, NCH<sub>3</sub>(D)), 3.21-3.47 (*m*, 12 H, H<sub>a</sub>5'(A, B, C, D), H<sub>b</sub>5'(A, B, C, D), H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>CO(A, B, C, D))), 3.69-3.76 (*m*, 26 H, 2× OCH<sub>3</sub>(A, B, C, D), H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(A, B))), 3.81 (*d*,  $J$  = 14.32 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(D))), 3.84-3.87 (*m*, 1 H, H<sub>4</sub>'(D)), 3.92-4.02 (*m*, 7 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>N(C)), H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>N(A, B, C, D)), H<sub>4</sub>'(A, C)), 4.05-4.09 (*m*, 2 H, H<sub>3</sub>'(D), H<sub>4</sub>'(B)), 4.40-4.43 (*m*, 1 H, H<sub>3</sub>'(C)), 4.54-4.58 (*m*, 2 H, H<sub>3</sub>'(A, B)), 5.79 (*s*, 1 H, C<sub>q</sub>OH(C)), 5.91 (*s*, 1 H, C<sub>q</sub>OH(D)), 6.01 (*s*, 1 H, C<sub>q</sub>OH(A)), 6.13 (*s*, 1 H, C<sub>q</sub>OH(B)), 6.18 (*t*,  $J$  = 6.22 Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'(D)), 6.27 (*t*,  $J$  = 6.42 Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'(C)), 6.37 (*t*,  $J$  = 6.62 Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'(B)), 6.42 (*t*,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, H<sub>1</sub>'(A)), 6.74-7.47 (*m*, 66 H, HC(arom.), H<sub>6</sub>(A, C)), 7.55 (*s*, 1 H, H<sub>6</sub>(D)), 7.61 (*s*, 1 H, H<sub>6</sub>(B)), 8.17-8.21 (*m*, 8 H, 2× CH(Phenon, *ortho* (A, B, C, D))), 9.85 (*bs*, 2 H, NH(C, D)), 10.12 (*bs*, 2 H, NH(A, B)); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 26.58, 26.61, 26.66, 26.71, 32.24, 32.60, 36.89, 37.22, 39.94, 40.14, 40.18, 40.57, 42.45, 42.78 (2x), 43.00, 44.23, 44.58, 46.04, 46.34, 55.33 (2x), 55.35, 55.36, 63.90, 63.95,

64.01, 64.07, 71.42, 71.71, 72.05, 72.07, 79.64, 79.72, 79.76, 79.91, 84.93, 85.22, 85.47 (2×), 85.51, 85.66, 85.75, 86.14, 86.66, 86.67, 86.85, 86.93, 109.22, 109.28, 110.07, 110.21, 113.28, 113.29, 113.36, 113.38, 123.98 (16×), 126.95-136.02, 137.73, 138.95, 139.75, 141.16, 144.43, 144.48, 144.77, 144.79, 150.26, 150.41, 150.43, 150.52, 158.60, 158.62, 158.63, 158.65, 158.79 (2×), 158.81, 158.82, 162.89, 162.92, 163.54, 163.84, 173.03, 173.36, 173.41, 173.49, 204.26, 204.74, 204.87, 204.92; MS (ESI): berechnet für  $[C_{43}H_{45}N_3O_{10}-H]^-$ : 762.3032; gefunden 762.3026.

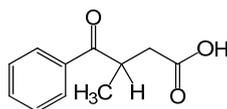
**5-((3-Hydroxy-N,3-dimethyl-4-oxo-4-phenylbutanamido)methyl)-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-3'-O-(2-cyanoethoxydiisopropylaminophosphino)-2'-desoxyuridin (37)**



$iPr_2NH_2$ -Tetrazolat (54 mg, 0.316 mmol) und  $P(NiPr_2)_2OCE$  (100  $\mu$ L, 0.316 mmol) wurden zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von **36** in  $CH_2Cl_2$  (2.5 ml) gegeben. Nach 2.5 Std. bei 22 °C wurde das Reaktionsgemisch *in vacuo* eingengt und chromatographisch gereinigt ( $SiO_2$ ,  $CH_2Cl_2$ :MeOH 9:1 + 1% Pyridin). Ausbeute: 114 mg (75%). Leicht gelblicher Feststoff.

$R_f = 0.53$  ( $CHCl_3$ :MeOH 9:1);  $^{31}P$ -NMR (81 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 149.6-150.5 (*m*); MS (ESI): berechnet für  $[C_{52}H_{62}N_5O_{11}-H]^-$ : 963.4111; gefunden 963.4095.

**3-Methyl-4-oxo-4-phenylbuttersäure (38)<sup>[304]</sup>**

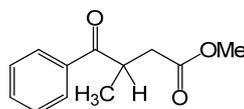


Zu einer auf 35 °C erhitzten Suspension aus KCN (1.2 g, 18  $\mu$ mol) in 50 mL DMF wurde während 30 min Benzaldehyd (10.2 mL, 0.1 mol) getropft. Anschließend wurde *cis/trans*-Crotonitril (6.1 mL, 75 mmol) zugespritzt, wobei sich die Lösung langsam von gelb zu dunkelrot färbte. Nach 20 Std. bei 35 °C wurde AcOH (2 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch in Eiswasser eingetragen. Die Suspension wurde drei Mal mit  $CHCl_3$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit Wasser gewaschen, über  $MgSO_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. 100 mL einer 6 N HCl-

Lösung wurden mit dem Rückstand gemischt und 18 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktion wurde auf 0 °C gekühlt, mit 50%-iger NaOH-Lsg. neutralisiert und drei Mal mit AcOEt gewaschen. Die wässrige Phase wurde anschließend mit 2 N HCl-Lsg. auf pH 0.9 eingestellt und mit CHCl<sub>3</sub> drei Mal extrahiert. Die vereinigten CHCl<sub>3</sub>-Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 2:8). Ausbeute 1.21 g (8%). Farbloses Öl.

$R_f = 0.26$  (iHexan:AcOEt 2:8); IR: 3229 *bm*, 3061*m*, 2933*m*, 2878*m*, 1705*s*, 1678*s*, 1595*m*, 1579*m*, 1447*m*, 1398*m*, 1281*m*, 1238*s*, 1226*s*, 1190*s*, 1178*s*, 1062*w*, 1001*w*, 977*s*, 930*m*, 792*m*, 701*s*, 686*s*, 651*w*; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.21 (*d*,  $J = 7.21$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.46 (*dd*,  $J = 17.09, 5.71$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>), 2.97 (*dd*,  $J = 17.08, 8.31$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>), 3.83-3.95 (*m*, 1 H, CH), 7.42-7.48 (*m*, 2 H, CH(arom., *meta*)), 7.51-7.57 (*m*, 1 H, CH(arom., *para*)), 7.93-7.96 (*m*, 2 H, CH(arom., *ortho*)); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 18.05, 37.30 (2 $\times$ ), 128.66 (2 $\times$ ), 128.89 (2 $\times$ ), 133.35, 135.84, 178.36, 202.73; MS (ESI): berechnet für [C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>-H]<sup>-</sup>: 191.0714; gefunden 191.0718.

### 3-Methyl-4-oxo-4-phenylbuttersäuremethylester (39)<sup>[305]</sup>

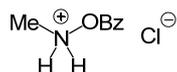


Zu einer mit 45 mL THF verdünnten KHMDS-Lsg. (0.5 M in Toluol, 66 mL, 33 mmol) wurde bei -78 °C eine Propiophenon-Lsg. (4 ml, 30 mmol, mit 15 mL THF verdünnt) getropft. Nach 1 Std. bei -78 °C wurde eine Methylbromoacetat-Lsg. (3.4 mL, 36 mmol, mit 15 mL THF verdünnt) zugespritzt. Nach einer weiteren Std. bei -78 °C wurde die Reaktion durch Zugabe von 1 N HCl gestoppt. Das Gemisch wurde mit Ether extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 9:1). Ausbeute 5.3 g (86%). Farbloses Öl.

$R_f = 0.34$  (Isohexan:AcOEt 9:1); IR: 2973*w*, 2952*w*, 1732*s*, 1680*s*, 1596*w*, 1579*w*, 1447*m*, 1436*m*, 1408*w*, 1377*m*, 1345*m*, 1238*m*, 1191*s*, 1169*s*, 1064*w*, 1001*m*, 975*s*, 933*w*, 886*w*, 793*w*, 735*w*, 699*s*; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.17 (*d*,  $J = 7.18$  Hz, 3 H, CH-CH<sub>3</sub>), 2.41 (*dd*,  $J = 16.75, 5.76$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>), 2.91 (*dd*,  $J = 16.75, 8.39$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>), 3.58 (*s*, 3 H, O-CH<sub>3</sub>), 3.82-3.96 (*m*, 1 H, CH-CH<sub>3</sub>), 7.38-7.44 (*m*, 2 H, CH(arom., *meta*)), 7.47-7.53 (*m*, 1 H, CH(arom., *para*)), 7.92-7.96 (*m*, 2 H, CH(arom., *ortho*)); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 17.92, 37.29 (2 $\times$ ), 51.73, 128.49 (2 $\times$ ), 128.74 (2 $\times$ ), 133.13, 135.94, 172.83, 202.75; MS (ESI): berechnet für [C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>+H]<sup>+</sup>: 207.1016; gefunden 207.1011.

### O-Benzoyl-N-methylhydroxylammoniumchlorid (43)<sup>[268]</sup>

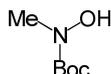
## 5. Experimentalteil



Durch eine Lösung des Hydroxylamins **47** (2 g, 7.96 mmol) in 10 mL Dioxan wurde langsam bei 22 °C blasenweise HCl gelassen. Nach 80 min wurde die Suspension filtriert und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O gewaschen. Ausbeute: 645 mg (45%). Farblose Kristalle.

Schmp.: 139.0-139.6 °C; IR: 2783<sub>w</sub>, 2418<sub>m</sub>, 2361<sub>m</sub>, 2328<sub>m</sub>, 1768<sub>s</sub>, 1598<sub>w</sub>, 1474<sub>m</sub>, 1450<sub>m</sub>, 1441<sub>m</sub>, 1242<sub>s</sub>, 1040<sub>s</sub>, 1026<sub>s</sub>, 969<sub>m</sub>, 845<sub>m</sub>, 701<sub>s</sub>; ; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.89 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 7.52-7.57 (*m*, 2 H, CH(*meta*)), 7.68-7.72 (*m*, 1 H CH(*para*)), 7.92-7.95 (*m*, 2 H, CH(*ortho*)), 8.85 (*bs*, 2 H, NH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 37.29, 127.00, 128.13 (2×), 129.21 (2×), 134.29, 164.11; MS (ESI): berechnet für [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>+H]<sup>+</sup>: 152.0706; gefunden 152.0706; EA für C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>2</sub>: berechnet C 51.21, H 5.37, N 7.47; gefunden: C 51.05, H 5.50, N 7.52.

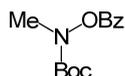
### *tert*-Butyl-hydroxy(methyl)carbammat (**46**)<sup>[268]</sup>



Zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension aus Methyl-Hydroxylamin (5.1 g, 60 mmol) in THF:H<sub>2</sub>O (1:1, 24 mL) wurde K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4.14 g, 30 mmol) gegeben. Anschließend wurde langsam eine Lösung aus (tBuOCO)<sub>2</sub>O (15.1 mL, 14.4 g, 66 mmol) in THF (18 mL) zugespritzt. Nach 18 Std. bei 22 °C wurde die Suspension mit H<sub>2</sub>O und AcOEt verdünnt. Die organische Phase wurde dreimal mit H<sub>2</sub>O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Das Öl wurde destilliert (6 mbar, 67 °C). Ausbeute: 6.69 g (76%). Farbloses Öl.

IR: 3249<sub>w</sub>, 2977<sub>w</sub>, 2933<sub>w</sub>, 1692<sub>s</sub>, 1478<sub>m</sub>, 1423<sub>m</sub>, 1391<sub>m</sub>, 1366<sub>s</sub>, 1254<sub>m</sub>, 1146<sub>s</sub>, 1042<sub>w</sub>, 848<sub>w</sub>, 759<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.39 (*s*, 9 H, CH<sub>3</sub>(tBu)), 3.08 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 28.34 (3×), 38.21, 81.64, 157.80; MS (ESI): berechnet für [C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>-H]<sup>-</sup>: 146.0823; gefunden 146.0823.

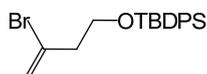
### *tert*-Butyl-benzoyloxy(methyl)carbammat (**47**)<sup>[268]</sup>



Zu einer Lösung des Hydroxylamin **46** (6 g, 41 mmol), DMAP (100 mg, 815  $\mu$ mol) und  $\text{NEt}_3$  (5.68 mL, 4.13 g, 41 mmol) in 72 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurde bei 0 °C langsam  $\text{BzCl}$  getropft. Sofort bildete sich eine Suspension. Nach 20 Std. bei 22 °C wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, und der Rückstand wurde in tiefsiedendem Petrolether suspendiert. Feststoffe wurden abfiltriert, und das trübe Filtrat wurde mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  verdünnt, um eine klare Lösung herzustellen. Diese wurde zweimal mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg., einmal mit Wasser und einmal mit  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, *in vacuo* eingengt und destilliert (6 mbar, 134 °C). Ausbeute 7.5 g (73%). Farbloses Öl.

IR: 2977 $w$ , 2934 $w$ , 1760 $s$ , 1714 $s$ , 1601 $w$ , 1451 $m$ , 1367 $m$ , 1244 $s$ , 1147 $s$ , 1047 $s$ , 1023 $s$ , 991 $s$ , 858 $m$ , 840 $m$ , 756 $m$ , 705 $s$ , 685 $m$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.44 (*s*, 9 H,  $\text{CH}_3(t\text{Bu})$ ), 3.31 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 7.41-7.44 (*m*, 2 H,  $\text{CH}(meta)$ ), 7.55-7.61 (*m*, 1 H,  $\text{CH}(para)$ ), 8.02-8.06 (*m*, 2 H,  $\text{CH}(ortho)$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 28.29 (3 $\times$ ), 38.14, 82.52, 127.83, 128.77 (2 $\times$ ), 130.03 (2 $\times$ ), 134.00, 155.51, 164.89; MS (EI): berechnet für  $[\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_4]^+$ : 251.1152; gefunden 251.1169.

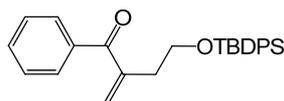
#### 1-*O-tert*-Butyldiphenylsilyl-3-bromobut-3-en-1-ol (**51**)



Eine Lösung aus kommerziell erhältlichem 3-Bromo-3-buten-1-ol **50** (5 g, 33 mmol), TBDPS-Cl (11.819 g, 43 mmol) und Imidazol (6.33 g, 93 mmol) in trockenem DMF (36 mL) wurde bei 22 °C für 18 Std. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. gestoppt. Das Gemisch wurde mit Isohexan verdünnt, drei Mal mit Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, *in vacuo* eingengt und chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 95:5). Ausbeute: 12.339 g (96%). Farbloses Öl.

$R_f$  = 0.59 (Isohexan:AcOEt 95:5); IR: 3070 $w$ , 3048 $w$ , 2956 $m$ , 2929 $m$ , 2856 $m$ , 1717 $w$ , 1629 $m$ , 1589 $w$ , 1471 $m$ , 1426 $s$ , 1390 $w$ , 1361 $w$ , 1260 $w$ , 1226 $w$ , 1187 $w$ , 1104 $s$ , 1035 $w$ , 998 $w$ , 928 $m$ , 887 $m$ , 822 $s$ , 736 $s$ , 699 $s$ , 688 $s$ , 614 $w$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.14 (*s*, 9 H, *t*Bu), 2.72 (*td*,  $J = 6.22, 0.98$  Hz, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 3.92 (*t*,  $J = 6.21$  Hz, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 5.56 (*d*,  $J = 1.57$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(=\text{CH}_2)$ ), 5.68-5.69 (*m*, 1 H,  $\text{H}_b(=\text{CH}_2)$ ), 7.36-7.60 (*m*, 6 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, meta/para)$ ), 7.75-7.79 (*m*, 4 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, ortho)$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.37, 26.92 (3 $\times$ ), 44.64, 61.54, 118.63, 127.79 (4 $\times$ ), 129.78 (2 $\times$ ), 130.96, 133.71 (2 $\times$ ), 135.70 (4 $\times$ ); MS (EI): berechnet für  $[\text{C}_{20}\text{H}_{25}^{79}\text{BrOSi-}t\text{Bu}]^+$ : 331.0154; gefunden 331.0110.

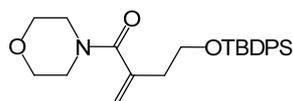
#### 4-*O-tert*-Butyldiphenylsilyl-4-hydroxy-2-methylen-1-phenylbutan-1-on (**52**)



Eine Lösung aus **51** (1 g, 2.57 mmol), PhB(OH)<sub>2</sub> (626 mg, 5.14 mmol), CsCO<sub>3</sub> (2.51 g, 7.7 mmol) und PEPPSI-*i*Pr (52 mg, 77 μmol) in PhCl (13 mL) wurde auf 80 °C erhitzt, während ein steter Fluss an CO durch die Lösung geleitet wurde. Nach vier Stunden wurde das Reaktionsgemisch durch eine Schicht Kieselgur filtriert, *in vacuo* eingengt und chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 96:4). Ausbeute: 757 mg (71%). Farbloses Öl.

$R_f$  = 0.32 (Isohexan:AcOEt 95:5); IR: 3070 $w$ , 2957 $m$ , 2929 $m$ , 2856 $m$ , 1734 $w$ , 1654 $s$ , 1622 $w$ , 1597 $w$ , 1471 $m$ , 1447 $m$ , 1427 $m$ , 1389 $w$ , 1340 $m$ , 1316 $m$ , 1274 $m$ , 1223 $m$ , 1172 $m$ , 1104 $s$ , 1088 $s$ , 1052 $m$ , 1001 $m$ , 979 $m$ , 924 $s$ , 851 $w$ , 822 $s$ , 737 $s$ , 699 $s$ , 688 $s$ , 612 $m$ ; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.02 (*s*, 9 H, *t*Bu), 2.73 (*td*,  $J$  = 6.21, 0.79 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.85 (*t*,  $J$  = 6.24 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 5.67 (*d*,  $J$  = 0.62 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(=CH<sub>2</sub>)), 5.93 (*m*, 1 H, H<sub>b</sub>(=CH<sub>2</sub>)), 7.32-7.67 (*m*, 13 H, CH(arom., TBDPS und Phenon, *meta/para*)), 7.76-7.80 (*m*, 2 H, CH(Phenon, *ortho*)); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 19.21, 26.82 (3×), 35.72, 62.55, 127.55, 127.66 (4×), 128.14 (2×), 129.63 (2×), 129.71 (2×), 132.17, 133.73 (2×), 135.58 (4×), 137.81, 145.39, 198.08; MS (ESI): berechnet für [C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>Si+H]<sup>+</sup>: 415.2088; gefunden 415.2077.

