

Zusammenfassung

Poly- und monocyclische aromatische Amine gehören zu der Klasse chemischer Carcinogene, die, nach metabolischer Aktivierung, kovalente Addukte mit der DNA bilden. Werden diese Schäden nicht repariert, können sie den Ablauf der Transkription beeinflussen und so Mutationen verursachen bzw. Krebs auslösen. Die wichtigste Angriffsstelle ist die C8-Position von 2'-Desoxyguanosin **23** (dG). Zur Untersuchung der mutagenen Effekte, sowie der Struktur und Reparatur dieser Addukte war es Ziel der vorliegenden Arbeit, eine Strategie zur selektiven Einführung dieser Arylamin-dG-Addukte in Oligonucleotide zu entwickeln.

Erstes Ziel war die Synthese der Phosphoramidite **102-105** und zuvor die Darstellung der Arylamin-dG-Addukte **76** und **78-83**. Schlüsselschritt dieser Synthese war die Palladium-katalysierte Buchwald-Hartwig-Reaktion, die eine vorhergehende Schützung von 2'-Desoxyguanosin **23** notwendig machte.

Nach Schützung von dG **23** mit *t*-Butyldimethylsilylethern in 3'- und 5'-Position wurde die exocyclische Aminogruppe als *i*-Butyramid geschützt. Nach Überführung der Amidfunktion der Guanineinheit in einen Azaenolether konnten die gewünschten Addukte mit einer Palladium-katalysierten Reaktion in guten Ausbeuten von 66-80 % erhalten werden (vgl. Kap. 4.1.2.2, S. 35, sowie Abb. 1).

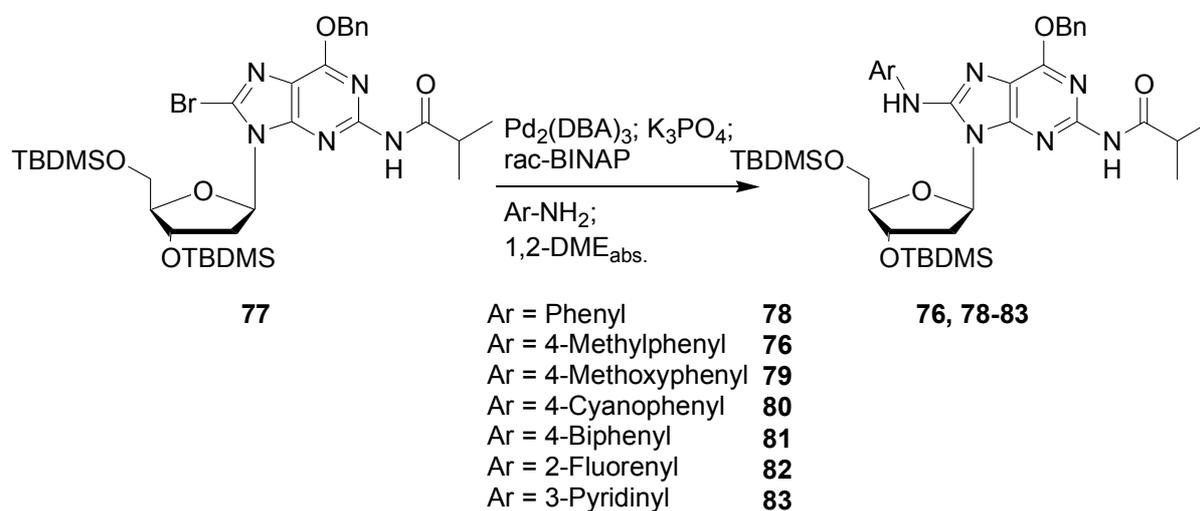


Abb. 1 Durch Buchwald-Hartwig-Reaktion dargestellte dG-Addukte

Die Addukte wurden auf zwei unterschiedlichen Wegen desilyliert und debenzilyliert mit Ausbeuten von bis zu 98 % über zwei Stufen. Lediglich die exocyclische Aminogruppe wurde nicht entschützt, da die *i*-Butyryl-Gruppe an dieser Position eine Standardschutzgruppe für die Oligonucleotidsynthese an der festen Phase ist. Die erhaltenen Verbindungen **60** und **89-91**

wurden durch Dimethoxytritylierung und Phosphitylierung in die entsprechenden Oligonucleotidbausteine **102-105** überführt (vgl. Kap. 4.1.2.2, S. 35, sowie Abb. 2).

