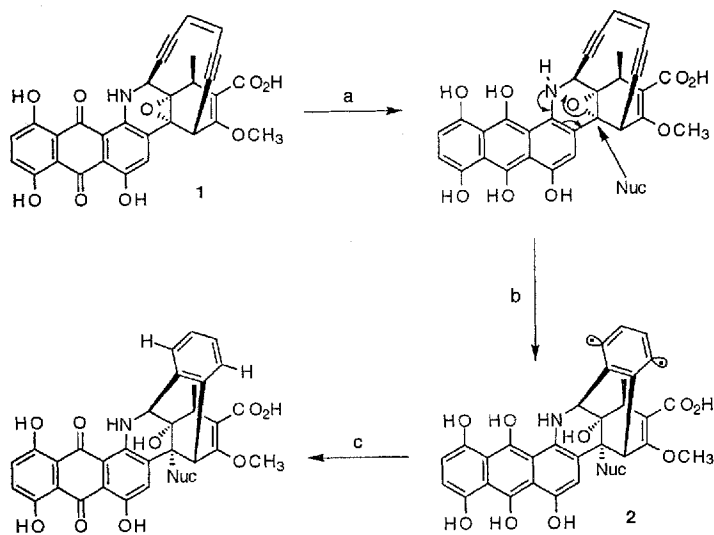


Endiin-Chinonimine: verkleinerte, biologisch aktive Dynemicinanaloge**

Matthew D. Shair, Taeyoung Yoon, Ting-Chao Chou und Samuel J. Danishefsky*

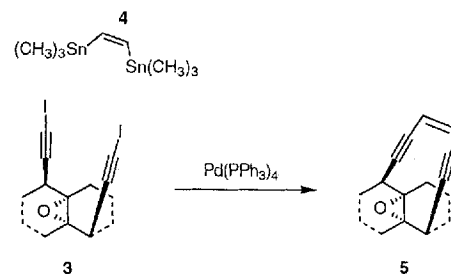
Durch das neuartige Endiin-Antibiotikum Dynemicin A **1**^[1] wurden zahlreiche interessante Forschungstätigkeiten ausgelöst, z. B. Untersuchungen zur Spaltung von DNA^[2], das Design von neuen Prodrugs^[3] und die Entwicklung von neuen Methoden für die Totalsynthese von Endiin-Antibiotika^[3a, 4]. Nach einer weit verbreiteten Annahme^[5] zur Wirkungsweise von **1** als Diyl-Vorstufe ist zunächst die Reduktion des Chinons zum Hydrochinon erforderlich. Dabei wird das freie Elektronenpaar am Stickstoffatom gelockert, so daß es den Angriff eines (nucleophilen) Lösungsmittelmoleküls auf das Epoxid unterstützen kann (Schema 1). Die Öffnung dieses Epoxids ist ein



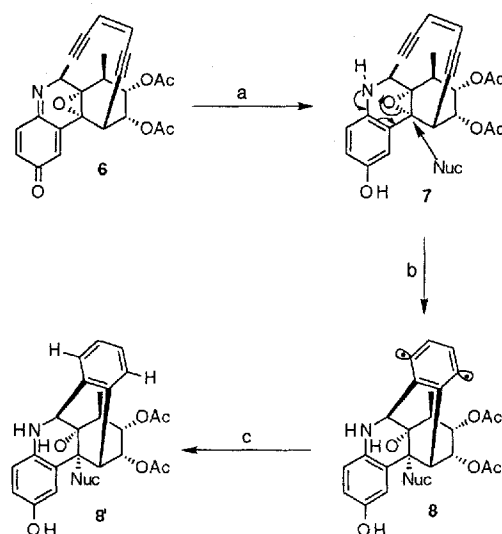
Schema 1. Wirkungsweise von Dynemicin A. a) Reduktion, b) Bergman-Cyclisierung, c) DNA-Spaltung durch H-Abstraktion. Nuc = Nucleophil.

wesentlicher Schritt auf dem Weg zur Bergman-Cyclisierung (Endiin \rightarrow 1,4-Diyl)^[6]. Die Cytotoxizität von **1** stammt vermutlich von der DNA-Spaltungstendenz des Diyls **2** oder seines Chinon-Gegenstücks^[2]. Der Dihydroxynaphthochinon-Bereich wechselwirkt dabei intercalierend und nichtkovalent mit der DNA, so daß die reaktive Gruppe in Richtung auf das Oligonucleotid gelenkt wird^[5b, 7].