#### 4-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-methylen-1-morpholinobutan-1-on (**53**)

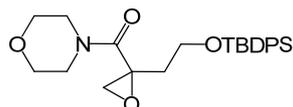


K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (160 mg, 1.16 mmol), **51** (150 mg, 0.39 mmol), Xantphos (12.9 mg, 19 μmol), Pd(OAc)<sub>2</sub> (4.4 mg, 19 μmol) und Morpholin (35 μL, 35 mg, 0.40 mmol) wurden in 3.5 mL THF gelöst. Während 5 min wurde bei 0 °C Kohlenstoffmonoxid blasenweise durch die Suspension gelassen. Das Eisbad wurde entfernt, und mit einem doppelten Ballon wurde ein geringer Kohlenstoffmonoxid-Druck aufrecht erhalten. Die Suspension wurde auf 70 °C erhitzt, wobei sie sich von anfangs grün bis zum Ende der Reaktion (ca. 3 Std.) hin schwarz färbte. Die Suspension wurde *in vacuo* eingengt und chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 1:1). Ausbeute: 140 mg (86%). Farbloses Öl.

$R_f$  = 0.24 (Isohexan:AcOEt 4:6); IR: 3070 $w$ , 2957 $m$ , 2929 $m$ , 2894 $m$ , 2855 $m$ , 1645 $m$ , 1620 $s$ , 1459 $m$ , 1427 $s$ , 1361 $m$ , 1301 $m$ , 1270 $m$ , 1224 $m$ , 1182 $m$ , 1111 $s$ , 1087 $s$ , 1027 $s$ , 916 $m$ , 822 $m$ , 737 $s$ , 700 $s$ , 612 $m$ ; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.03 (*s*, 9 H, *t*Bu), 2.51 (*t*,  $J$  = 6.28 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.58 (*bs*, 8 H, CH<sub>2</sub>(Morpholin)), 3.78 (*t*,  $J$  = 6.29 Hz, 2 H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 5.08-5.11 (*m*, 1 H, H<sub>a</sub>(=CH<sub>2</sub>)), 5.26-5.28 (*m*, 1 H, H<sub>b</sub>(=CH<sub>2</sub>)), 7.33-7.44 (*m*, 6 H, CH(arom., *meta/para*)), 7.61-7.66 (*m*, 4 H, CH(arom., *ortho*)); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 19.31, 26.98 (3×), 37.64, 47.65, 42.07, 61.92, 67.05 (2×),

116.84, 127.84 (4×), 129.88 (2×), 133.64 (2×), 135.62 (4×), 141.54, 170.70; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_3\text{Si}+\text{H}]^+$ : 424.2302; gefunden 424.2289.

**(2-(2-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl)oxiran-2-yl)(morpholino)methanon (54)**



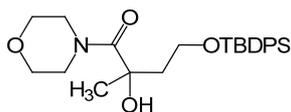
Herstellung von Dimethyldioxiran (DMDO):<sup>[271]</sup> Zu einer Suspension von 29 g  $\text{NaHCO}_3$  in 127 mL  $\text{H}_2\text{O}$  und 96 mL Aceton wurde bei 0 °C Oxone® (12 g) gegeben. Nach 10 min wurde das Eisbad entfernt, und das DMDO/Aceton-Gemisch wurde im Wasserstrahlpumpen-Vakuum per Etherbrücke bei -78 °C von der Suspension getrennt. In 25 min-Abständen wurde erneut jeweils 12 g Oxone® (3×) zugegeben. Schließlich wurde der Rückstand mit ges.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lsg. gequenchet. Die Konzentration von DMDO im Destillat wurde iodometrisch bestimmt. Dabei wurde zu einer Lösung von 10 g NaI in 70 mL  $\text{H}_2\text{O}$  und 1 mL AcOH wurden 2 mL der DMDO/Aceton-Lsg. gegeben. Sofort wurde zu der gelben Lösung so viel einer wässrigen 0.02 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lsg. titriert, bis die gelbe Farbe verschwand. Damit ließ sich die Konzentration des DMDOs bei 0.075 M bestimmen.

Epoxidierung: Das  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Amid **53** (294 mg, 0.69 mmol) wurde in 90 mL einer DMDO/Aceton-Lsg. (0.075 M) für 72 Std. bei 22 °C gerührt. Der Fortschritt der Reaktion wurde mittels *np*-HPLC verfolgt ( $R_T = 30$  min, Lösungsmittel.: Heptan/AcOEt, Gradient: 0% → 70% AcOEt in 45 min). Nach vollständiger Umsetzung wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand wurde in Isohexan gelöst, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, erneut *in vacuo* eingeeengt und chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 4:6). Ausbeute: 164 mg (54%). Farbloses Öl:

$R_f = 0.31$  (Isohexan:AcOEt 1:1); IR: 3049 $w$ , 2960 $m$ , 2928 $m$ , 2855 $m$ , 1643 $s$ , 1462 $m$ , 1426 $s$ , 1389 $m$ , 1360 $m$ , 1262 $m$ , 1224 $m$ , 1176 $m$ , 1111 $s$ , 1067 $s$ , 1027 $m$ , 944 $m$ , 915 $w$ , 873 $w$ , 822 $m$ , 738 $m$ , 700 $s$ , 687 $s$ , 612 $s$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.02 (s, 9 H, *t*Bu), 2.01 (*dt*,  $J = 13.98, 6.56$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 2.06 (*dt*,  $J = 14.36, 6.31$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 2.88 (*d*,  $J = 5.03$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2(\text{Oxiran}))$ ), 2.90 (*d*,  $J = 5.03$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2(\text{Oxiran}))$ ), 3.45-3.74 (*m*, 8 H,  $\text{CH}_2(\text{Morpholin})$ ), 3.76 (*t*,  $J = 6.42$  Hz, 2 H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 7.35-7.80 (*m*, 4 H, CH(arom., *meta*)), 7.40-7.43 (*m*, 2 H, CH(arom., *para*)), 7.62-7.64 (*m*, 4 H, CH(arom., *ortho*));  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.31, 27.03 (3×), 36.40, 42.50, 46.09, 52.01, 58.11, 59.86, 66.98, 67.11, 127.96 (2×), 127.97 (2×), 130.01 (2×), 133.53, 133.54, 135.74 (2×), 135.77 (2×), 167.98; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_4\text{Si}+\text{H}]^+$ : 440.2252; gefunden 440.2239.

**4-((*tert*-Butyldiphenylsilyl)oxy)-2-hydroxy-2-methyl-1-morpholinobutan-1-on (55)**

## 5. Experimentalteil



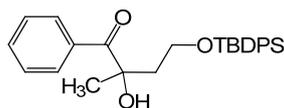
**Variante A:** Zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension von  $\text{Mn}(\text{dpm})_3$  (28 mg, 47  $\mu\text{mol}$ ) in 1.9 mL *i*PrOH wurde eine Lösung aus **53** in 2.9 mL *i*PrOH getropft und sofort unter  $\text{O}_2$  (Ballon) gesetzt. Anschließend wurde Phenylsilan (230  $\mu\text{L}$ , 202 mg, 1.86 mmol) zugegeben. Nach 31 Std. bei 0 °C wurde die Reaktion mit ges.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lsg. gestoppt und mit  $\text{Et}_2\text{O}$  verdünnt. Das Gemisch wurde je einmal mit Wasser und ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 1:1). Ausbeute: 317 mg (77%). Farbloses Öl.

**Variante B:** Eine  $\text{SmI}_2$ -Lsg. (0.1 M in THF, 4.55 mL, 455  $\mu\text{mol}$ ) wurde mit wenig MeOH (675  $\mu\text{L}$ ) und THF (138  $\mu\text{L}$ ) verdünnt und zu einer Lösung aus **54** (50 mg, 0.11 mmol in 0.55 mL THF) gegeben. Die Reaktion wurde nach 1 Std. mit 0.1 N HCl gestoppt, mit AcOEt verdünnt, mit Wasser und ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 1:1). Ausbeute 16 mg (33%). Farbloses Öl.

**Variante C:** Zu einer Lösung des Epoxids **54** (50 mg, 0.11 mmol) in 1 mL THF wurde bei 0 °C L-Selectride® (1 M in THF, 125  $\mu\text{L}$ , 125  $\mu\text{mol}$ ) zugetropft. Nach 1 Std. wurde die Reaktion durch Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  gequencht und anschließend mit  $\text{Et}_2\text{O}$  verdünnt. Das Gemisch wurde mit Wasser und ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:AcOEt 1:1). Ausbeute 12 mg (24%). Farbloses Öl.

$R_f = 0.31$  (Isohexan:AcOEt 1:1); IR: 3431 $m$ , 3070 $w$ , 3047 $w$ , 2958 $m$ , 2929 $m$ , 2889 $m$ , 2855 $m$ , 1624 $s$ , 1471 $m$ , 1426 $m$ , 1389 $m$ , 1361 $m$ , 1300 $w$ , 1268 $m$ , 1174 $m$ , 1111 $s$ , 1088 $s$ , 1067 $s$ , 1037 $s$ , 982 $m$ , 902 $m$ , 848 $m$ , 822 $s$ , 737 $s$ , 700 $s$ , 687 $s$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.05 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.44 (*s*, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 2.93 (*ddd*,  $J = 14.16, 8.92, 5.23$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 2.24 (*dt*,  $J = 14.28, 4.44$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 3.59-3.77 (*m*, 8 H,  $\text{CH}_2(\text{Morpholin})$ ), 3.80-3.87 (*m*, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ ), 4.07 (*ddd*,  $J = 10.53, 8.88, 4.14$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O})$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.08, 26.88 (3 $\times$ ), 27.31, 41.36, 43.97, 47.42, 62.50, 67.07 (2 $\times$ ), 76.98, 127.89 (2 $\times$ ), 127.90 (2 $\times$ ), 130.01, 130.02, 132.62, 132.66, 135.53 (2 $\times$ ), 135.55 (2 $\times$ ), 173.97; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{Si}+\text{H}]^+$ : 442.2408; gefunden 442.2401.

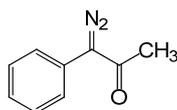
**4-*O*-*tert*-Butyldiphenylsilyl-2,4-dihydroxy-2-methyl-1-phenylbutan-1-on (56)**<sup>[214]</sup>



Eine Lösung aus **52** (51 mg, 0.12 mmol) in *i*PrOH (1 mL) wurde zu einer auf 0 °C gekühlten Suspension aus Mn(dpm)<sub>3</sub> (3.7 mg, 6 μmol) in *i*PrOH (250 μL) gegeben. PhSiH<sub>3</sub> (30 μL, 0.25 mmol) wurde zugetropft und O<sub>2</sub> wurde für 45 min bei 0 °C blasenweise durch die Lösung gelassen. Anschließend wurde P(OEt)<sub>3</sub> (24 μL, 0.14 mmol) zugegeben. Nach 1 Std. bei 0 °C wurde die Reaktion durch Zugabe einer wässrigen ges. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lsg. gequencht. Das Gemisch wurde mit Ether extrahiert, die organische Phase mehrfach mit Wasser gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, eingengt und chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, Isohexan:AcOEt 96:4). Ausbeute: 34 mg (64%). Farbloses Öl.

$R_f = 0.26$  (Isohexan:AcOEt 93:7); IR: 3453<sub>w</sub>, 3071<sub>w</sub>, 2961<sub>w</sub>, 2931<sub>w</sub>, 2888<sub>w</sub>, 2858<sub>w</sub>, 1717<sub>m</sub>, 1669<sub>m</sub>, 1580<sub>w</sub>, 1472<sub>w</sub>, 1428<sub>m</sub>, 1363<sub>w</sub>, 1167<sub>m</sub>, 1111<sub>s</sub>, 1087<sub>s</sub>, 904<sub>s</sub>, 822<sub>m</sub>, 726<sub>s</sub>, 700<sub>s</sub>, 648<sub>s</sub>, 615<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 0.87 (*s*, 9 H, *t*Bu), 1.59 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.12 (*ddd*,  $J = 14.42, 6.76, 5.43$  Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)), 2.47 (*ddd*,  $J = 14.41, 5.83, 4.87$  Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)), 3.80-3.85 (*m*, 2 H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 5.05 (*s*, 1 H, OH), 7.26-7.70 (*m*, 13 H, CH(arom.)), 8.13-8.17 (*m*, 2 H, CH(Phenon, *ortho*)); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 18.86, 26.58 (3×), 28.24, 42.07, 61.21, 79.72, 127.70, 127.76, 128.18, 129.76, 129.82, 130.15 (3×), 132.64 (2×), 132.67, 135.03 (2×), 135.46 (2×), 135.52 (2×), 135.56, 204.87; MS (ESI): berechnet für [C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>Si+H]<sup>+</sup>: 433.2193; gefunden 433.2181.

### 1-Diazo-1-phenylpropan-2-on (**58**)<sup>[278]</sup>



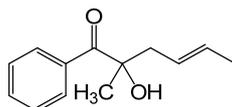
Natrium (471 mg, 20.5 mmol) wurde portionsweise zu 20 mL gekühltem Ethanol (0 °C) gegeben. Nachdem alles Natrium reagiert hatte, wurden 2.5 mL Phenylacetone (2.5 g, 18.6 mmol) zugetropft. Die Lösung wurde via Kanüle in eine auf -15 °C gekühlte Lösung von *p*-ABSA (5.4 g, 22.3 mmol) in 15 mL EtOH überführt, wobei die Temperatur 0 °C nicht überstieg. Nach 10 min wurde 130 mL H<sub>2</sub>O zugegeben und das Gemisch wurde mit Ether (2 × 80 mL) extrahiert. Das Produkt kristallisierte bei -18 °C aus. Ausbeute: 1.06 g (36 %). Orangefarbene Kristalle.

Schmp.: 45 – 50 °C. IR: 3324<sub>wb</sub>, 3053<sub>w</sub>, 3034<sub>w</sub>, 2555<sub>w</sub>, 2371<sub>w</sub>, 2276<sub>w</sub>, 2126<sub>w</sub>, 2070<sub>sb</sub>, 1810<sub>wb</sub>, 1705<sub>wb</sub>, 1625<sub>sb</sub>, 1593<sub>s</sub>, 1573<sub>m</sub>, 1528<sub>m</sub>, 1496<sub>s</sub>, 1449<sub>w</sub>, 1427<sub>w</sub>, 1403<sub>w</sub>, 1368<sub>s</sub>, 1352<sub>m</sub>, 1323<sub>s</sub>, 1284<sub>m</sub>, 1234<sub>s</sub>, 1189<sub>m</sub>, 1163<sub>s</sub>, 1138<sub>m</sub>, 1088<sub>w</sub>, 1080<sub>w</sub>, 1032<sub>w</sub>, 1021<sub>m</sub>, 1008<sub>s</sub>, 997<sub>m</sub>, 967<sub>w</sub>, 908<sub>s</sub>, 841<sub>w</sub>, 792<sub>w</sub>, 753<sub>s</sub>, 695<sub>s</sub>, 634<sub>w</sub>, 620<sub>m</sub>, 607<sub>s</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.38 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 7.37-7.52 (*m*, 5 H,

## 5. Experimentalteil

CH(arom., Phenyl));  $^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 26.78, 129.03 (5 $\times$ ), 133.35, 190.00, 205.47; MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}+\text{NH}_4]^+$ : 133.0659; gefunden 133.0659.

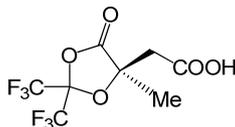
### (*E*)-2-Hydroxy-2-methyl-1-phenylhex-4-en-1-on (61)<sup>[278]</sup>



$\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$  (3 mg, cat.) wurde zu einer Lösung aus 3-Buten-2-ol (220  $\mu\text{L}$ , 177 mg, 2.5 mmol) und **58** (306 mg, 1.9 mmol) in 21 mL Benzol gegeben. Das Gemisch wurde sofort in einem auf 100 °C vorgeheiztem Ölbad für 5 min erhitzt und schließlich bei 40 °C *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , Isohexan:EtOAc, 98:2). Ausbeute: 202 mg (52%). Farbloses Öl.

$R_f = 0.47$  (Isohexan:AcOEt 98:2); IR: 3450 $w$ b, 3059 $w$ , 3026 $w$ , 2973 $w$ , 2935 $w$ , 1718 $m$ , 1669 $s$ , 1597 $m$ , 1577 $w$ , 1447 $m$ , 1373 $m$ , 1315 $w$ , 1261 $s$ , 1228 $m$ , 1210 $m$ , 1158 $s$ , 1107 $m$ b, 1076 $m$ , 1059 $m$ , 1002 $m$ , 970 $s$ , 944 $s$ , 850 $w$ , 795 $w$ , 764 $w$ , 713 $s$ , 695 $s$ , 650 $w$ , 637 $w$ ;  $^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.53 (*s*, 6 H, 2 $\times$   $\text{CH}_3$ ), 2.47 (*dd*,  $J = 14.0, 7.1$  Hz, 1 H,  $\text{H}_b(\text{CH}_2)$ ), 2.68 (*dd*,  $J = 14.4, 5.7$  Hz, 1 H,  $\text{H}_a(\text{CH}_2)$ ), 5.23-5.44 (*m*, 2 H, 1  $\times$  *CH* (2), 1  $\times$  *CH* (3)), 7.36-7.52 (*m*, 3 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, \textit{meta})$ ,  $\text{CH}(\text{arom.}, \textit{para})$ ), 7.92-7.95 (*m*, 2 H,  $\text{CH}(\text{arom.}, \textit{ortho})$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 18.01, 26.77, 44.32, 78.96, 124.55, 128.39 (2 $\times$ ), 129.51 (2 $\times$ ), 130.28, 132.81, 134.59, 204.50; MS (EI): berechnet für  $[\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_2+\text{H}]^+$ : 205.1223; gefunden 205.1237.

### (*R*)-2-(4-Methyl-5-oxo-2,2-bis(trifluormethyl)-1,3-dioxolan-4-yl)essigsäure (65)<sup>[280]</sup>

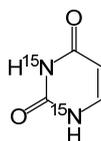


D-(-)-Citramalsäure (2 g, 13.45 mmol) wurde in einen Hochdruckautoklaven gefüllt, in 8 mL DMSO gelöst und auf -78 °C gekühlt.  $(\text{CF}_3)_2\text{CO}$ -Gas (10 g, 60.23 mmol) wurde in den Autoklaven kondensiert, der Autoklave wurde anschließend abgedichtet und die Reaktion 18 Std. bei 22 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  gestoppt und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  verdünnt. Das Gemisch wurde drei Mal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert und anschließend die vereinigten organischen Phasen drei Mal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der rote

Rückstand wurde chromatographisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  9:1). Ausbeute 1.73 g (45%). Farbloser Feststoff.

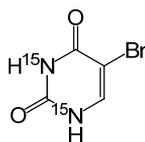
Schmp.: 57.1 - 58.9 °C. IR: 3000 $bw$ , 1842 $s$ , 1723 $s$ , 1436 $w$ , 1384 $w$ , 1284 $m$ , 1231 $s$ , 1172 $s$ , 1123 $s$ , 1099 $s$ , 1018 $m$ , 977 $s$ , 908 $s$ , 733 $s$ , 721 $s$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.77 ( $s$ , 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 2.92 ( $s$ , 2 H,  $\text{CH}_2$ ), 10.96 ( $bs$ , 1 H,  $\text{COOH}$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 22.82, 41.86, 79.26, 97.24 ( $sept$ ,  $J = 36$  Hz), 118.88 ( $q$ ,  $J = 288$  Hz), 119.02 ( $q$ ,  $J = 287$  Hz), 168.80, 173.07;  $^{19}\text{F-NMR}$  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : -80.50 bis -80.40 ( $m$ ), -80.31 bis -80.21 ( $m$ ); MS (ESI): berechnet für  $[\text{C}_8\text{H}_6\text{F}_6\text{O}_5\text{-H}]^-$ : 295.0047; gefunden 295.0064.