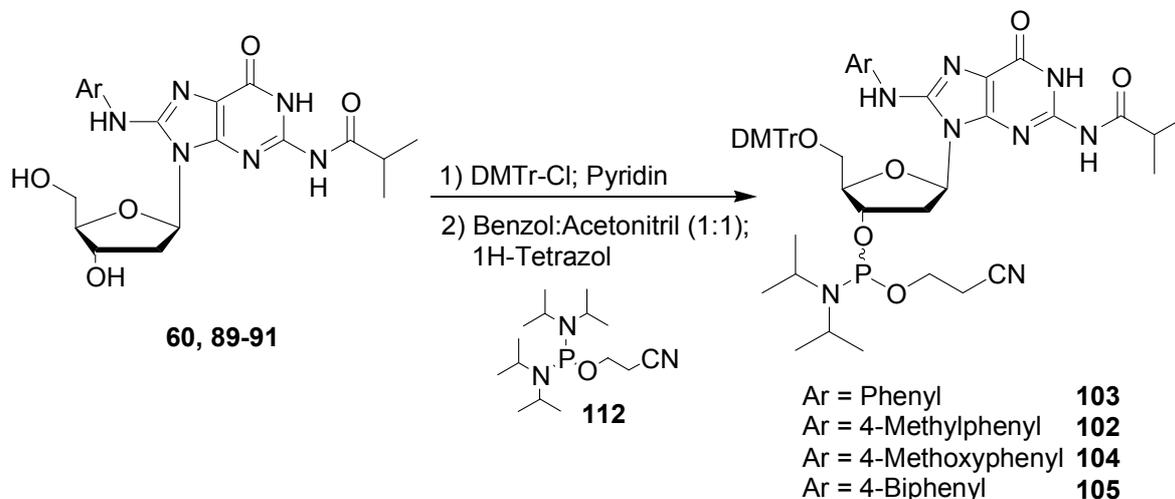


Abb. 2 Dimethoxytritylierung und Phosphitylierung der Addukte **60** und **89-91**

Die Phosphoramidite **102-105** wurden in drei verschiedene Oligonucleotidsequenzen eingebaut. Eine Sequenz von vierzehn dT mit einer Modifikation in der Mitte (d(5'-TTTTTTT(G*)TTTTTTT)), sowie eine Sequenz des Maus *c-H-ras* Protoonkogens (d(5'-TACTCTTCTT(G*)ACCT)) wurden dargestellt, um die Effekte der Modifikation auf Hybridisierung und Struktur der resultierenden DNA-Helices zu untersuchen. Als Ergebnis der CD- und T_m -Wert-Untersuchungen konnte weder für die Addukte der Grenzcancerogene Anilin, p-Toluidin und p-Anisidin noch für das Addukt des starken Carcinogens 4-Aminobiphenyl ein Unterschied in Hybridisierung oder Struktur des DNA-Stranges beobachtet werden.

Um die Effekte von C8-Arylamin-Addukten auf die Wirkungsweise verschiedener DNA-Polymerasen zu untersuchen, wurden Oligonucleotide mit der Sequenz d(5'-GTGCGTCTGTCG(G*)TGTCTGTCAGAAATTCGCACCAC) synthetisiert und als Template in Primer-Verlängerungs-Untersuchungen mit drei verschiedenen DNA-Polymerasen (*KF exo⁻*, *Pfu exo⁻* und *Pol β*) eingesetzt (vgl. Kap. 4.2.8, S. 84).

Die Primer-Verlängerungs-Experimente zeigten Unterschiede zwischen den drei Polymerasen und den vier Modifikationen. Der auffälligste Effekt konnte für das 4-Aminobiphenyl-modifizierte Template und die DNA-Polymerase *Pol β* beobachtet werden. Ein signifikanter Einbau der falschen Base (dGTP anstelle von dCTP) gegenüber der darauffolgenden Nucleobase wurde beobachtet. Dieser Effekt konnte ebenso, jedoch viel schwächer, bei den Grenzcancerogen-Addukten nachgewiesen werden. Ferner konnte ebenfalls eine Erhöhung der Selektivität der Polymerasen beobachtet werden.