### Uracil- $^{15}\text{N}_2$ (70)<sup>[290]</sup>



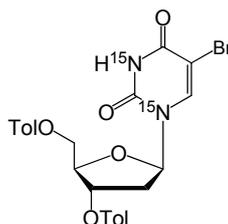
Harnstoff- $^{15}\text{N}_2$  (98 atom %  $^{15}\text{N}$ , 2.04 g, 32.9 mmol) und Acetylcarnsäure (2.33 g, 33.2 mmol) wurden zu 60 g Polyphosphorsäure ( $\geq 83\%$  Phosphat in Form von  $\text{P}_2\text{O}_3$ ) gegeben und mit einem KPG-Rührer für 4.5 Std. bei 90 °C gerührt. Die dickflüssige Masse wurde anschließend auf -15 °C gekühlt und mit 110 mL  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und in 120 mL kochendem Wasser gelöst. Die warme Lösung wurde *in vacuo* auf ca. 90 mL eingengt, wobei ein orangefarbener Niederschlag entstand. Dieser wurde sofort abfiltriert, dabei kristallisierte im Filtrat das crème-farbige Produkt (1.4 g) aus. Durch wiederholtes Einengen (2 $\times$ ) und Kristallisation bei 0 °C bzw. -20 °C konnte noch mehr Produkt isoliert werden (201 mg und 418 mg). Ausbeute: 2.02 g (54%). Beige-farbiger Farbstoff.

$R_f = 0.48$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  85:15); Schmp.: Zers. > 295 °C; IR: 3078 $m$ , 2918 $m$ , 2793 $m$ , 2717 $w$ , 1753 $m$ , 1707 $s$ , 1659 $s$ , 1496 $m$ , 1446 $s$ , 1410 $s$ , 1386 $m$ , 1226 $s$ , 1088 $w$ , 994 $m$ , 977 $m$ , 844 $s$ , 819 $s$ , 802 $s$ , 778 $s$ , 754 $s$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 5.39-5.44 ( $m$ , 1 H, HC(5)), 7.35 ( $ddd$ ,  $J = 7.63, 5.74, 3.52$  Hz, 1 H, HC(6)), 10.75 ( $dddd$ ,  $J = 95.35, 5.59, 3.38, 2.00$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{15}\text{N}(1)$ ), 10.95 ( $dq$ ,  $J = 89.92, 1.99$  Hz, 1 H,  $\text{H}^{15}\text{N}(3)$ );  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 100.26 ( $d$ ,  $J = 6.23$  Hz), 142.20 ( $d$ ,  $J = 11.06$  Hz), 151.54 ( $dd$ ,  $J = 18.50, 16.29$  Hz), 164.38 ( $d$ ,  $J = 8.95$  Hz);  $^{15}\text{N-NMR}$  (40 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : -248.40 ( $d$ ,  $J = 2.68$  Hz), -220.95 ( $d$ ,  $J = 2.72$  Hz); MS (EI): berechnet für  $[\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2\text{ }^{15}\text{N}_2]^+$ : 114.0208; gefunden 114.0209.

**5-Brom-uracil-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> (71)<sup>[242]</sup>**

Uracil-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> **70** (1.48 g, 13.0 mmol), LiBr (1.35 g, 15.6 mmol) und Ce(NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> (14.2 g, 26.0 mmol, vor Verwendung 18 Std. im Hochvakuum getrocknet) wurden in 80 mL MeOH suspendiert und bei 70 °C für 1 Std. gerührt. Die Suspension wurde *in vacuo* eingengt, zweimal mit H<sub>2</sub>O/EtOH (1:1) coevaporiert. Der Rückstand wurde in 150 mL heissem Wasser suspendiert, und ungelöste Feststoffe wurden durch Heiss-Filtration entfernt. Das Produkt kristallisierte im Filtrat aus. Ausbeute: 1.76 g (70%). Farbloser Feststoff.

$R_f = 0.55$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 85:15); Schmp.: Zers. > 295 °C; IR: 3149 $m$ , 3049 $m$ , 2907 $m$ , 2795 $m$ , 1762 $w$ , 1695 $s$ , 1661 $s$ , 1618 $s$ , 1491 $m$ , 1432 $s$ , 1412 $m$ , 1339 $m$ , 1241 $w$ , 1220 $s$ , 1153 $m$ , 1051 $m$ , 986 $w$ , 943 $m$ , 851 $s$ , 777 $s$ , 750 $s$ , 639 $s$ ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.88 (*dd*,  $J = 5.6, 2.9$  Hz, 1 H, HC(6)), 11.21 (*dd*,  $J = 95.1, 5.6$  Hz, 1 H, H<sup>15</sup>N(1)), 11.49 (*d*,  $J = 89.9$ , 1 H, H<sup>15</sup>N(3)); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 94.46 (*dd*,  $J = 8.85, 0.30$  Hz), 142.20 (*d*,  $J = 10.96$  Hz), 150.85 (*dd*,  $J = 18.40, 16.49$  Hz), 160.11 (*d*,  $J = 10.66$  Hz); <sup>15</sup>N-NMR (40 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : -244.74 (*d*,  $J = 2.84$  Hz), -222.53 (*d*,  $J = 2.39$  Hz); MS (EI): berechnet für [C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>Br<sup>15</sup>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>: 191.9319; gefunden 191.9309.

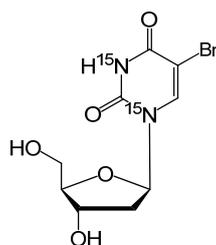
**5-Brom-5',3'-bis-*O*-*para*-toluoyl-2'-desoxyuridin-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> (72)**

Zu **71** (1.68 g, 8.69 mmol) wurden 6 mL HMDS und 0.6 mL TMS-Cl gegeben. Nach 2.5 Std. bei 125 °C wurde das Gemisch *in vacuo* eingengt. Der Rückstand und 3,5-Di-*O*-(*p*-Toluoyl)-2-desoxy-D-ribofuranosylchlorid (90%, 2.38 g, 5.79 mmol) wurden in 70 mL CHCl<sub>3</sub> gelöst und 3.5 Std. bei 22 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0.15 mL MeOH gequencht. Die organische Phase wurde mit H<sub>2</sub>O gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde in eine Glasfilternutsche überführt und mit AcOEt gewaschen, wobei das  $\beta$ -Isomer als Rückstand im Filter zurückbleibt. Ausbeute: 1.67 g (53%). Leicht rosafarbener Feststoff.

$R_f = 0.25$  (Isohexan:AcOEt 6:4); Schmp.: 200.8 - 203.7 °C; IR: 3213 $m$ , 3080 $w$ , 1721 $s$ , 1695 $s$ , 1623 $w$ , 1608 $m$ , 1438 $m$ , 1378 $w$ , 1299 $m$ , 1269 $s$ , 1198 $m$ , 1178 $m$ , 1123 $m$ , 1102 $s$ , 1078 $s$ , 1018 $m$ , 956 $m$ , 888 $w$ ,

878<sub>w</sub>, 789<sub>m</sub>, 752<sub>s</sub>, 691<sub>m</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2.19-2.38 (*m*, 1 H, H<sub>a</sub>C(2')), 2.41 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.42 (*s*, 3 H, CH<sub>3</sub>), 2.77 (*dd*, *J* = 14.40, 5.33, 1 H, H<sub>b</sub>C(2')), 4.54-4.58 (*m*, 1 H, HC(4')), 4.66-4.81 (*m*, 2 H, H<sub>2</sub>C(5')), 5.60 (*d*, *J* = 6.46, 1 H, HC(3')), 6.38 (*dd*, *J* = 7.52, 5.37 Hz, 1 H, HC(1')), 7.24 (*d*, *J* = 7.24 Hz, 4 H, HC(Toluoyl, *meta*)), 7.86-7.94 (*m*, 5 H, HC(6), HC(Toluoyl, *ortho/para*)), 9.26 (*d*, *J* = 91.65, 1 H, 2.58 Hz, <sup>15</sup>NH); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 21.86, 21.89, 38.74, 64.20, 74.97, 83.56, 85.99 (*d*, *J* = 12.07 Hz), 97.63 (*d*, *J* = 9.55 Hz), 126.35, 126.52, 129.44 (2×), 129.65 (2×), 129.76 (2×), 129.99 (2×), 138.62 (*d*, *J* = 12.67 Hz), 144.68, 144.74, 149.78 (*t*, *J* = 18.80 Hz), 159.04 (*d*, *J* = 10.86 Hz), 166.18, 166.27; <sup>15</sup>N-NMR (40 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: -233.69 (*d*, *J* = 3.08 Hz), -226.16 (*d*, *J* = 3.08 Hz); MS (ESI): berechnet für [C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>Br<sup>15</sup>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>+Na]<sup>+</sup>: 567.0522; gefunden 567.0525.

### 5-Brom-2'-desoxyuridin-<sup>15</sup>N<sub>2</sub> (73)



K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.02 g, 7.37 mmol) und **72** (1.34 g, 2.46 mmol) wurden in 25 mL MeOH suspendiert und für 18 Std. bei 22 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von festem NH<sub>4</sub>Cl gestoppt und in Silicagel aufgenommen. Das Pulver wurde chromatographisch gereinigt (SiO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 88:12). Ausbeute 717 mg (94%). Für eine analytische Probe wurde der farblose Feststoff mit wenig MeOH gewaschen.

*R*<sub>f</sub> = 0.24 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH 85:15); Schmp.: 185.4 – 185.7 °C; IR: 3403<sub>m</sub>, 3325<sub>m</sub>, 3010<sub>w</sub>, 2811<sub>w</sub>, 1675<sub>s</sub>, 1616<sub>s</sub>, 1443<sub>m</sub>, 1414<sub>m</sub>, 1339<sub>m</sub>, 1312<sub>w</sub>, 1295<sub>w</sub>, 1252<sub>s</sub>, 1200<sub>m</sub>, 1134<sub>w</sub>, 1102<sub>m</sub>, 1091<sub>m</sub>, 1053<sub>s</sub>, 1030<sub>m</sub>, 1005<sub>m</sub>, 989<sub>m</sub>, 956<sub>m</sub>, 918<sub>m</sub>, 907<sub>m</sub>, 876<sub>s</sub>, 758<sub>m</sub>, 744<sub>s</sub>, 663<sub>m</sub>, 637<sub>s</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2.08-2.19 (*m*, 2 H, H<sub>2</sub>C(2')), 3.57 (*dt*, *J* = 11.96, 3.51 Hz, 1 H, H<sub>a</sub>(C5')), 3.63 (*dt*, *J* = 11.62, 3.52 Hz, 1 H, H<sub>b</sub>(C5')), 3.79 (*q*, *J* = 3.23 Hz, 1 H, HC(4')), 4.24 (*s*, 1 H, HC(3')), 5.15 (*t*, *J* = 4.47 Hz, 1 H, HO(3')), 5.23 (*d*, *J* = 3.95 Hz, HO(5')), 6.10 (*td*, *J* = 6.54, 1.50 Hz, 1 H, HC(1')), 8.38 (*d*, *J* = 1.49 Hz, 1 H, HC(6)), 11.77 (*d*, *J* = 73.15 Hz, 1 H, H<sup>15</sup>N); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 40.18, 60.81, 69.96, 84.82 (*d*, *J* = 11.26 Hz), 87.56, 95.65 (*dd*, *J* = 8.95, 1.21 Hz), 140.25 (*d*, *J* = 12.47), 149.71 (*t*, *J* = 18.00 Hz), 159.13 (*d*, *J* = 10.86 Hz); <sup>15</sup>N-NMR (40 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: -228.64 (*d*, *J* = 2.72 Hz), -223.88 (*d*, *J* = 2.80 Hz); MS (ESI): berechnet für [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>Br<sup>15</sup>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-H]<sup>-</sup>: 306.9719; gefunden 306.9718.

## 6. Abkürzungen

1.	A	Adenosin
2.	Å	Ångström (1 Å = 10 <sup>-10</sup> m)
3.	Abs.	absolut
4.	Ac	Acetyl
5.	AcOEt	Essigester, Ethylacetat
6.	AcOH	Essigsäure
7.	AIBN	Azo-bis-(isobutyronitril)
8.	aq.	Wässrig
9.	ber.	berechnet
10.	BER	Basenexzisionsreparatur
11.	BPDE	7 <i>r</i> ,8 <i>t</i> -Dihydroxy- <i>t</i> 9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[ <i>a</i> ]pyren
12.	8-Br-dA	8-Brom-desoxyadenosin
13.	8-Br-dG	8-Brom-desoxyguanosin
14.	5-Br-dU	5-Brom-desoxyuridin
15.	5-Br-dU- <sup>15</sup> N <sub>2</sub>	zweifach <sup>15</sup> N Isotopen-markiertes 5-Brom-desoxyuridin
16.	BSA	<i>Bovine serum albumin</i> , Rinderserum
17.	BTT	5-Benzylthiotetrazol
18.	BuLi	Butyllithium
19.	Bz	Benzoyl
20.	Bzw.	beziehungsweise
21.	C	Cytosin
22.	CE	<i>capillary electrophoresis</i>
23.	CEDCI	Phosphorigsäure-mono-(2-cyanoethylester)-diisopropylamid-chlorid
24.	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Methylenchlorid
25.	COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
26.	Cp	Cyclopentyl
27.	CPD	Cyclobutan-Pyrimidin-Dimer
28.	CPG	<i>controlled pore glass</i>
29.	Cy	Cyclohexyl
30.	<i>d</i>	Dublett
31.	d	Tage
32.	dA	Desoxyadenosin
33.	Da	Dalton
34.	DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
35.	dC	Desoxycytidin

## 6. Abkürzungsverzeichnis

---

36.	DC	Dünnschichtchromatographie
37.	DCM	Dichlormethan
38.	DFT	Dichte-Funktional-Theorie
39.	dG	Desoxyguanosin
40.	DIEA	Diisopropylethylamin
41.	DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
42.	DMDO	Dimethyldioxiran
43.	DMF	Dimethylformamid
44.	DMSO	Dimethylsulfoxid
45.	DMT	4,4'-Dimethoxy-triphenyl-methyl
46.	DMTCl	4,4'-Dimethoxy-triphenyl-methyl-chlorid
47.	DMT-OTf	4,4'-Dimethoxy-triphenyl-methyl-triflat
48.	DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
49.	dpm	Dipivaloylmethanat
50.	dT	Desoxythymidin
51.	DTT	Dithiothreitol
52.	e <sup>-</sup>	Elektron
53.	e <sub>aq</sub> <sup>-</sup>	hydratisierte Elektronen
54.	EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
55.	EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
56.	Äquiv.	Äquivalent(e)
57.	ESI	Elektronensprayionisierung
58.	Et <sub>2</sub> O	Diethylether
59.	EtOH	Ethanol
60.	FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
61.	FADH <sup>-</sup>	doppelt reduziertes und deprotoniertes FAD
62.	5-F-dU	5-Fluor-desoxyuridin
63.	FTICR	<i>Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance</i>
64.	FT-IR	Fourier Transform Infrarot Spektroskopie
65.	G	Guanin
66.	gef.	gefunden
67.	ges.	gesättigt
68.	h	Stunde(n)
69.	HATU	<i>N</i> -[(Dimethylamino)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i> ]pyridin-1-ylmetylen]- <i>N</i> -methylaminium Hexafluorophosphat- <i>N</i> -oxid
70.	HBTU	<i>O</i> -Benzotriazole- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl-uronium-hexafluor-phosphat
71.	HMBC	<i>long range heteronuclear multiple quantum correlation</i>

## 6. Abkürzungsverzeichnis

---

72.	HMDS	Hexamethyldisilazan
73.	HMQC	<i>heteronuclear multiple quantum correlation</i>
74.	HOBt	Hydroxybenzotriazol
75.	HPA	3-Hydroxypicolinsäure
76.	HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
77.	HRMS	Hochaufgelöstes Massenspektrum
78.	Hz	Hertz
79.	<i>i</i> -Pr	<i>iso</i> -Propyl
80.	IR	Infrarot
81.	<i>J</i>	Kopplungskonstante
82.	KHMS	Kaliumhexamethyldisilazan
83.	konz.	konzentriert
84.	L	Liter
85.	LC-MS	Flüssigchromatographie mit anschließender Massenanalyse
86.	LDA	Lithiumdiisopropylamin
87.	LFP	Laser-Flash-Photolyse
88.	M	molar
89.	MALDI-TOF	<i>matrix assisted laser desorption ionisation – time of flight</i>
90.	Me	Methyl
91.	MeCN	Acetonitril
92.	MEM	Methoxyethoxymethyl
93.	MeOH	Methanol
94.	min	Minute(n)
95.	MS	Massenspektrum
96.	MSNT	1-(Mesitylen-2-sulfonyl)-3-nitro-1,2,4-triazol
97.	NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
98.	<i>np</i>	<i>normal phase</i> , Normalphase
99.	NOESY	<i>nuclear overhauser effect spectroscopy</i>
100.	NEt <sub>3</sub>	Triethylamin
101.	NMMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -Oxid
102.	NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
103.	<i>np</i> -HPLC	Normalphasen-HPLC
104.	<i>p</i> -ABSA	para-Acetamid-benzol-sulfonylazid
105.	PAA	Polyacrylamid
106.	Pac <sub>2</sub> O	Phenoxyessigsäureanhydrid
107.	Pent	Pentan
108.	PEPPSI-IPr	<i>Pyridin enhanced precatalyst preparation stabilization and initiation</i>

## 6. Abkürzungsverzeichnis

---

109.	PNA	Peptidnukleinsäure
110.	ppm	<i>parts per million</i>
111.	quant.	quantitativ
112.	R	Rest
113.	rel.	relativ
114.	$R_f$	Retentionsfaktor
115.	RNA	<i>ribonucleic acid</i>
116.	<i>rp</i>	<i>reversed phase</i> , Umkehrphase
117.	RT	Raumtemperatur
118.	s	Sekunde
119.	Smp.	Schmelzpunkt
120.	T	Temperatur
121.	TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
122.	TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
123.	TBDMSCl	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
124.	TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
125.	TBDPSCl	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilylchlorid
126.	TBS-OTf	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-Triflat
127.	TBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluorborat
128.	<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
129.	TESCl	Triethylsilylchlorid
130.	TFA	Trifluoressigsäure
131.	THF	Tetrahydrofuran
132.	TMS-OMe	Methoxytrimethylsilan
133.	<i>TOF</i>	<i>time of flight</i> , Flugzeit
134.	TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Tromethamin
135.	TT-Dimer	CPD Photoschaden
136.	U	Uracil
137.	UV	ultraviolett
138.	ü. N.	über Nacht
139.	Vis	<i>visible</i>
140.	<i>VP</i>	<i>varioprep</i>
141.	W	Watt
142.	z. B.	zum Beispiel

## 7. Röntgenstrukturdaten

### 7.1 Lacton 8

---

Kristalldaten und Messparameter für Lacton 8	
Summenformel	$C_5H_8O_3$
Molekulargewicht	116.1152 g/mol
Raumgruppe	P -1 (2) – triklin
a, b, c (Å)	a = 6.4160, b = 6.6424, c = 12.9377
$\alpha, \beta, \gamma$ (°)	$\alpha = 96.512, \beta = 94.886, \gamma = 91.056$
V (Å <sup>3</sup> )	545.61
Z	2
D <sub>ber.</sub> (g/cm <sup>3</sup> )	1.414
F(000)	248
Temperatur (K)	94
Strahlung $\lambda$ (Å)	MoK $\alpha$ , 0.71073
$\theta_{min}, \theta_{max}$ (°)	4.17, 30.09
h	-9 → 9
k	-9 → 9
l	-18 → 18
gemessene Reflexe	16773
unabhängige Reflexe	3202
R <sub>int</sub>	0.0267
beobachtete Reflexe [I > 2 $\sigma$ (I)]	2400
N <sub>Reflexe</sub> , N <sub>Parameter</sub>	3202, 209
R, $\omega R_2$ , S	0.0315, 0.0834, 1.077
$\Omega = 1/[\sigma^2(F_0^2) + (0,0535 \cdot P)^2]$	$P = (F_0^2 + 2 F_c^2)/3$

---

**Tabelle 15.** Kristallographische Daten und Messparameter.

## 7. Röntgenstrukturdaten

Atom	X	Y	Z	$U_{eq}$
C1	0.51319(15)	-0.28002(14)	0.60376(7)	0.01506(18)
C2	0.29677(14)	-0.18583(13)	0.59639(7)	0.01424(18)
C3	0.20003(16)	-0.26631(14)	0.68786(7)	0.01773(19)
C4	0.30387(15)	-0.46901(15)	0.69383(8)	0.0189(2)
C5	0.18437(16)	-0.26181(15)	0.49038(7)	0.01776(19)
C6	0.22775(15)	0.55642(14)	0.11819(7)	0.01667(19)
C7	0.05602(16)	0.81379(14)	0.20480(8)	0.0198(2)
C8	0.26620(16)	0.90259(15)	0.18339(7)	0.0190(2)
C9	0.32907(15)	0.75423(13)	0.09360(7)	0.01533(18)
C10	0.23557(17)	0.79916(15)	-0.01341(7)	0.0195(2)
O1	0.66835(11)	-0.22670(10)	0.56576(5)	0.02066(16)
O2	0.51292(11)	-0.43879(10)	0.65833(5)	0.01910(16)
O3	0.31487(11)	0.02790(9)	0.61198(5)	0.01884(16)
O4	0.27166(12)	0.38507(10)	0.08658(6)	0.02247(16)
O5	0.07359(11)	0.59391(10)	0.18036(5)	0.02052(16)
O6	0.54900(11)	0.73979(10)	0.09732(5)	0.01970(16)

**Tabelle 16.** Atomkoordinaten und äquivalente anisotrope Temperaturfaktoren.

Atom	X	Y	Z	$U_{iso}$
H3	0.333(2)	0.074(2)	0.5528(11)	0.034(3)
H6	0.588(3)	0.687(3)	0.0355(13)	0.057(5)
H31	0.2392(19)	-0.1725(17)	0.7508(9)	0.020(3)
H32	0.048(2)	-0.2818(17)	0.6777(8)	0.020(3)
H41	0.2321(19)	-0.5811(18)	0.6440(9)	0.020(3)
H42	0.3321(19)	-0.5149(17)	0.7637(9)	0.022(3)
H51	0.262(2)	-0.2180(19)	0.4354(10)	0.031(3)
H52	0.043(2)	-0.2014(19)	0.4870(10)	0.028(3)
H53	0.170(2)	-0.4126(19)	0.4804(9)	0.024(3)
H71	-0.0630(19)	0.8576(17)	0.1581(9)	0.020(3)
H72	0.0228(19)	0.8386(18)	0.2761(9)	0.025(3)
H81	0.252(2)	1.041(2)	0.1661(9)	0.027(3)
H82	0.371(2)	0.8986(18)	0.2429(10)	0.028(3)
H101	0.299(2)	0.929(2)	-0.0287(9)	0.031(3)
H102	0.268(2)	0.6899(18)	-0.0682(9)	0.025(3)
H103	0.086(2)	0.8091(17)	-0.0154(9)	0.023(3)

**Tabelle 17.** Atomkoordinaten und isotrope Temperaturfaktoren für H-Atome (Å).

## 7. Röntgenstrukturdaten

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>23</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>12</sub>
C1	0.0155(4)	0.0154(4)	0.0141(4)	0.0015(3)	0.0003(3)	0.0003(3)
C2	0.0133(4)	0.0132(4)	0.0165(4)	0.0021(3)	0.0021(3)	0.0016(3)
C3	0.0178(5)	0.0188(4)	0.0179(4)	0.0044(3)	0.0056(3)	0.0033(3)
C4	0.0172(5)	0.0194(5)	0.0221(5)	0.0074(4)	0.0063(4)	0.0022(4)
C5	0.0148(5)	0.0196(5)	0.0185(4)	0.0018(3)	0.0001(3)	0.0014(3)
C6	0.0134(4)	0.0181(4)	0.0190(4)	0.0049(3)	0.0008(3)	-0.0003(3)
C7	0.0201(5)	0.0180(5)	0.0216(5)	0.0013(4)	0.0038(4)	0.0035(4)
C8	0.0199(5)	0.0170(5)	0.0194(4)	0.0010(3)	0.0004(4)	-0.0005(4)
C9	0.0133(4)	0.0150(4)	0.0178(4)	0.0034(3)	0.0008(3)	-0.0008(3)
C10	0.0199(5)	0.0203(5)	0.0187(4)	0.0055(4)	-0.0006(4)	-0.0005(4)
O1	0.0153(4)	0.0238(4)	0.0243(3)	0.0072(3)	0.0045(3)	0.0006(3)
O2	0.0164(4)	0.0201(3)	0.0228(3)	0.0088(3)	0.0044(3)	0.0046(3)
O3	0.0245(4)	0.0128(3)	0.0193(3)	0.0021(3)	0.0021(3)	0.0014(3)
O4	0.0230(4)	0.0156(3)	0.0298(4)	0.0031(3)	0.0071(3)	0.0010(3)
O5	0.0183(4)	0.0185(3)	0.0263(3)	0.0044(3)	0.0080(3)	0.0006(3)
O6	0.0127(3)	0.0245(4)	0.0221(3)	0.0044(3)	0.0013(3)	-0.0015(3)

**Tabelle 18.** Bindungslängen (Å) von Lacton **8**.

Atom 1	Atom 2	Abstand	Atom 1	Atom 2	Abstand
C2	C5	1.5221(13)	C8	H82	0.982(13)
C2	C3	1.5258(13)	C8	H81	0.976(13)
C2	C1	1.5335(13)	C9	C10	1.5245(13)
C3	C4	1.5201(13)	C10	H102	0.993(12)
C3	H32	0.974(13)	C10	H103	0.964(13)
C3	H31	0.979(12)	C10	H101	0.991(14)
C4	H42	0.989(11)	O1	C1	1.2117(12)
C4	H41	1.005(12)	O2	C1	1.3341(11)
C5	H53	0.997(12)	O2	C4	1.4718(12)
C5	H51	0.970(14)	O3	C2	1.4123(11)
C5	H52	0.997(13)	O3	H3	0.874(14)
C6	C9	1.5326(13)	O4	C6	1.2116(11)
C7	H71	1.001(12)	O5	C6	1.3365(11)
C7	H72	0.962(12)	O5	C7	1.4674(11)
C8	C7	1.5213(14)	O6	C9	1.4132(11)
C8	C9	1.5226(13)	O6	H6	0.895(17)

**Tabelle 19.** Bindungslängen (Å) von Lacton **8**.

## 7. Röntgenstrukturdaten

Atom 1	Atom 2	Atom 3	Winkel	Atom 1	Atom 2	Atom 3	Winkel
C1	O2	C4	109.76(7)	C10	C9	C6	108.23(8)
C2	O3	H3	109.7(8)	H102	C10	H103	108.0(10)
C2	C3	H32	113.4(7)	H102	C10	H101	108.8(10)
C2	C3	H31	108.2(7)	H103	C10	H101	110.0(10)
C2	C5	H53	111.4(7)	H32	C3	H31	109.3(9)
C2	C5	H51	109.7(8)	H42	C4	H41	110.0(10)
C2	C5	H52	107.6(7)	H51	C5	H52	109.3(11)
C3	C2	C1	101.17(7)	H53	C5	H51	108.8(10)
C3	C4	H42	117.6(6)	H53	C5	H52	109.9(11)
C3	C4	H41	112.8(7)	H71	C7	H72	109.0(10)
C4	C3	C2	102.73(7)	H82	C8	H81	110.2(10)
C4	C3	H32	111.8(7)	O1	C1	O2	121.73(8)
C4	C3	H31	111.3(7)	O1	C1	C2	127.36(8)
C5	C2	C3	113.71(8)	O2	C1	C2	110.90(8)
C5	C2	C1	108.37(7)	O2	C4	C3	104.60(7)
C6	O5	C7	109.32(7)	O2	C4	H42	104.3(7)
C7	C8	C9	102.32(8)	O2	C4	H41	106.5(7)
C7	C8	H82	111.6(8)	O3	C2	C5	111.81(7)
C7	C8	H81	110.9(8)	O3	C2	C3	110.49(7)
C8	C9	C10	113.67(8)	O3	C2	C1	110.78(7)
C8	C9	C6	101.07(7)	O4	C6	O5	121.72(9)
C8	C7	H71	112.8(7)	O4	C6	C9	127.30(9)
C8	C7	H72	114.9(8)	O5	C6	C9	110.96(8)
C9	O6	H6	110.8(11)	O5	C7	C8	104.86(7)
C9	C8	H82	108.0(7)	O5	C7	H71	107.7(7)
C9	C8	H81	113.7(7)	O5	C7	H72	107.3(7)
C9	C10	H102	110.5(7)	O6	C9	C8	110.82(7)
C9	C10	H103	111.3(7)	O6	C9	C10	111.75(8)
C9	C10	H101	108.2(7)	O6	C9	C6	110.76(7)

**Tabelle 20.** Bindungswinkel (°) von *Lacton 8*.

Winkel-bildende Atome

Winkel

Winkel-bildende Atome

Winkel

## 7. Röntgenstrukturdaten

1	2	3	4		1	2	3	4	
C1	C2	C3	C4	0.8(7)	C12	C18	C19	O6	-30.5(6)
C1	C7	C8	O2	24.7(5)	C13	C14	C15	C16	0.4(9)
C1	C7	C8	C11	-93.8(5)	C13	C12	C17	C16	-0.4(10)
C1	C7	C8	C9	147.1(4)	C13	C12	C18	O5	154.1(6)
C2	C3	C4	C5	-1.1(7)	C13	C12	C18	C19	-23.5(9)
C2	C1	C6	C5	-0.1(7)	C14	C15	C16	C17	0.4(11)
C2	C1	C7	O1	-149.9(4)	C15	C16	C17	C12	-0.4(12)
C2	C1	C7	C8	28.6(6)	C17	C12	C13	C14	1.1(9)
C21	C19	C20	C22	177.4(5)	C17	C12	C18	O5	-20.6(9)
C3	C4	C5	C6	0.8(8)	C17	C12	C18	C19	161.8(5)
C4	C5	C6	C1	-0.2(8)	C18	C12	C13	C14	-173.3(5)
C6	C1	C2	C3	-0.2(6)	C18	C12	C17	C16	174.9(6)
C6	C1	C7	O1	29.4(6)	C18	C19	C20	C22	52.7(7)
C6	C1	C7	C8	-152.1(4)	C19	C20	C22	O7	8.9(7)
C7	C1	C2	C3	179.0(4)	C19	C20	C22	O8	-170.9(4)
C7	C1	C6	C5	-179.4(4)	O1	C7	C8	O2	-156.8(4)
C7	C8	C9	C10	-63.0(5)	O1	C7	C8	C11	84.7(5)
C8	C9	C10	O4	-4.6(7)	O1	C7	C8	C9	-34.4(5)
C8	C9	C10	O3	178.2(4)	O2	C8	C9	C10	61.1(5)
C11	C8	C9	C10	178.4(5)	O5	C18	C19	C20	33.1(6)
C12	C13	C14	C15	-1.1(8)	O5	C18	C19	C21	-91.1(6)
C12	C18	C19	C20	-148.8(5)	O5	C18	C19	O6	151.5(4)
C12	C18	C19	C21	86.9(6)	O6	C19	C20	C22	-67.8(5)

*Tabelle 21. Torsionswinkel (°) von Lacton 8.*

## 7.2 Carbonsäure 10

## 7. Röntgenstrukturdaten

---

### Kristalldaten und Messparameter für Carbonsäure **10**

---

Summenformel	$C_{11}H_{11}O_4$
Molekulargewicht	192.2112 g/mol
Raumgruppe	P -1 (2) – triklin
a, b, c (Å)	a = 10.0289, b = 10.9548, c = 11.1815
$\alpha, \beta, \gamma$ (°)	$\alpha = 112.90, \beta = 111.68, \gamma = 91.11$
V (Å <sup>3</sup> )	1032.25
Z	4
$D_{\text{ber.}}$ (g/cm <sup>3</sup> )	1.56501
F(000)	510
Temperatur (K)	293
Strahlung $\lambda$ (Å)	MoK $\alpha$ , 0.71073
$\theta_{\text{min}}, \theta_{\text{max}}$ (°)	3.77, 25.00
h	-11 → 11
k	-13 → 13
l	-13 → 13
gemessene Reflexe	9325
unabhängige Reflexe	3608
$R_{\text{int}}$	0.0555
beobachtete Reflexe [ $I > 2\sigma(I)$ ]	1686
$N_{\text{Reflexe}}, N_{\text{Parameter}}$	3608, 356
$R, \omega R_2, S$	0.0702, 0.1739, 1.009
$\Omega = 1/[\sigma^2(F_0^2) + (0,1163 \cdot P)^2]$	$P = (F_0^2 + 2 F_c^2)/3$

---

**Tabelle 22.** Kristallographische Daten und Messparameter.

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{eq}}$
C1	0.6333(4)	0.3411(4)	-0.0020(5)	0.0345(10)

## 7. Röntgenstrukturdaten

C2	0.5823(5)	0.4015(5)	0.1025(5)	0.0420(11)
C3	0.4363(5)	0.3744(5)	0.0716(6)	0.0477(12)
C4	0.3393(5)	0.2862(5)	-0.0618(6)	0.0498(13)
C5	0.3886(6)	0.2269(6)	-0.1651(7)	0.0539(15)
C6	0.5341(5)	0.2526(5)	-0.1378(6)	0.0445(12)
C7	0.7900(5)	0.3653(4)	0.0197(5)	0.0392(11)
C8	0.9151(5)	0.4039(4)	0.1655(5)	0.0400(11)
C9	1.0468(5)	0.3448(4)	0.1466(6)	0.0429(12)
C10	1.0205(5)	0.1941(4)	0.0765(5)	0.0380(11)
C11	0.9580(6)	0.5571(5)	0.2414(7)	0.0498(13)
C12	1.2791(5)	0.1026(6)	0.3818(5)	0.0603(15)
C13	1.2049(7)	0.2040(6)	0.4284(6)	0.0629(16)
C14	1.0657(6)	0.1708(7)	0.4185(6)	0.0612(15)
C15	1.0036(7)	0.0382(8)	0.3606(7)	0.0704(18)
C16	1.0753(8)	-0.0575(8)	0.3151(8)	0.092(3)
C17	1.2100(8)	-0.0280(8)	0.3249(7)	0.085(2)
C18	1.4368(7)	0.1143(6)	0.3951(6)	0.0651(15)
C19	1.5144(6)	0.2417(5)	0.4134(5)	0.0532(13)
C20	1.6256(6)	0.2238(6)	0.3499(5)	0.0455(12)
C21	1.5877(6)	0.3401(5)	0.5715(5)	0.0659(16)
C22	1.5683(5)	0.1251(4)	0.1975(5)	0.0336(10)
O1	0.8189(3)	0.3569(3)	-0.0795(4)	0.0566(9)
O2	0.8741(3)	0.3595(3)	0.2540(3)	0.0436(8)
O3	1.1343(3)	0.1464(3)	0.0581(4)	0.0511(9)
O4	0.9077(3)	0.1225(3)	0.0448(3)	0.0439(8)
O5	1.5143(4)	0.0359(4)	0.3974(4)	0.0788(13)
O6	1.4025(4)	0.3111(4)	0.3376(4)	0.0609(11)
O7	1.4391(3)	0.0746(3)	0.1230(3)	0.0425(8)
O8	1.6709(3)	0.0965(3)	0.1498(4)	0.0476(9)

*Tabelle 23. Atomkoordinaten und äquivalente anisotrope Temperaturfaktoren.*

Atom	X	Y	Z	U <sub>iso</sub>
------	---	---	---	------------------

## 7. Röntgenstrukturdaten

---

H111	0.993(5)	0.597(5)	0.191(5)	0.061(15)
H112	0.868(5)	0.598(5)	0.258(5)	0.061(14)
H113	1.022(5)	0.574(4)	0.333(5)	0.042(13)
H14	1.017(6)	0.251(6)	0.453(6)	0.091(19)
H15	0.900(6)	0.024(5)	0.352(6)	0.082(17)
H16	1.033(8)	-0.143(8)	0.273(8)	0.13(3)
H17	1.254(6)	-0.093(6)	0.308(6)	0.065(18)
H2	0.649(5)	0.463(5)	0.201(5)	0.056(14)
H201	1.674(6)	0.305(6)	0.363(5)	0.071(17)
H202	1.696(6)	0.190(5)	0.399(6)	0.066(17)
H21	0.835(9)	0.262(9)	0.190(9)	0.15(3)
H211	1.256(6)	0.286(6)	0.471(6)	0.072(17)
H21A	1.6193	0.4278	0.5807	0.079
H21B	1.6707	0.3084	0.6189	0.079
H21C	1.5191	0.3456	0.6139	0.079
H3	0.406(5)	0.424(4)	0.143(5)	0.052(14)
H4	0.236(4)	0.262(3)	-0.086(4)	0.027(10)
H401	0.886(6)	-0.038(7)	-0.016(6)	0.10(2)
H5	0.336(5)	0.173(4)	-0.234(5)	0.034(14)
H6	0.558(5)	0.211(4)	-0.212(5)	0.042(13)
H61	1.348(4)	0.355(3)	0.362(3)	0.000(9)
H71	1.353(7)	-0.041(6)	-0.068(7)	0.10(2)
H91	1.071(4)	0.360(4)	0.083(4)	0.025(11)
H92	1.138(5)	0.381(4)	0.246(5)	0.050(13)

**Tabelle 24.** Atomkoordinaten und isotrope Temperaturfaktoren für H-Atome ( $\text{\AA}^2$ ).

## 7. Röntgenstrukturdaten

Atom	U <sub>11</sub>	U <sub>22</sub>	U <sub>33</sub>	U <sub>23</sub>	U <sub>13</sub>	U <sub>12</sub>
C1	0.037(2)	0.032(2)	0.040(3)	0.021(2)	0.016(2)	0.0055(19)
C2	0.041(3)	0.048(3)	0.046(3)	0.025(2)	0.022(3)	0.014(2)
C3	0.046(3)	0.058(3)	0.057(3)	0.034(3)	0.030(3)	0.024(3)
C4	0.029(3)	0.062(3)	0.072(4)	0.041(3)	0.020(3)	0.008(2)
C5	0.044(3)	0.044(3)	0.059(4)	0.018(3)	0.011(3)	-0.005(3)
C6	0.045(3)	0.041(3)	0.049(3)	0.014(2)	0.024(3)	0.009(2)
C7	0.045(3)	0.032(2)	0.053(3)	0.021(2)	0.030(2)	0.0093(19)
C8	0.038(3)	0.043(3)	0.041(3)	0.020(2)	0.016(2)	0.006(2)
C9	0.038(3)	0.040(3)	0.057(3)	0.023(2)	0.024(3)	0.005(2)
C10	0.035(3)	0.043(3)	0.044(3)	0.022(2)	0.021(2)	0.008(2)
C11	0.050(3)	0.038(3)	0.052(4)	0.013(3)	0.018(3)	0.003(2)
C12	0.043(3)	0.082(4)	0.040(3)	0.008(3)	0.020(3)	-0.005(3)
C13	0.073(4)	0.051(4)	0.047(3)	0.020(3)	0.009(3)	-0.012(3)
C14	0.062(4)	0.076(4)	0.048(3)	0.023(3)	0.027(3)	0.026(3)
C15	0.044(3)	0.108(6)	0.077(4)	0.056(4)	0.026(3)	0.004(4)
C16	0.065(5)	0.059(4)	0.106(6)	0.035(4)	-0.013(4)	-0.009(4)
C17	0.067(5)	0.074(5)	0.062(4)	-0.004(3)	0.007(3)	0.027(4)
C18	0.070(4)	0.075(4)	0.053(3)	0.029(3)	0.026(3)	0.011(3)
C19	0.069(4)	0.049(3)	0.034(3)	0.007(2)	0.024(3)	-0.007(3)
C20	0.035(3)	0.051(3)	0.039(3)	0.013(2)	0.011(2)	-0.006(2)
C21	0.073(4)	0.059(3)	0.047(3)	-0.001(3)	0.031(3)	-0.016(3)
C22	0.031(2)	0.036(2)	0.041(3)	0.019(2)	0.019(2)	0.0042(19)
O1	0.048(2)	0.078(2)	0.055(2)	0.0337(19)	0.0277(18)	0.0083(17)
O2	0.0412(18)	0.048(2)	0.0473(19)	0.0233(16)	0.0209(16)	0.0132(15)
O3	0.0347(18)	0.046(2)	0.078(2)	0.0234(18)	0.0317(18)	0.0092(14)
O4	0.0379(18)	0.0393(17)	0.057(2)	0.0177(15)	0.0256(16)	0.0026(14)
O5	0.080(3)	0.105(3)	0.084(3)	0.059(2)	0.045(2)	0.071(3)
O6	0.063(3)	0.060(2)	0.054(2)	0.0241(19)	0.018(2)	0.008(2)
O7	0.0316(18)	0.0459(18)	0.0440(19)	0.0144(15)	0.0144(15)	0.0049(14)
O8	0.0378(19)	0.057(2)	0.046(2)	0.0123(18)	0.0252(18)	0.0039(15)

*Tabelle 25. Anisotrope Temperaturfaktoren für Wasserstoffatome (Å<sup>2</sup>).*

## 7. Röntgenstrukturdaten

Atom1	Atom2	Abstand	Atom1	Atom2	Abstand	Atom1	Atom2	Abstand
C1	C2	1.385(6)	C11	H111	0.98(5)	C20	C22	1.490(6)
C1	C6	1.391(6)	C11	H112	1.06(5)	C20	H201	0.93(6)
C1	C7	1.500(6)	C11	H113	0.93(5)	C20	H202	0.90(5)
C2	C3	1.372(6)	C12	C17	1.363(9)	C21	H21A	0.9600
C2	H2	0.99(5)	C12	C13	1.389(8)	C21	H21B	0.9600
C3	C4	1.369(7)	C12	C18	1.530(8)	C21	H21C	0.9600
C3	H3	0.94(5)	C13	C14	1.389(8)	O1	C7	1.218(5)
C4	C5	1.361(8)	C13	H211	0.88(5)	O2	C8	1.433(5)
C4	H4	0.97(4)	C14	C15	1.361(9)	O2	H21	1.00(9)
C5	C6	1.374(7)	C14	H14	1.02(6)	O3	C10	1.316(5)
C5	H5	0.74(4)	C15	C16	1.326(10)	O4	C10	1.214(5)
C6	H6	0.90(4)	C15	H15	1.01(6)	O5	C18	1.171(6)
C7	C8	1.530(6)	C16	C17	1.337(10)	O6	C19	1.545(7)
C8	C11	1.521(6)	C16	H16	0.88(8)	O6	H61	0.79(3)
C8	C9	1.530(6)	C17	H17	0.84(5)	O7	C22	1.223(5)
C9	C10	1.494(6)	C18	C19	1.489(7)	O8	C22	1.316(5)
C9	H91	0.90(4)	C19	C20	1.507(7)			
C9	H92	1.06(5)	C19	C21	1.534(6)			

*Tabelle 26. Bindungslängen (Å).*

Beteiligte Atome				Beteiligte Atome				Beteiligte Atome			
1	2	3	Winkel	1	2	3	Winkel	1	2	3	Winkel
C1	C2	H2	122(3)	C11	C8	C7	108.3(4)	C19	C21	H21B	109.5
C1	C6	H6	125(3)	C11	C8	C9	109.2(4)	C19	C21	H21C	109.5
C1	C7	C8	121.3(4)	C12	C13	C14	119.9(5)	C20	C19	C21	109.4(4)
C2	C1	C6	118.8(4)	C12	C13	H211	115(4)	C20	C19	O6	105.5(4)
C2	C1	C7	124.5(4)	C12	C17	H17	122(4)	C21	C19	O6	107.1(4)
C2	C3	H3	117(3)	C13	C12	C18	129.2(5)	C22	C20	C19	114.3(4)
C3	C2	C1	120.2(5)	C13	C14	H14	115(3)	C22	C20	H201	110(3)
C3	C2	H2	118(3)	C14	C13	H211	125(4)	C22	C20	H202	106(3)
C3	C4	H4	123(2)	C14	C15	H15	113(3)	H111	C11	H112	111(4)
C4	C3	C2	120.8(5)	C15	C14	C13	118.8(6)	H111	C11	H113	117(4)
C4	C3	H3	122(3)	C15	C14	H14	126(3)	H112	C11	H113	102(4)
C4	C5	C6	121.3(6)	C15	C16	C17	121.7(7)	H201	C20	H202	104(5)
C4	C5	H5	118(4)	C15	C16	H16	121(5)	H21A	C21	H21B	109.5
C5	C4	C3	119.3(5)	C16	C15	C14	120.5(6)	H21A	C21	H21C	109.5
C5	C4	H4	118(2)	C16	C15	H15	126(3)	H21B	C21	H21C	109.5
C5	C6	C1	119.6(5)	C16	C17	C12	121.0(6)	H91	C9	H92	110(3)
C5	C6	H6	116(3)	C16	C17	H17	116(4)	O1	C7	C1	119.7(4)
C6	C1	C7	116.7(4)	C17	C12	C13	117.9(5)	O1	C7	C8	119.0(4)
C6	C5	H5	120(4)	C17	C12	C18	112.7(5)	O2	C8	C11	107.3(4)
C7	C8	C9	109.8(4)	C17	C16	H16	117(5)	O2	C8	C7	112.5(3)

## 7. Röntgenstrukturdaten

C8	O2	H21	101(5)	C18	C19	C20	114.9(5)	O2	C8	C9	109.6(4)
C8	C9	H91	114(2)	C18	C19	C21	110.3(4)	O3	C10	C9	113.3(4)
C8	C9	H92	110(2)	C18	C19	O6	109.3(4)	O4	C10	O3	123.1(4)
C8	C11	H111	113(3)	C19	O6	H61	130(3)	O4	C10	C9	123.5(4)
C8	C11	H112	109(3)	C19	C18	C12	120.1(5)	O5	C18	C19	110.4(6)
C8	C11	H113	104(3)	C19	C20	H201	114(3)	O5	C18	C12	129.5(6)
C10	C9	C8	114.7(4)	C19	C20	H202	107(3)	O7	C22	O8	122.6(4)
C10	C9	H91	98(2)	C19	C21	H21A	109.5	O7	C22	C20	124.1(4)
C10	C9	H92	109(2)	C19	C21	H21B	109.5	O8	C22	C20	113.3(4)
C11	C8	C7	108.3(4)	C19	C21	H21C	109.5				

*Tabelle 27. Bindungswinkel (°).*

Winkel-bildende Atome				Winkel	Winkel-bildende Atome				Winkel
1	2	3	4		1	2	3	4	
C1	C2	C3	C4	0.8(7)	C13	C14	C15	C16	0.4(9)
C1	C7	C8	O2	24.7(5)	C13	C12	C17	C16	-0.4(10)
C1	C7	C8	C11	-93.8(5)	C13	C12	C18	O5	154.1(6)
C1	C7	C8	C9	147.1(4)	C13	C12	C18	C19	-23.5(9)
C2	C3	C4	C5	-1.1(7)	C14	C15	C16	C17	0.4(11)
C2	C1	C6	C5	-0.1(7)	C15	C16	C17	C12	-0.4(12)
C2	C1	C7	O1	-149.9(4)	C17	C12	C13	C14	1.1(9)
C2	C1	C7	C8	28.6(6)	C17	C12	C18	O5	-20.6(9)
C3	C4	C5	C6	0.8(8)	C17	C12	C18	C19	161.8(5)
C4	C5	C6	C1	-0.2(8)	C18	C12	C13	C14	-173.3(5)
C6	C1	C2	C3	-0.2(6)	C18	C12	C17	C16	174.9(6)
C6	C1	C7	O1	29.4(6)	C18	C19	C20	C22	52.7(7)
C6	C1	C7	C8	-152.1(4)	C19	C20	C22	O7	8.9(7)
C7	C1	C2	C3	179.0(4)	C19	C20	C22	O8	-170.9(4)
C7	C1	C6	C5	-179.4(4)	C21	C19	C20	C22	177.4(5)
C7	C8	C9	C10	-63.0(5)	O1	C7	C8	O2	-156.8(4)
C8	C9	C10	O4	-4.6(7)	O1	C7	C8	C11	84.7(5)
C8	C9	C10	O3	178.2(4)	O1	C7	C8	C9	-34.4(5)
C11	C8	C9	C10	178.4(5)	O2	C8	C9	C10	61.1(5)
C12	C13	C14	C15	-1.1(8)	O5	C18	C19	C20	33.1(6)
C12	C18	C19	C20	-148.8(5)	O5	C18	C19	C21	-91.1(6)
C12	C18	C19	C21	86.9(6)	O5	C18	C19	O6	151.5(4)
C12	C18	C19	O6	-30.5(6)	O6	C19	C20	C22	-67.8(5)

*Tabelle 28. Torsionswinkel (°).*

## 8. Literaturverzeichnis

- [1] D. D. Eley, D. I. Spivey, *Trans. Faraday Soc.* **1962**, 58, 411-415. *Semiconductivity of organic substances. Part 9.—Nucleic acid in the dry state.*
- [2] P. W. K. Rothemund, *Nature* **2006**, 440(7082), 297-302. *Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns.*
- [3] S. M. Douglas, H. Dietz, T. Liedl, B. Hogberg, F. Graf, W. M. Shih, *Nature* **2009**, 459(7245), 414-418. *Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes.*
- [4] H.-A. Wagenknecht, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23(6), 973-1006. *Electron transfer processes in DNA: mechanisms, biological relevance and applications in DNA analytics.*
- [5] F. Boussicault, M. Robert, *Chem. Rev.* **2008**, 108(7), 2622-2645. *Electron Transfer in DNA and in DNA-Related Biological Processes. Electrochemical Insights.*
- [6] J. C. Genereux, A. K. Boal, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132(3), 891-905. *DNA-Mediated Charge Transport in Redox Sensing and Signaling.*
- [7] T. G. Drummond, M. G. Hill, J. K. Barton, *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21(10), 1192-1199. *Electrochemical DNA sensors.*
- [8] C. Prunkl, S. Berndl, Wanninger-Wei, J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12(1), 32-43. *Photoinduced short-range electron transfer in DNA with fluorescent DNA bases: lessons from ethidium and thiazole orange as charge donors.*
- [9] A. Kumar, M. D. Sevilla, *Chem. Rev.* **2010**. *Proton-Coupled Electron Transfer in DNA on Formation of Radiation-Produced Ion Radicals.*
- [10] A. Schwögler, Lars T. Burgdorf, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39(21), 3918-3920. *Self-Repairing DNA Based on a Reductive Electron Transfer through the Base Stack.*
- [11] B. Giese, B. Carl, T. Carl, T. Carell, C. Behrens, U. Hennecke, O. Schiemann, E. Feresin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(14), 1848-1851. *Excess Electron Transport Through DNA: A Single Electron Repairs More than One UV-Induced Lesion.*
- [12] O. Schiemann, E. Feresin, T. Carl, B. Giese, *ChemPhysChem* **2004**, 5(2), 270-274. *4'-Pivaloyl Substituted Thymidine as a Precursor for the Thymyl Radical: An EPR Spectroscopic Study.*
- [13] C. Trindler, A. Manetto, J. Eirich, T. Carell, *Chem. Commun.* **2009**, 24, 3583-3584. *A new ground state single electron donor for excess electron transfer studies in DNA.*
- [14] T. Brückl, D. Globisch, M. Wagner, M. Müller, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48(42), 7932-7934. *Parallel Isotope-Based Quantification of Modified tRNA Nucleosides.*
- [15] J. C. Genereux, J. K. Barton, *Chem. Rev.* **2009**. *Mechanisms for DNA Charge Transport.*
- [16] O. T. Avery, C. M. MacLeod, M. McCarty, *J. Exp. Med.* **1979**, 149(2), 297-326. *Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Inductions of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III.*
- [17] O. T. Avery, C. M. MacLeod, M. McCarty, *J. Exp. Med.* **1944**, 79(2), 137-158. *Studies On The Chemical Nature Of The Substance Inducing Transformation Of Pneumococcal Types.*
- [18] J. Watson, F. Crick, *Nature* **1953**, 171, 737-738. *Molecular structure for Deoxyribose Nucleic acid.*
- [19] R. E. Franklin, R. G. Gosling, *Nature* **1953**, 171, 156-157. *Evidence for 2-chain helix in crystalline structure of sodium deoxyribonucleate.*
- [20] P. A. Levene, *J. Biol. Chem.* **1917**, 31(3), 591-598. *The Structure Of Yeast Nucleic Acid.*
- [21] P. A. Levene, *J. Biol. Chem.* **1920**, 41(4), 483-493. *Properties Of The Nucleotides Obtained From Yeast Nucleic Acid.*
- [22] B. Lythgoe, A. R. Todd, *Nature* **1945**, 155, 695-696. *Structure of adenosine di- and triphosphate.*
- [23] M. v. Melzer, Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität (München), **2006**.
- [24] E. Chargaff, *Cell. Mol. Life Sci.* **1950**, 6(6), 201-209. *Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation.*
- [25] O. D. Schärer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42(26), 2946-2974. *Chemistry and Biology of DNA Repair.*

- [26] J. S. Taylor, *Acc. Chem. Res.* **1994**, 27(3), 76-82. *Unraveling the Molecular Pathway from Sunlight to Skin Cancer.*
- [27] J.-L. Ravanat, T. Douki, J. Cadet, *J. Photochem. Photobiol., B* **2001**, 63(1-3), 88-102. *Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components.*
- [28] L. Marrot, J.-R. Meunier, *J. Am. Acad. Derm.* **2008**, 58(5), 139-148. *Skin DNA photodamage and its biological consequences.*
- [29] F. R. d. Gruijl, H. Rebel, *Photochem. Photobiol.* **2008**, 84(2), 382-387. *Early Events in UV Carcinogenesis-DNA Damage, Target Cells and Mutant p53 Foci.*
- [30] S. T. Kim, K. Malhotra, C. A. Smith, J. S. Taylor, A. Sancar, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269(11), 8535-8540. *Characterization of (6-4) photoproduct DNA photolyase.*
- [31] A. J. Varghese, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1970**, 38(3), 484-490. *5-Thyminylnyl-5,6-dihydrothymine from DNA irradiated with ultraviolet light.*
- [32] N. Tuteja, P. Ahmad, B. B. Panda, R. Tuteja, *Mutat. Res., Rev. Mutat. Res.* **2009**, 681(2-3), 134-149. *Genotoxic stress in plants: Shedding light on DNA damage, repair and DNA repair helicases.*
- [33] M. Müller, T. Carell, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2009**, 19(3), 277-285. *Structural biology of DNA photolyases and cryptochromes.*
- [34] M. Tremblay, M. Toussaint, A. D'Amours, A. Conconi, *Biochem. Cell Biol.* **2009**, 87(1), 337-346. *Nucleotide excision repair and photolyase repair of UV photoproducts in nucleosomes: assessing the existence of nucleosome and non-nucleosome rDNA chromatin in vivo.*
- [35] C. R. Woese, O. Kandler, M. L. Wheelis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, 87(12), 4576-4579. *Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya.*
- [36] C. Aubert, M. H. Vos, P. Mathis, A. P. M. Eker, K. Brettel, *Nature* **2000**, 405(6786), 586-590. *Intraprotein radical transfer during photoactivation of DNA photolyase.*
- [37] A. Mees, T. Klar, P. Gnau, U. Hennecke, A. P. M. Eker, T. Carell, L.-O. Essen, *Science* **2004**, 306(5702), 1789-1793. *Crystal Structure of a Photolyase Bound to a CPD-Like DNA Lesion After in Situ Repair.*
- [38] A. Espagne, M. Byrdin, A. P. M. Eker, K. Brettel, *ChemBioChem* **2009**, 10(11), 1777-1780. *Very Fast Product Release and Catalytic Turnover of DNA Photolyase.*
- [39] J. Cadet, M. Berger, T. Douki, J. Ravanat, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **1997**, 131, 1-87. *Oxidative damage to DNA: Formation, measurement, and biological significance.*
- [40] L. P. Candeias, S. Steenken, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111(3), 1094-1099. *Structure and acid-base properties of one-electron-oxidized deoxyguanosine, guanosine, and 1-methylguanosine.*
- [41] K. Kobayashi, S. Tagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125(34), 10213-10218. *Direct Observation of Guanine Radical Cation Deprotonation in Duplex DNA Using Pulse Radiolysis.*
- [42] M. E. Núñez, D. B. Hall, J. K. Barton, *Chem. Biol.* **1999**, 6(2), 85-97. *Long-range oxidative damage to DNA: Effects of distance and sequence.*
- [43] M. Bixon, B. Giese, S. Wessely, T. Langenbacher, M. E. Michel-Beyerle, J. Jortner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96(21), 11713-11716. *Long-range charge hopping in DNA.*
- [44] E. J. Merino, A. K. Boal, J. K. Barton, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, 12(2), 229-237. *Biological contexts for DNA charge transport chemistry.*
- [45] A. M. Hung, C. M. Micheel, L. D. Bozano, L. W. Osterbur, G. M. Wallraff, J. N. Cha, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5(2), 121-126. *Large-area spatially ordered arrays of gold nanoparticles directed by lithographically confined DNA origami.*
- [46] S. Pal, Z. Deng, B. Ding, H. Yan, Y. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49(15), 2700-2704. *DNA-Origami-Directed Self-Assembly of Discrete Silver-Nanoparticle Architectures.*
- [47] X. Guo, A. A. Gorodetsky, J. Hone, J. K. Barton, C. Nuckolls, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3(3), 163-167. *Conductivity of a single DNA duplex bridging a carbon nanotube gap.*
- [48] A. A. Gorodetsky, M. C. Buzzeo, J. K. Barton, *Bioconjugate Chem.* **2008**, 19(12), 2285-2296. *DNA-Mediated Electrochemistry.*
- [49] D. N. Beratan, S. Priyadarshy, S. M. Risser, **1997**, 4(1), 3-8. *DNA: insulator or wire?*
- [50] D. Porath, A. Bezryadin, S. de Vries, C. Dekker, *Nature* **2000**, 403(6770), 635-638. *Direct measurement of electrical transport through DNA molecules.*

- [51] H.-W. Fink, C. Schonenberger, *Nature* **1999**, 398(6726), 407-410. *Electrical conduction through DNA molecules.*
- [52] Y. A. Berlin, A. L. Burin, M. A. Ratner, *Superlattices Microstruct.* **2000**, 28(4), 241-252. *DNA as a molecular wire.*
- [53] A. Y. Kasumov, M. Kociak, S. Gueron, B. Reulet, V. T. Volkov, D. V. Klinov, H. Bouchiat, *Science* **2001**, 291(5502), 280-282. *Proximity-Induced Superconductivity in DNA.*
- [54] J. Jortner, M. Bixon, T. Langenbacher, M. E. Michel-Beyerle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95(22), 12759-12765. *Charge transfer and transport in DNA.*
- [55] S. Steenken, S. V. Jovanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119(3), 617-618. *How Easily Oxidizable Is DNA? One-Electron Reduction Potentials of Adenosine and Guanosine Radicals in Aqueous Solution.*
- [56] C. A. M. Seidel, A. Schulz, M. H. M. Sauer, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100(13), 5541-5553. *Nucleobase-Specific Quenching of Fluorescent Dyes. I. Nucleobase One-Electron Redox Potentials and Their Correlation with Static and Dynamic Quenching Efficiencies.*
- [57] T. Caruso, M. Carotenuto, E. Vasca, A. Peluso, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127(43), 15040-15041. *Direct Experimental Observation of the Effect of the Base Pairing on the Oxidation Potential of Guanine.*
- [58] T. Fiebig, C. Wan, A. H. Zewail, *ChemPhysChem* **2002**, 3(9), 781-788. *Femtosecond Charge Transfer Dynamics of a Modified DNA Base: 2-Aminopurine in Complexes with Nucleotides.*
- [59] C. Sheu, C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117(24), 6439-6442. *Reactivity toward Singlet Oxygen of a 7,8-Dihydro-8-oxoguanosine ("8-Hydroxyguanosine") Formed by Photooxidation of a Guanosine Derivative.*
- [60] S. S. Shinde, A. Maroz, M. P. Hay, R. F. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(14), 5203-5207. *One-Electron Reduction Potential of the Neutral Guanyl Radical in the GC Base Pair of Duplex DNA.*
- [61] S. Fukuzumi, H. Miyao, K. Ohkubo, T. Suenobu, *J. Phys. Chem. A* **2005**, 109(15), 3285-3294. *Electron-Transfer Oxidation Properties of DNA Bases and DNA Oligomers.*
- [62] C. E. Crespo-Hernández, D. M. Close, L. Gorb, J. Leszczynski, *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111(19), 5386-5395. *Determination of Redox Potentials for the Watson-Crick Base Pairs, DNA Nucleosides, and Relevant Nucleoside Analogues.*
- [63] S. Steenken, J. P. Telo, H. M. Novais, L. P. Candeias, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114(12), 4701-4709. *One-electron-reduction potentials of pyrimidine bases, nucleosides, and nucleotides in aqueous solution. Consequences for DNA redox chemistry.*
- [64] H.-Y. Chen, C.-L. Kao, S. C. N. Hsu, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(43), 15930-15938. *Proton Transfer in Guanine-Cytosine Radical Anion Embedded in B-Form DNA.*
- [65] M. Raytchev, E. Mayer, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, T. Fiebig, *ChemPhysChem* **2004**, 5(5), 706-712. *Ultrafast Proton-Coupled Electron-Transfer Dynamics in Pyrene-Modified Pyrimidine Nucleosides: Model Studies towards an Understanding of Reductive Electron Transport in DNA.*
- [66] M. P. Scannell, D. J. Fenick, S.-R. Yeh, D. E. Falvey, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119(8), 1971-1977. *Model Studies of DNA Photorepair: Reduction Potentials of Thymine and Cytosine Cyclobutane Dimers Measured by Fluorescence Quenching.*
- [67] P. Daublain, A. K. Thazhathveetil, Q. Wang, A. Trifonov, T. Fiebig, F. D. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(46), 16790-16797. *Dynamics of Photochemical Electron Injection and Efficiency of Electron Transport in DNA.*
- [68] V. P. Kadysh, Y. L. Kaminskii, L. N. Rumyantseva, V. L. Efimova, Y. P. Stradyn, *Chem. Heterocycl. Compd.* **1992**, 28(10), 1198-1202. *Polarographic investigation of the mobility of halogen atoms in halogen-substituted components of nucleic acids.*
- [69] A. Manetto, S. Breger, C. Chatgililoglu, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45(2), 318-321. *Complex Sequence Dependence by Excess-Electron Transfer through DNA with Different Strength Electron Acceptors.*
- [70] Z. Cai, X. Li, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106(10), 2755-2762. *Excess Electron Transfer in DNA: Effect of Base Sequence and Proton Transfer.*
- [71] T. Ito, A. Kondo, T. Kamashita, K. Tanabe, H. Yamada, S.-i. Nishimoto, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7(10), 2077-2081. *Pathways of excess electron transfer in phenothiazine-tethered DNA containing single-base mismatches.*

- [72] R. Yamagami, K. Kobayashi, S. Tagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*(44), 14772-14777. *Formation of Spectral Intermediate G–C and A–T Anion Complex in Duplex DNA Studied by Pulse Radiolysis.*
- [73] S. Steenken, *Free Radical Res.* **1992**, *16*(6), 349-379. *Electron-Transfer-Induced Acidity/Basicity and Reactivity Changes of Purine and Pyrimidine Bases. Consequences of Redox Processes for Dna Base Pairs.*
- [74] F. C. Grozema, L. D. A. Siebbeles, Y. A. Berlin, M. A. Ratner, *ChemPhysChem* **2002**, *3*(6), 536-539. *Hole Mobility in DNA: Effects of Static and Dynamic Structural Fluctuations.*
- [75] H. Sugiyama, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*(30), 7063-7068. *Theoretical Studies of GG-Specific Photocleavage of DNA via Electron Transfer: Significant Lowering of Ionization Potential and 5'-Localization of HOMO of Stacked GG Bases in B-Form DNA.*
- [76] K. Ito, S. Inoue, K. Yamamoto, S. Kawanishi, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*(18), 13221-13227. *8-Hydroxydeoxyguanosine formation at the 5' site of 5'-GG-3' sequences in double-stranded DNA by UV radiation with riboflavin.*
- [77] K. Kawai, Y. Wata, M. Hara, S. Tojo, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*(14), 3586-3590. *Regulation of One-Electron Oxidation Rate of Guanine by Base Pairing with Cytosine Derivatives.*
- [78] I. Saito, M. Takayama, H. Sugiyama, K. Nakatani, A. Tsuchida, M. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(23), 6406-6407. *Photoinduced DNA Cleavage via Electron Transfer: Demonstration That Guanine Residues Located 5' to Guanine Are the Most Electron-Donating Sites.*
- [79] K. A. Friedman, A. Heller, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*(8), 2368-2371. *Guanosine Distribution and Oxidation Resistance in Eight Eukaryotic Genomes.*
- [80] S. Delaney, J. K. Barton, *Biochemistry* **2003**, *42*(48), 14159-14165. *Charge Transport in DNA Duplex/Quadruplex Conjugates†.*
- [81] K. A. Friedman, A. Heller, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*(47), 11859-11865. *On the Non-Uniform Distribution of Guanine in Introns of Human Genes: Possible Protection of Exons against Oxidation by Proximal Intron Poly-G Sequences.*
- [82] V. A. Szalai, M. J. Singer, H. H. Thorp, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*(8), 1625-1631. *Site-Specific Probing of Oxidative Reactivity and Telomerase Function Using 7,8-Dihydro-8-oxoguanine in Telomeric DNA.*
- [83] H. Ikeura-Sekiguchi, T. Sekiguchi, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *99*(22), 228102. *Attosecond Electron Delocalization in the Conduction Band through the Phosphate Backbone of Genomic DNA.*
- [84] Y. Baba, T. Sekiguchi, I. Shimoyama, N. Hirao, K. G. Nath, *Phys. Rev. B* **2006**, *74*(20), 205433. *Localization of electrons in the sugar/phosphate backbone in DNA investigated via resonant Auger decay spectra.*
- [85] D. M. Close, K. T. Øhman, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*(44), 11207-11212. *Ionization Energies of the Nucleotides.*
- [86] P. K. Bhattacharya, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*(36), 8649-8656. *Influence of Intervening Mismatches on Long-Range Guanine Oxidation in DNA Duplexes.*
- [87] M. A. O'Neill, J. K. Barton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*(26), 16543-16550. *Effects of strand and directional asymmetry on base–base coupling and charge transfer in double-helical DNA.*
- [88] S. K. Pal, A. H. Zewail, *Chem. Rev.* **2004**, *104*(4), 2099-2124. *Dynamics of Water in Biological Recognition.*
- [89] C. Yamahata, D. Collard, T. Takekawa, M. Kumemura, G. Hashiguchi, H. Fujita, **2008**, *94*(1), 63-70. *Humidity Dependence of Charge Transport through DNA Revealed by Silicon-Based Nanotweezers Manipulation.*
- [90] B. Giese, J. Amaudrut, A.-K. Kohler, M. Spormann, S. Wessely, *Nature* **2001**, *412*, 318-320. *Direct observation of hole transfer through DNA by hopping between adenine bases and by tunnelling.*
- [91] M. A. Ratner, *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*(12), 4877-4883. *Bridge-assisted electron transfer: effective electronic coupling.*
- [92] R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Bioenergetics* **1985**, *811*(3), 265-322. *Electron transfers in chemistry and biology.*

- [93] Y. A. Berlin, F. C. Grozema, L. D. A. Siebbeles, M. A. Ratner, *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112(29), 10988-11000. *Charge Transfer in Donor-Bridge-Acceptor Systems: Static Disorder, Dynamic Fluctuations, and Complex Kinetics.*
- [94] E. Vladimirov, A. Ivanova, N. Rösch, *J. Phys. Chem. B* **2009**, 113(13), 4425-4434. *Solvent Reorganization Energies in A-DNA, B-DNA, and Rhodamine 6G-DNA Complexes from Molecular Dynamics Simulations with a Polarizable Force Field.*
- [95] A. L. Sobolewski, W. Domcke, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6(10), 2763-2771. *Ab initio studies on the photophysics of the guanine-cytosine base pair.*
- [96] G. B. Schuster, U. Landman, **2004**, 139-161. *The Mechanism of Long-Distance Radical Cation Transport in Duplex DNA: Ion-Gated Hopping of Polaron-Like Distortions.*
- [97] B. Elias, F. W. Shao, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(4), 1152-1153. *Charge migration along the DNA duplex: Hole versus electron transport.*
- [98] C. Behrens, L. T. Burgdorf, A. Schwögler, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41(10), 1763-1766. *Weak Distance Dependence of Excess Electron Transfer in DNA.*
- [99] C. Behrens, T. Carell, *Chem. Commun.* **2003**(14), 1632-1633. *Excess electron transfer in flavin-capped, thymine dimer-containing DNA hairpins.*
- [100] T. Stafforst, U. Diederichsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45(32), 5376-5380. *Thymine Oxetanes as Charge Traps for Chemical Monitoring of Nucleic Acid Mediated Transfer of Excess Electrons13.*
- [101] P. Daublain, A. K. Thazhathveetil, V. Shafirovich, Q. Wang, A. Trifonov, T. Fiebig, F. D. Lewis, *J. Phys. Chem. B* **2010**. *Dynamics and Efficiency of Electron Injection and Transport in DNA Using Pyrenecarboxamide as an Electron Donor and 5-Bromouracil as an Electron Acceptor.*
- [102] K. Maie, K. Miyagi, T. Takada, M. Nakamura, K. Yamana, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(37), 13188-13189. *RNA-Mediated Electron Transfer: Double Exponential Distance Dependence.*
- [103] T. Takada, C. Tanaka, M. Nakamura, K. Yamana, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20(3), 994-996. *Fluorescent analysis of excess electron transfer through DNA.*
- [104] T. Ito, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125(38), 11480-11481. *Excess Electron Transfer from an Internally Conjugated Aromatic Amine to 5-Bromo-2'-deoxyuridine in DNA.*
- [105] J. Jortner, M. Bixon, A. A. Voityuk, N. Rosch, *J. Phys. Chem. A* **2002**, 106(33), 7599-7606. *Superexchange Mediated Charge Hopping in DNA†.*
- [106] M. Bixon, J. Jortner, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123(50), 12556-12567. *Charge Transport in DNA Via Thermally Induced Hopping.*
- [107] B. Giese, S. Wessely, M. Spormann, U. Lindemann, E. Meggers, M. E. Michel-Beyerle, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38(7), 996-998. *On the Mechanism of Long-Range Electron Transfer through DNA.*
- [108] B. Giese, *Top. Curr. Chem.* **2004**, 236, 151-164. *Hole Injection and Hole Transfer through DNA: The Hopping Mechanism.*
- [109] F. D. Lewis, M. R. Wasielewski, *Top. Curr. Chem.* **2004**, 236, 189-197. *Dynamics and Equilibrium for Single Step Hole Transport Processes in Duplex DNA.*
- [110] T. Kendrick, B. Giese, *Chem. Commun.* **2002**(18), 2016-2017. *Charge transfer through DNA triggered by site selective charge injection into adenine.*
- [111] C. Dohno, A. Ogawa, K. Nakatani, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125(34), 10154-10155. *Hole Trapping at N6-Cyclopropyldeoxyadenosine Suggests a Direct Contribution of Adenine Bases to Hole Transport through DNA.*
- [112] T. Takada, K. Kawai, X. Cai, A. Sugimoto, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(4), 1125-1129. *Charge Separation in DNA via Consecutive Adenine Hopping.*
- [113] Katherine E. Augustyn, Joseph C. Genereux, Jacqueline K. Barton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46(30), 5731-5733. *Distance-Independent DNA Charge Transport across an Adenine Tract13.*
- [114] K. Kawai, Y. Osakada, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111(9), 2322-2326. *Hole Transfer in DNA and Photosensitized DNA Damage: Importance of Adenine Oxidation.*
- [115] B. Giese, M. Spichty, *ChemPhysChem* **2000**, 1(4), 195-198. *Long Distance Charge Transport through DNA: Quantification and Extension of the Hopping Model13.*
- [116] T. T. Williams, D. T. Odom, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122(37), 9048-9049. *Variations in DNA Charge Transport with Nucleotide Composition and Sequence.*

- [117] C.-S. Liu, R. Hernandez, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(9), 2877-2884. *Mechanism for Radical Cation Transport in Duplex DNA Oligonucleotides.*
- [118] T. Takada, K. Kawai, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128(34), 11012-11013. *Rapid Long-Distance Hole Transfer through Consecutive Adenine Sequence.*
- [119] K. Kawai, H. Kodera, Y. Osakada, T. Majima, *Nat. Chem.* **2009**, 1(2), 156-159. *Sequence-independent and rapid long-range charge transfer through DNA.*
- [120] F. D. Lewis, H. Zhu, P. Daublain, B. Cohen, M. R. Wasielewski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45(47), 7982-7985. *Hole Mobility in DNA A Tracts.*
- [121] F. D. Lewis, X. Liu, J. Liu, S. E. Miller, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *Nature* **2000**, 406(6791), 51-53. *Direct measurement of hole transport dynamics in DNA.*
- [122] F. D. Lewis, J. Liu, X. Zuo, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125(16), 4850-4861. *Dynamics and Energetics of Single-Step Hole Transport in DNA Hairpins.*
- [123] E. Rivera, R. H. Schuler, *J. Phys. Chem.* **1983**, 87(20), 3966-3971. *Intermediates in the reduction of 5-halouracils by  $e_{aq}$ .*
- [124] T. Ito, A. Kondo, S. Terada, S.-i. Nishimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128(33), 10934-10942. *Photoinduced Reductive Repair of Thymine Glycol: Implications for Excess Electron Transfer through DNA Containing Modified Bases.*
- [125] C. Chatgililoglu, M. Guerra, Q. G. Mulazzani, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125(13), 3839-3848. *Model Studies of DNA C5' Radicals. Selective Generation and Reactivity of 2'-Deoxyadenosin-5'-yl Radical.*
- [126] F. Boussicault, P. Kaloudis, C. Caminal, Q. G. Mulazzani, C. Chatgililoglu, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(26), 8377-8385. *The Fate of C5' Radicals of Purine Nucleosides under Oxidative Conditions.*
- [127] C. Chatgililoglu, C. Caminal, A. Altieri, G. C. Vougioukalakis, Q. G. Mulazzani, T. Gimisis, M. Guerra, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128(42), 13796-13805. *Tautomerism in the Guanyl Radical.*
- [128] M. Ioele, R. Bazzanini, C. Chatgililoglu, Q. G. Mulazzani, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122(9), 1900-1907. *Chemical Radiation Studies of 8-Bromoguanosine in Aqueous Solutions.*
- [129] C. Chatgililoglu, M. Guerra, P. Kaloudis, C. Houée-Lévin, J.-L. Marignier, Vijay N. Swaminathan, T. Carell, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13(32), 8979-8984. *Ring Opening of the Cyclobutane in a Thymine Dimer Radical Anion.*
- [130] C.-R. Wang, J. Nguyen, Q.-B. Lu, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(32), 11320-11322. *Bond Breaks of Nucleotides by Dissociative Electron Transfer of Nonequilibrium Prehydrated Electrons: A New Molecular Mechanism for Reductive DNA Damage.*
- [131] P. C. Shragge, H. B. Michaels, J. W. Hunt, *Radiat. Res.* **1971**, 47(3), 598-611. *Factors Affecting the Rate of Hydrated Electron Attack on Polynucleotides.*
- [132] C.-R. Wang, Q.-B. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46(33), 6316-6320. *Real-Time Observation of a Molecular Reaction Mechanism of Aqueous 5-Halo-2'-deoxyuridines under UV/Ionizing Radiation.*
- [133] A. Adhikary, A. Kumar, D. Khanduri, M. D. Sevilla, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(31), 10282-10292. *Effect of Base Stacking on the Acid-Base Properties of the Adenine Cation Radical  $[A\bullet+]$  in Solution: ESR and DFT Studies.*
- [134] F. Shao, K. Augustyn, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127(49), 17445-17452. *Sequence Dependence of Charge Transport through DNA Domains.*
- [135] G. B. Schuster, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33(4), 253-260. *Long-Range Charge Transfer in DNA: Transient Structural Distortions Control the Distance Dependence.*
- [136] E. M. Conwell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102(25), 8795-8799. *Charge transport in DNA in solution: The role of polarons.*
- [137] E. M. Conwell, S. M. Bloch, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110(11), 5801-5806. *Base Sequence Effects on Transport in DNA.*
- [138] P. Maniadis, G. Kalosakas, K. Ø. Rasmussen, A. R. Bishop, *Phys. Rev. B* **2003**, 68(17), 174304. *Polaron normal modes in the Peyrard-Bishop-Holstein model.*
- [139] S. Komineas, G. Kalosakas, A. R. Bishop, *Phys. Rev. E* **2002**, 65(6), 061905. *Effects of intrinsic base-pair fluctuations on charge transport in DNA.*

- [140] E. M. Conwell, S. V. Rakhmanova, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97(9), 4556-4560. *Polarons in DNA*.
- [141] M. A. O'Neil, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(37), 11471-11483. *DNA Charge Transport: Conformationally Gated Hopping through Stacked Domains*.
- [142] T. T. Williams, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124(9), 1840-1841. *The Effect of Varied Ion Distributions on Long-Range DNA Charge Transport*.
- [143] T. Douki, D. Angelov, J. Cadet, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123(46), 11360-11366. *UV Laser Photolysis of DNA: Effect of Duplex Stability on Charge-Transfer Efficiency*.
- [144] F. Shao, M. A. O'Neill, J. K. Barton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101(52), 17914-17919. *Long-range oxidative damage to cytosines in duplex DNA*.
- [145] C. E. Crespo-Hernández, K. de La Harpe, B. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(33), 10844-10845. *Ground-State Recovery Following UV Excitation is Much Slower in G-C-DNA Duplexes and Hairpins Than in Mononucleotides*.
- [146] C. E. Crespo-Hernandez, B. Cohen, B. Kohler, *Nature* **2005**, 436(7054), 1141-1144. *Base stacking controls excited-state dynamics in A[middot]T DNA*.
- [147] I. Buchvarov, Q. Wang, M. Raytchev, A. Trifonov, T. Fiebig, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104(12), 4794-4797. *Electronic energy delocalization and dissipation in single- and double-stranded DNA*.
- [148] U. Kadhane, A. I. S. Holm, S. V. Hoffmann, S. B. Nielsen, *Phys. Rev. E* **2008**, 77(2), 021901. *Strong coupling between adenine nucleobases in DNA single strands revealed by circular dichroism using synchrotron radiation*.
- [149] T. Takaya, C. Su, K. de La Harpe, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105(30), 10285-10290. *UV excitation of single DNA and RNA strands produces high yields of exciplex states between two stacked bases*.
- [150] I. V. Kurnikov, G. S. M. Tong, M. Madrid, D. N. Beratan, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 106(1), 7-10. *Hole Size and Energetics in Double Helical DNA: Competition between Quantum Delocalization and Solvation Localization*.
- [151] D. B. Uskov, A. L. Burin, *Phys. Rev. B* **2008**, 78(7), 073106. *Strong localization of positive charge in DNA from a charge-balance theory*.
- [152] A. A. Voityuk, *J. Chem. Phys.* **2005**, 122(20), 204904-204904. *Charge transfer in DNA: Hole charge is confined to a single base pair due to solvation effects*.
- [153] J. C. Genereux, K. E. Augustyn, M. L. Davis, F. Shao, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(45), 15150-15156. *Back-Electron Transfer Suppresses the Periodic Length Dependence of DNA-Mediated Charge Transport across Adenine Tracts*.
- [154] B. Elias, J. C. Genereux, J. K. Barton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47(47), 9067-9070. *Ping-Pong Electron Transfer through DNA*.
- [155] C. R. Treadway, M. G. Hill, J. K. Barton, *Chem. Phys.* **2002**, 281(2-3), 409-428. *Charge transport through a molecular [pi]-stack: double helical DNA*.
- [156] M. G. Debije, M. T. Milano, W. A. Bernhard, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38(18), 2752-2756. *DNA Responds to Ionizing Radiation as an Insulator, Not as a "Molecular Wire"*.
- [157] A. Pezeshk, M. C. R. Symons, J. D. McClymont, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100(47), 18562-18566. *Electron Movement along DNA Strands: Use of Intercalators and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy*.
- [158] D. Whillans, *Biochim. Biophys. Acta* **1975**, 414(2), 193-205. *Studies of electron migration in DNA in aqueous solution using intercalating dyes*.
- [159] A. F. Fuciarelli, E. C. Sisk, J. H. Miller, J. D. Zimbrick, *Int. J. Radiat Biol.* **1994**, 66(5), 505 - 509. *Radiation-induced Electron Migration in Nucleic Acids*.
- [160] R. F. Anderson, G. A. Wright, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, 1, 4827-4831. *Energetics and rate of electron transfer in DNA from base radical anions to electron-affinic intercalators in aqueous solution*.
- [161] Z. Cai, Z. Gu, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104(44), 10406-10411. *Electron Spin Resonance Study of the Temperature Dependence of Electron Transfer in DNA: Competitive Processes of Tunneling, Protonation at Carbon, and Hopping*.

- [162] R. F. Anderson, K. B. Patel, W. R. Wilson, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1991**, 87, 3739-3746. *Pulse radiolysis studies of electron migration in DNA from DNA base-radical anions to nitroacridine intercalators in aqueous solution.*
- [163] A. Messer, K. Carpenter, K. Forzley, J. Buchanan, S. Yang, Y. Razskazovskii, Z. Cai, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2000**, 104(5), 1128-1136. *Electron Spin Resonance Study of Electron Transfer Rates in DNA: Determination of the Tunneling Constant  $\beta$  for Single-Step Excess Electron Transfer.*
- [164] Y. Razskazovskii, S. G. Swarts, J. M. Falcone, C. Taylor, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101(8), 1460-1467. *Competitive Electron Scavenging by Chemically Modified Pyrimidine Bases in Bromine-Doped DNA: Relative Efficiencies and Relevance to Intrastrand Electron Migration Distances.*
- [165] Z. Cai, Z. Gu, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105(25), 6031-6041. *Electron Spin Resonance Study of Electron and Hole Transfer in DNA: Effects of Hydration, Aliphatic Amine Cations, and Histone Proteins.*
- [166] X. Li, Z. Cai, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105(41), 10115-10123. *Investigation of Proton Transfer within DNA Base Pair Anion and Cation Radicals by Density Functional Theory (DFT).*
- [167] V. Y. Shafirovich, A. Dourandin, N. P. Luneva, N. E. Geacintov, *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101(30), 5863-5868. *Migration and Trapping of Photoinjected Excess Electrons in Double-Stranded B-Form DNA But Not in Single-Stranded DNA.*
- [168] F. D. Lewis, X. Liu, Y. Wu, S. E. Miller, M. R. Wasielewski, R. L. Letsinger, R. Sanishvili, A. Joachimiak, V. Tereshko, M. Egli, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121(42), 9905-9906. *Structure and Photoinduced Electron Transfer in Exceptionally Stable Synthetic DNA Hairpins with Stilbenediether Linkers.*
- [169] C. Wan, T. Fiebig, O. Schiemann, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97(26), 14052-14055. *Femtosecond direct observation of charge transfer between bases in DNA.*
- [170] C. Behrens, M. Ober, T. Carell, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2002(19), 3281-3289. *Excess Electron Transfer in Flavin-Capped DNA-Hairpins.*
- [171] S. Breeger, U. Hennecke, T. Carell, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(5), 1302-1303. *Excess Electron-Transfer-Based Repair of a Cis-Syn Thymine Dimer in DNA Is Not Sequence Dependent.*
- [172] S. Breeger, M. v. Meltzer, U. Hennecke, T. Carell, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12(25), 6469-6477. *Investigation of the Pathways of Excess Electron Transfer in DNA with Flavin-Donor and Oxetane-Acceptor Modified DNA Hairpins.*
- [173] F. Boussicault, O. Kruger, M. Robert, U. Wille, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2(19), 2742-2750. *Dissociative electron transfer to and from pyrimidine cyclobutane dimers: An electrochemical study.*
- [174] M. P. Scannell, G. Prakash, D. E. Falvey, *J. Phys. Chem. A* **1997**, 101(24), 4332-4337. *Photoinduced Electron Transfer to Pyrimidines and 5,6-Dihydropyrimidine Derivatives: Reduction Potentials Determined by Fluorescence Quenching Kinetics.*
- [175] MacFarlane, R. J. Stanley, *Biochemistry* **2003**, 42(28), 8558-8568. *Cis-Syn Thymidine Dimer Repair by DNA Photolyase in Real Time.*
- [176] Y.-T. Kao, C. Saxena, L. Wang, A. Sancar, D. Zhong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102(45), 16128-16132. *Direct observation of thymine dimer repair in DNA by photolyase.*
- [177] S. R. Yeh, D. E. Falvey, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113(22), 8557-8558. *Model studies of DNA photorepair: radical anion cleavage of thymine dimers probed by nanosecond laser spectroscopy.*
- [178] F. Masson, T. Laino, U. Rothlisberger, J. Hutter, *ChemPhysChem* **2009**, 10(2), 400-410. *A QM/MM Investigation of Thymine Dimer Radical Anion Splitting Catalyzed by DNA Photolyase.*
- [179] T. Ito, A. Hayashi, A. Kondo, T. Uchida, K. Tanabe, H. Yamada, S.-i. Nishimoto, *Org. Lett.* **2009**, 11(4), 927-930. *DNA Hairpins Containing a Diaminostilbene Derivative as a Photoinduced Electron Donor for Probing the Effects of Single-Base Mismatches on Excess Electron Transfer in DNA.*

- [180] T. Ito, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126(47), 15552-15559. *Reductive Electron Injection into Duplex DNA by Aromatic Amines.*
- [181] T. Ito, S. E. Rokita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(14), 1839-1842. *Criteria for Efficient Transport of Excess Electrons in DNA.*
- [182] P. Kaden, E. Mayer-Enthart, A. Trifonov, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44(11), 1636-1639. *Real-Time Spectroscopic and Chemical Probing of Reductive Electron Transfer in DNA.*
- [183] E. Mayer-Enthart, P. Kaden, H.-A. Wagenknecht, *Biochemistry* **2005**, 44(35), 11749-11757. *Electron Transfer Chemistry between DNA and DNA-Binding Tripeptides.*
- [184] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2005**, 11(6), 1871-1876. *Reductive Electron Transfer in Phenothiazine-Modified DNA Is Dependent on the Base Sequence.*
- [185] G. P. Cook, M. M. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118(42), 10025-10030. *A Novel Mechanism for the Formation of Direct Strand Breaks upon Anaerobic Photolysis of Duplex DNA Containing 5-Bromodeoxyuridine.*
- [186] H. Sugiyama, Y. Tsutsumi, K. Fujimoto, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115(11), 4443-4448. *Photoinduced deoxyribose C2' oxidation in DNA. Alkali-dependent cleavage of erythrose-containing sites via a retroaldol reaction.*
- [187] H. Sugiyama, Y. Tsutsumi, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112(18), 6720-6721. *Highly sequence-selective photoreaction of 5-bromouracil-containing deoxyhexanucleotides.*
- [188] S. T. Gaballah, J. D. Vaught, B. E. Eaton, T. L. Netzel, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109(12), 5927-5934. *Charge-Transfer Excited State Dynamics in DNA Hairpins Substituted with an Ethylenylpyrenyl-dU Electron Source and Halo-dU Traps.*
- [189] S. T. Gaballah, G. Collier, T. L. Netzel, *J. Phys. Chem. B* **2005**, 109(24), 12175-12181. *Charge Transfer Excited-State Dynamics in DNA Duplexes Substituted with an Ethynylpyrenyldeoxyuridine Electron Source and a Fluorodeoxyuridine Electron Trap.*
- [190] G. S. Blaustein, B. Demas, F. D. Lewis, A. L. Burin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 131(2), 400-401. *Charge Recombination in DNA Hairpins Controlled by Counterions.*
- [191] F. D. Lewis, P. Daublain, L. Zhang, B. Cohen, J. Vura-Weis, M. R. Wasielewski, V. Shafirovich, Q. Wang, M. Raytchev, T. Fiebig, *J. Phys. Chem. B* **2008**, 112(12), 3838-3843. *Reversible Bridge-Mediated Excited-State Symmetry Breaking in Stilbene-Linked DNA Dumbbells.*
- [192] C.-R. Wang, Q.-B. Lu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46(33), 6316-6320. *Real-time observation of a molecular reaction mechanism of aqueous 5-halo-2'-deoxyuridines under UV/Ionizing radiation.*
- [193] N. Rahe, C. Rinn, T. Carell, *Chem. Commun.* **2003**(17), 2120-2121. *Development of donor-acceptor modified DNA hairpins for the investigation of charge hopping kinetics in DNA.*
- [194] P. Hemmerich, C. Veeger, H. C. S. Wood, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1965**, 4(8), 671-687. *Progress in the Chemistry and Molecular Biology of Flavins and Flavocoenzymes.*
- [195] R. F. Hartman, S. D. Rose, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114(9), 3559-3560. *Efficient photosensitized pyrimidine dimer splitting by a reduced flavin requires the deprotonated flavin.*
- [196] A. Schwogler, T. Carell, *Org. Lett.* **2000**, 2(10), 1415-1418. *Toward Catalytically Active Oligonucleotides: Synthesis of a Flavin Nucleotide and Its Incorporation into DNA.*
- [197] A. Mees, C. Behrens, A. Schwögler, M. Ober, T. Carell, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003(14), 2670-2677. *Redoxactive Oligonucleotides: Synthesis and Properties of Flavocoenzyme-DNA.*
- [198] T. Carell, C. Behrens, J. Gierlich, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1(13), 2221-2228. *Electrontransfer through DNA and metal-containing DNA.*
- [199] C. Haas, K. Kräling, M. Cichon, N. Rahe, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(14), 1842-1844. *Excess Electron Transfer Driven DNA Does Not Depend on the Transfer Direction.*
- [200] A. Zweig, A. H. Maurer, B. G. Roberts, *J. Org. Chem.* **1967**, 32(5), 1322-1329. *Oxidation, reduction, and electrochemiluminescence of donor-substituted polycyclic aromatic hydrocarbons.*
- [201] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6(1), 48-50. *Phenothiazine as a redox-active DNA base substitute: comparison with phenothiazine-modified uridine.*

- [202] N. Amann, E. Pandurski, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8(21), 4877-4883. *Electron Injection into DNA: Synthesis and Spectroscopic Properties of Pyrenyl-Modified Oligonucleotides.*
- [203] C. Wanninger-Weiß, H.-A. Wagenknecht, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008(1), 64-71. *Synthesis of 5-(2-Pyrenyl)-2prime-deoxyuridine as a DNA Modification for Electron-Transfer Studies: The Critical Role of the Position of the Chromophore Attachment.*
- [204] K. Siegmund, P. Daublain, Q. Wang, A. Trifonov, T. Fiebig, F. D. Lewis, *J. Phys. Chem. B* **2009**, 113(50), 16276-16284. *Structure and Photoinduced Electron Transfer in DNA Hairpin Conjugates Possessing a Tethered 5'-Pyrenecarboxamide.*
- [205] C. Wanninger-Weiß, L. Valis, H.-A. Wagenknecht, *Biorg. Med. Chem.* **2008**, 16(1), 100-106. *Pyrene-modified guanosine as fluorescent probe for DNA modulated by charge transfer.*
- [206] F. D. Lewis, Y. Wu, X. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124(41), 12165-12173. *Synthesis, Structure, and Photochemistry of Exceptionally Stable Synthetic DNA Hairpins with Stilbene Diether Linkers.*
- [207] F. D. Lewis, Y. Wu, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41(18), 3485-3487. *DNA-Mediated Electron Transfer across Synthetic T:A•T Triplex Structures.*
- [208] F. D. Lewis, X. Liu, S. E. Miller, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124(38), 11280-11281. *Dynamics of Electron Injection in DNA Hairpins.*
- [209] J. Vura-Weis, M. R. Wasielewski, A. K. Thazhathveetil, F. D. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(28), 9722-9727. *Efficient Charge Transport in DNA Diblock Oligomers.*
- [210] M. Tanaka, B. Elias, J. K. Barton, *J. Org. Chem.* **2010**, 75(8), 2423-2428. *DNA-Mediated Electron Transfer in Naphthalene-Modified Oligonucleotides.*
- [211] F. Shao, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129(47), 14733-14738. *Long-Range Electron and Hole Transport through DNA with Tethered Cyclometalated Iridium(III) Complexes.*
- [212] F. Shao, B. Elias, W. Lu, J. K. Barton, *Inorg. Chem.* **2007**, 46(24), 10187-10199. *Synthesis and Characterization of Iridium(III) Cyclometalated Complexes with Oligonucleotides: Insights into Redox Reactions with DNA.*
- [213] P. N. Moorthy, E. Hayon, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97(12), 3345-3350. *Free-radical intermediates produced from the one-electron reduction of purine, adenine, and guanine derivatives in water.*
- [214] L. Xu, J. Jin, M. Lal, P. Daublain, M. Newcomb, *Org. Lett.* **2007**, 9(9), 1837-1840. *Compatible Injection and Detection Systems for Studying the Kinetics of Excess Electron Transfer.*
- [215] B. Carl, Dissertation, Universität Basel **2004**.
- [216] C. J. Cavallito, T. H. Haskell, *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68(11), 2332-2334.  *$\alpha$ -Methylene Butyrolactone from Erythronium americanum.*
- [217] M. B. Smith, J. March, *March's Advanced Organic Chemistry*, 6th ed., Wiley, New Jersey, **2007**.
- [218] B. B. Corson, R. A. Dodge, S. A. Harris, J. S. Yeaw, *Org. Synth.* **1926**, 1(6), 58-61. *Mandelic acid.*
- [219] T. Steiner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 48-76. *The hydrogen bond in the solid state.*
- [220] J. R. Yates, T. N. Pham, C. J. Pickard, F. Mauri, A. M. Amado, A. M. Gil, S. P. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 10216-10220. *An investigation of weak CH $\cdots$ O hydrogen bonds in Maltose anomers by a combination of calculation and experimental solid-state NMR spectroscopy.*
- [221] S. Hesse, M. A. Suhm, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11, 11157-11170. *On the low volatility of cyclic esters: an infrared spectroscopy comparison between dimers of  $\gamma$ -butyrolactone and methyl propionate.*
- [222] P. D. Vaz, P. J. A. Ribeiro-Claro, *Struct. Chem.* **2005**, 16(3), 287-293. *C-H $\cdots$ O hydrogen bonds in small ring carbonyl compounds: vibrational spectroscopy and ab initio calculations.*
- [223] A. C. Legon, *Chem. Rev.* **1980**, 80, 231-262. *Equilibrium conformations of four- and five-membered cyclic molecules in the gas phase: determination and classification.*
- [224] J. B. Lowry, B. V. Riggs, *Tetrahedron Lett.* **1964**, 39, 2911-2917. *Coupling constants and the conformation of  $\gamma$ -lactones.*
- [225] M. P. Galache, P. Garcés, A. L. Esteban, E. Diez, J. Guilleme, *Magn. Reson. Chem.* **1989**, 27, 44-49. *The  $\gamma$ -butyrolactone ring puckering.*

- [226] D. Enders, A. Hieronymi, A. Ridder, *Synlett* **2005**, 15, 2391-2393. *Asymmetric Synthesis of 4'-Quaternary 2'-Deoxy-3'-epi- $\beta$ -C-Nucleosides*.
- [227] T. Imamoto, T. Kusumoto, Y. Tawarayama, Y. Sugiura, T. Mita, Y. Hatanaka, M. Yokoyama, *J. Org. Chem.* **1984**, 49(21), 3904-3912. *Carbon-carbon bond-forming reactions using cerium metal or organocerium(III) reagents*.
- [228] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5th ed., Thieme, Stuttgart, **2002**.
- [229] M. Zhao, J. Li, E. Mano, Z. Song, D. M. Tschaen, E. J. J. Grabowski, P. J. Reieder, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 2564-2566. *Oxidation of primary alcohols to carboxylic acids with sodium chlorite catalyzed by TEMPO and bleach*.
- [230] G. A. Jeffrey, *An introduction to hydrogen bonding*, Oxford University Press, Inc., New York, **1997**.
- [231] P. Hobza, Z. Havlas, *Chem. Rev.* **2000**, 100(11), 4253-4264. *Blue-Shifting Hydrogen Bonds*.
- [232] B. O. Lindgren, T. Nilsson, *Acta Chem. Scand.* **1973**, 27, 888-890. *Preparation of carboxylic acids from aldehyds (including hydroxylated benzaldehydes) by oxidation with chlorite*.
- [233] A. Raach, O. Reiser, *J. Prakt. Chem.* **2000**, 342(6), 605-608. *Sodium chlorite-hydrogen peroxide - a mild selective reagent for the oxidation of aldehydes to carboxylic acids*.
- [234] B. Catalanotti, A. Galeone, L. Mayol, G. Oliviero, D. Rigano, M. Varra, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2001**, 20(10), 1831 - 1841. *Synthesis of 5-methylamino-2'-deoxyuridine derivatives*.
- [235] A. L. Gemal, J.-L. Luche, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 5454-5459. *Lanthanoids in Organic Synthesis. 6. The reduction of  $\alpha$ -enones by sodium borohydride in the presence of lanthanoid chlorides: synthetic and mechanistic aspects*.
- [236] S. Wawra, G. Fischer, in *Cis-Trans Isomerization in Biochemistry* (Ed.: C. Dugave), Wiley-VCH, Weinheim, **2006**, pp. 169-171.
- [237] R. S. Rasmussen, D. D. Tunnicliff, R. R. Brattain, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71(3), 1068-1072. *Infrared and Ultraviolet Spectroscopic Studies on Ketones*.
- [238] M. J. C. M. Koppes, A. M. Crabbendam, H. Cerfontain, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1988**, 107, 676-683. *Photochemistry of two diphenyl  $\beta,\gamma$ -enones and a series of methyl- and phenyl-substituted  $\alpha$ -phenyl ketones*.
- [239] M. Schutkowski, A. Bernhardt, X. Z. Zhou, M. Shen, U. Reimer, J.-U. Rahfeld, K. P. Lu, G. Fischer, *Biochemistry* **1998**, 37(16), 5566-5575. *Role of Phosphorylation in Determining the Backbone Dynamics of the Serine/Threonine-Proline Motif and Pin1 Substrate Recognition*.
- [240] S. L. Portnova, V. F. Bystrov, T. A. Balashova, V. T. Ivanov, Y. A. Ovchinnikov, *Russ. Chem. Bull.* **1970**, 19(4), 776-780. *cis-trans-isomerism of the peptide bond in N-methylated alanine dipeptides*.
- [241] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, Wiley VCH, Weinheim, **2006**.
- [242] J. Asakura, M. J. Robins, *J. Org. Chem.* **1990**, 55(16), 4928-4933. *Cerium(IV)-mediated halogenation at C-5 of uracil derivatives*.
- [243] R. G. W. Norrish, C. H. Bamford, *Nature* **1936**, 136(3502), 1016-1016. *Photodecomposition of Aldehydes and Ketones*.
- [244] R. G. W. Norrish, C. H. Bamford, *Nature* **1937**, 140(3535), 195-196. *Photo-decomposition of Aldehydes and Ketones*.
- [245] S. J. Formosinho, L. G. Arnaut, *Adv. Photochem.* **1991**, 16, 67-117. *A unified view of ketone photochemistry*.
- [246] G. P. Laroff, R. W. Fessenden, *J. Phys. Chem.* **1973**, 77(10), 1283-1288. *Equilibrium and kinetics of the acid dissociation of several hydroxyalkyl radicals*.
- [247] L. Xu, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **2005**, 70(23), 9296-9303. *Acid-, Base-, and Lewis-Acid-Catalyzed Heterolysis of Methoxide from an  $\alpha$ -Hydroxy- $\beta$ -methoxy Radical: Models for Reactions Catalyzed by Coenzyme B12-Dependent Diol Dehydratase*.
- [248] M. S. Akhlaq, C. P. Murthy, S. Steenken, C. Von Sonntag, *J. Phys. Chem.* **1989**, 93(10), 4331-4334. *Reaction of  $\alpha$ -hydroxyalkyl radicals and their anions with oxidized dithiothreitol: a pulse radiolysis and product analysis study*.
- [249] H. A. Schwarz, R. W. Dodson, *J. Phys. Chem.* **1989**, 93(1), 409-414. *Reduction potentials of CO<sub>2</sub>- and the alcohol radicals*.

- [250] T. Hasegawa, Y. Yamazaki, M. Yoshioka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, 66(10), 3128-3131. *Novel Biradical Cyclization via Remote-Hydrogen Transfer in Photochemistry of 2-dialkylaminoethyl 3-Benzoylacrylates.*
- [251] R. Breslow, S. Baldwin, T. Flechtner, P. Kalicky, S. Liu, W. Washburn, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95(10), 3251-3262. *Remote oxidation of steroids by photolysis of attached benzophenone groups.*
- [252] S. G. Cohen, A. Parola, G. H. Parsons, *Chem. Rev.* **1973**, 73(2), 141-161. *Photoreduction by amines.*
- [253] S. Ohta, A. Tsujimura, M. Okamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29(10), 2762-2768. *Use of  $\beta$ -ketocarboxylic acids for syntheses of 6-substituted 4-hydroxy-2-pyrones and acyclic  $\beta$ -diketones.*
- [254] M. J. Gait, *Oligonucleotide Synthesis. A practical approach*, IRL Press, Oxford, **1984**.
- [255] S. Doonan, *Nucleic Acids*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2004**.
- [256] S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, 48(12), 2223-2311. *Advances in the Synthesis of Oligonucleotides by the Phosphoramidite Approach.*
- [257] B. C. Froehler, P. G. Ng, M. D. Matteucci, *Nucl. Acids Res.* **1986**, 14(13), 5399-5407. *Synthesis of DNA via deoxynucleoside H-phosphonate Intermediates.*
- [258] B. C. Fröhler, in *Protocols for oligonucleotide and analogs, synthesis and properties. Methods in molecular biology* (Ed.: S. Agrawal), Humana Press, New Jersey, **1993**, pp. 63-80.
- [259] T. Carl, Dissertation, Universität Basel (Basel), **2004**.
- [260] M. Ahmadian, d. E. Bergstrom, in *Modified Nucleosides* (Ed.: P. Herdewijn), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, pp. 253-255.
- [261] K. J. Breslauer, R. Frank, H. Blöcker, L. A. Marky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, 83(11), 3746-3750. *Predicting DNA duplex stability from the base sequence.*
- [262] R. Owczarzy, Y. You, B. G. Moreira, J. A. Manthey, L. Huang, M. A. Behlke, J. A. Walder, *Biochemistry* **2004**, 43(12), 3537-3554. *Effects of Sodium Ions on DNA Duplex Oligomers: Improved Predictions of Melting Temperatures.*
- [263] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of The Cell*, 5. ed., Garland Science, Taylor & Francis group, New York, **2008**.
- [264] A. Bøgevig, H. Sundén, A. Córdova, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(9), 1109-1112. *Direct Catalytic Enantioselective  $\alpha$ -Aminoxylation of Ketones: A Stereoselective Synthesis of  $\alpha$ -Hydroxy and  $\alpha,\alpha$ -Dihydroxy Ketones.*
- [265] Y. Hayashi, J. Yamaguchi, T. Sumiya, M. Shoji, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(9), 1112-1115. *Direct Proline-Catalyzed Asymmetric  $\alpha$ -Aminoxylation of Ketones.*
- [266] H. Sundén, M. Engqvist, J. Casas, I. Ibrahim, A. Córdova, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43(47), 6532-6535. *Direct Amino Acid Catalyzed Asymmetric  $\alpha$  Oxidation of Ketones with Molecular Oxygen.*
- [267] G. M. Rubottom, M. A. Vazquez, D. R. Pelegrina, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 15(49-50), 4319-4322. *Peracid oxidation of trimethylsilyl enol ethers: A facile [ $\alpha$ ]-hydroxylation procedure.*
- [268] C. S. Beshara, A. Hall, R. L. Jenkins, K. L. Jones, T. C. Jones, N. M. Killeen, P. H. Taylor, S. P. Thomas, N. C. O. Tomkinson, *Org. Lett.* **2005**, 7(25), 5729-5732. *A General Method for the  $\alpha$ -Acyloxylation of Carbonyl Compounds.*
- [269] B. M. O'Keefe, N. Simmons, S. F. Martin, *Org. Lett.* **2008**, 10(22), 5301-5304. *Carbonylative Cross-Coupling of ortho-Disubstituted Aryl Iodides. Convenient Synthesis of Sterically Hindered Aryl Ketones.*
- [270] A. Deagostino, P. Larini, E. G. Occhiato, L. Pizzuto, C. Prandi, P. Venturello, *J. Org. Chem.* **2008**, 73(5), 1941-1945. *Synthesis of Weinreb Amides via Pd-Catalyzed Aminocarbonylation of Heterocyclic-Derived Triflates.*
- [271] R. W. Murray, M. Singh, *Org. Synth.* **1998**, 9, 288. *Synthesis of epoxides using dimethoxydioxirane: trans-stilbene oxide.*
- [272] T. Ohshima, *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, 52(9), 1031-1052. *Enantioselective Total Syntheses of Several Bioactive Natural Products Based on the Development of Practical Asymmetric Catalysis.*
- [273] Z.-X. Wang, Y. Tu, M. Frohn, J.-R. Zhang, Y. Shi, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119(46), 11224-11235. *An Efficient Catalytic Asymmetric Epoxidation Method.*

- [274] J. M. Concellón, E. Bardales, *Org. Lett.* **2003**, 5(25), 4783-4785. *The First Transformation of Aliphatic  $\alpha,\beta$ -Epoxyamides into  $\alpha$ -Hydroxyamides.*
- [275] Katsuhiko Tomooka, Katsuya Ishikawa, M. Al-Masum, T. Nakai, *Synlett* **1993**, 9, 645-646. *Regio- and Stereocontrol in the Reductive Ring Opening of the Spirocyclic Epoxide Derived from the 4-Siloxy-2-cyclopentenone.*
- [276] P. Magnus, A. H. Payne, M. J. Waring, D. A. Scott, V. Lynch, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41(50), 9725-9730. *Conversion of  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones into  $\alpha$ -hydroxy ketones using an Mn(III) catalyst, phenylsilane and dioxygen: acceleration of conjugate hydride reduction by dioxygen.*
- [277] M. Sato, Y. Gunji, T. Ikeno, T. Yamada, *Chem. Lett.* **2004**, 33(10), 1304-1305. *Stereoselective Preparation of  $\alpha$ -Hydroxycarboxamide by Manganese Complex Catalyzed Hydration of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Carboxamide with Molecular Oxygen and Phenylsilane.*
- [278] J. L. Wood, G. A. Moniz, D. A. Pflum, B. M. Stoltz, A. A. Holubec, H.-J. Dietrich, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121(8), 1748-1749. *Development of a Rhodium Carbenoid-Initiated Claisen Rearrangement for the Enantioselective Synthesis of  $\alpha$ -Hydroxy Carbonyl Compounds.*
- [279] C. Schwartz, J. Raible, K. Mott, P. H. Dussault, *Tetrahedron* **2006**, 62(46), 10747-10752. *'Reductive ozonolysis' via a new fragmentation of carbonyl oxides.*
- [280] K. Burger, G. Radics, L. Hennig, C. Böttcher, J. Spengler, F. Albericio, *Monatsh. Chem.* **2005**, 136(5), 763-776. *Orthogonally Protected, Carboxy-Activated L-Homoisoserine, 2-Methyl-L-homoisoserine, and Homoisocysteine Derivatives. New Building Blocks for Peptide and Depsipeptide Modification.*
- [281] R. Pires, K. Burger, *Synthesis* **1996**, 11, 1277-1279. *A new method for the synthesis of (S)- $\alpha$ -Methylisoserine and its incorporation into peptides.*
- [282] J. Petruska, M. F. Goodman, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270(2), 746-750. *Enthalpy-Entropy Compensation in DNA Melting Thermodynamics.*
- [283] J. Petruska, M. F. Goodman, M. S. Boosalis, L. C. Sowers, C. Cheong, I. Tinoco, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, 85(17), 6252-6256. *Comparison between DNA melting thermodynamics and DNA polymerase fidelity.*
- [284] L. A. Marky, K. J. Breslauer, *Biopolymers* **1987**, 26(9), 1601-1620. *Calculating thermodynamic data for transitions of any molecularity from equilibrium melting curves.*
- [285] R. Owczarzy, I. Dunitz, M. A. Behlke, I. M. Klotz, J. A. Walder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100(25), 14840-14845. *Thermodynamic treatment of oligonucleotide duplex-simplex equilibria.*
- [286] J. Butenandt, A. P. M. Eker, T. Carell, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4(4), 642-654. *Synthesis, Crystal Structure, and Enzymatic Evaluation of a DNA-Photolesion Isostere.*
- [287] T. Chen, G. P. Cook, A. T. Koppisch, M. M. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122(16), 3861-3866. *Investigation of the Origin of the Sequence Selectivity for the 5-Halo-2'-deoxyuridine Sensitization of DNA to Damage by UV-Irradiation.*
- [288] H. B. Gray, D. A. Ostrander, J. L. Hodnett, R. J. Legerski, D. L. Robberson, *Nucleic Acids Res.* **1975**, 2(9), 1459-1492. *Extracellular nucleases of Pseudomonas BAL 31. I. Characterization of single strand-specific deoxyriboendonuclease and double-strand deoxyriboexonuclease activities.*
- [289] R. J. Legerski, J. L. Hodnett, H. B. Gray, *Nucleic Acids Res.* **1978**, 5(5), 1445-1464. *Extracellular nucleases of pseudomonas BAL 31. III. Use of the double-strand deoxyriboexonuclease activity as the basis of a convenient method for the mapping of fragments of DNA produced by cleavage with restriction enzymes.*
- [290] S. G. Patching, D. A. Middleton, P. J. F. Henderson, R. B. Herbert, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1(12), 2057-2062. *The economical synthesis of [2'-<sup>13</sup>C, 1,3-<sup>15</sup>N<sub>2</sub>]uridine; preliminary conformational studies by solid state NMR.*
- [291] G. E. Hilbert, T. B. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, 52(11), 4489-4494. *Researches on pyrimidines. CXVII. A method for the synthesis of nucleosides.*
- [292] T. Nishimura, B. Shimizu, I. Iwai, *Chem. Pharm. Bull.* **1963**, 11(11), 1470-1472. *A new synthetic method of nucleosides.*
- [293] H. Vorbrüggen, *Acta Biochim. Pol.* **1996**, 43(1), 25-36. *Some recent trends and progress in nucleoside synthesis.*

- [294] G. M. Blackburn, M. J. Gait, D. Loakes, D. M. Williams, *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*, 3. ed., Royal Society of Chemistry, Cambridge, **2006**.
- [295] F. D. Lewis, H. Zhu, P. Daublain, T. Fiebig, M. Raytchev, Q. Wang, V. Shafirovich, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *128*(3), 791-800. *Crossover from Superexchange to Hopping as the Mechanism for Photoinduced Charge Transfer in DNA Hairpin Conjugates*.
- [296] J. Gu, Y. Xie, H. F. Schaefer, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*(4), 1250-1252. *Near 0 eV Electrons Attach to Nucleotides*.
- [297] J. Simons, *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*(10), 772-779. *How Do Low-Energy (0.1–2 eV) Electrons Cause DNA-Strand Breaks?*
- [298] J. Gu, Y. Xie, Henry F. S. III, *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16*(17), 5089-5096. *Electron Attachment to Hydrated Oligonucleotide Dimers: Guanylyl-3',5'-Cytidine and Cytidylyl-3',5'-Guanosine*.
- [299] L. Caron, L. Sanche, S. Tonzani, C. H. Greene, *Phys. Rev. A* **2009**, *80*, 012705. *Low-energy electron scattering from DNA including structural water and base-pair irregularities*.
- [300] C. Wan, T. Fiebig, S. O. Kelley, C. R. Treadway, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*(11), 6014-6019. *Femtosecond dynamics of DNA-mediated electron transfer*.
- [301] W. K. Olson, M. Bansal, S. K. Burley, R. E. Dickerson, M. Gerstein, S. C. Harvey, U. Heinemann, X.-J. Lu, S. Neidle, Z. Shakked, H. Sklenar, M. Suzuki, C.-S. Tung, E. Westhof, C. Wolberger, H. M. Berman, *J. Mol. Biol.* **2001**, *313*(1), 229-237. *A standard reference frame for the description of nucleic acid base-pair geometry*.
- [302] H. Park, K. Zhang, Y. Ren, S. Nadji, N. Sinha, J.-S. Taylor, C. Kang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*(25), 15965-15970. *Crystal structure of a DNA decamer containing a cis-syn thymine dimer*.
- [303] G. Negrón, G. Calderón, F. Vázquez, L. Lomas, J. Cárdenas, C. Márquez, R. Gaviño, *Synth. Commun.* **2002**, *32*(13), 1977 - 1984. *1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions Of 3',5'-Bis-O-Silyl-Thymidines. Synthesis Of Novel Azabicyclic Compounds*.
- [304] A. Cappelli, G. I. Pericot Mohr, A. Gallelli, G. Giuliani, M. Anzini, S. Vomero, M. Fresta, P. Porcu, E. Maciocco, A. Concas, G. Biggio, A. Donati, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*(17), 3568-3571. *Structure–Activity Relationships in Carboxamide Derivatives Based on the Targeted Delivery of Radionuclides and Boron Atoms by Means of Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligands*.
- [305] R. Frenette, M. Kakushima, r. Zamboni, R. N. Young, T. R. Verhoeven, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*(2), 304-307. *Stereoselective reduction of  $\gamma$ -oxo- $\gamma$ -benzenebutanoic acids*.

## Curriculum vitae

---

### PERSÖNLICHE ANGABEN

Name: Christian Trindler  
Geburtstag: 17.08.1981  
Geburtsort: Rheinfelden, Schweiz  
Nationalität: Schweiz/Deutschland  
Familienstand: ledig

### UNIVERSITÄT

07/2006 – heute      **Promotion in Organischer Chemie**  
im Arbeitskreis von Prof. Dr. T. Carell  
  
Fakultät für Chemie und Pharmazie,  
Ludwig-Maximilians-Universität, München  
  
Thema: “Synthese und Charakterisierung eines Ein-Elektronen-  
Donors für Studien des Überschusselektronentransfers in DNA”

10/2001 – 04/2006      **Diplomstudium der Naturwissenschaften (Biologie)**  
ETH Zürich, Department für Biologie  
  
**Diplomarbeit in Medizinalchemie**  
im Arbeitskreis von Prof. Dr. F. Diederich  
  
Thema: “Synthese und *in vitro* Bewertung carbonukleosidischer  
Aristeromycinderivate als Bisubstratinhibitoren der Catechol-*O*-  
Methyltransferase“

### SCHULISCHE AUSBILDUNG

08/1996 – 12/2000      Gymnasium Muttenz (BL)/Schweiz  
  
08/1992 – 07/1996      Bezirksschule Rheinfelden (AG)/Schweiz

### STIPENDIEN

11/2007 – 11/2008      **Novartis** Graduierten Stipendium in Organischer Chemie  
  
07/2006 – 08/2007      **EU Marie-Curie** Forschungsstipendium