Kürzlich haben wir die Synthesen von Zwischenstufen vom Typ **5** durch Kupplung von Diiodalkinen vom Typ **3** und *cis*-Distannylethylenen wie **4** in Gegenwart von Tetrakis(triphenylphosphan)palladium(0) beschrieben^[8, 9] (Schema 2). Mit diesen Erfahrungen lenkten wir unsere Aufmerksamkeit auf die Synthese von Chinoniminen wie **6** (Schema 3). Wir hofften, daß



Schema 2. Allgemeine Formulierung der Palladium-induzierten Bildung von Endiinen.



Schema 3. Vorgeschlagener Mechanismus zur Wirkungsweise des Chinonimins **6**. a) Reduktion, b) Bergman-Cyclisierung, c) DNA-Spaltung durch H-Abstraktion.

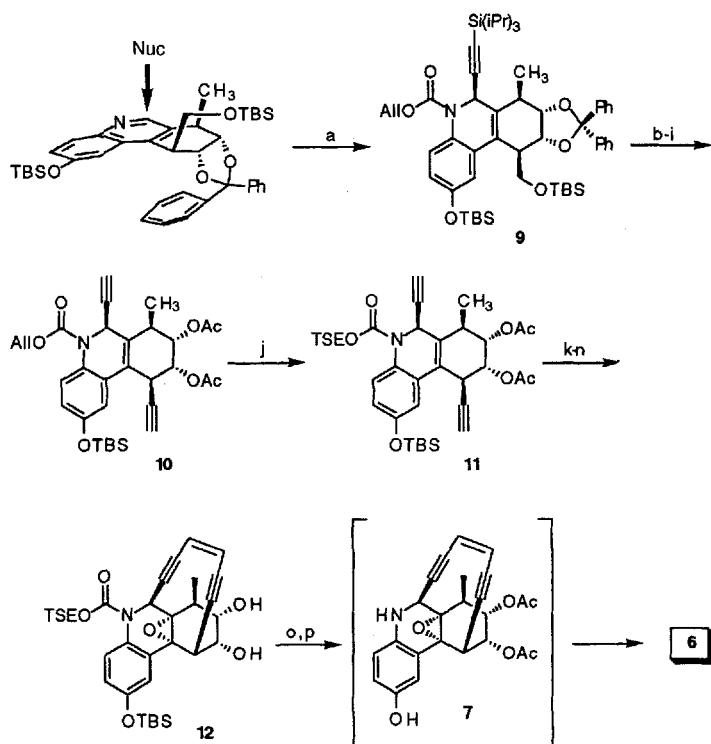
Verbindungen mit dieser Struktur reduktiv aktiviert werden können, um eine Dynemicin-A-analoge Kaskade auszulösen (**6** \rightarrow **7** \rightarrow **8**), und daß **6** durch Oxidation einer kurzlebigen Hydroisochinolin-Vorstufe wie **7** erhalten werden kann. Da ein Epoxid wie in **7** gegenüber einer (nucleophilen) Öffnung sehr empfindlich ist (und damit auch gegenüber der nachfolgenden 1,4-Diyl-Bildung), muß **7** unter milden Bedingungen aus einer einfach zu spaltenden Carbamat-Vorstufe gebildet werden. Aufgrund unserer guten Erfahrungen mit der Freisetzung von Aminfunktionen in instabilen Molekülen aus den entsprechenden (Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl (TEOC)-geschützten Aminen^[10] verwendeten wir auch hier diese Schutzgruppe.

Die TEOC-Gruppe kann allerdings nicht von Beginn der Synthese an verwendet werden, da im Lauf der Synthese mehrfach desilyliert werden muß, wobei auch das Urethan gespalten würde. Dementsprechend stellten wir das Allylcarbamat **9**^[8, 11] her (Schema 4). Nach einer kürzlich entwickelten Vorschrift^[8, 9] wurde **9** dann in **10** überführt. Wegen der späteren palladium-vermittelten Kupplung war es notwendig das Allylcarbamat auf der Stufe von **10** zu spalten und die TEOC-Gruppe unter Bildung von **11** einzuführen^[12]. Das Diin **11** wurde in **12** überführt, und nach Acetylierung wurden die beiden Silylschutzgruppen mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid abgespalten. Die sofort anschließende Oxidation der gebildeten instabilen Zwischenstufe **7** mit PhI(OAc)_2 lieferte das Chinon **6**. Die Umwandlung **7** \rightarrow **6** ist unseres Wissens das erste Beispiel für eine gezielte chemische Reaktion eines derartigen Epoxyendiins, bei dem das Stickstoffatom nicht mit einer Carbonylgruppe konjugiert ist.

[*] Prof. S. J. Danishefsky^[+], M. D. Shair^[+], T. Yoon, T.-C. Chou
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research
Laboratory for Bioorganic Chemistry
1275 York Avenue, Box 106, New York, NY 10021 (USA)
Telefax: Int. + 212/772-8691

[+] Auch: Department of Chemistry, Havemeyer Hall
Columbia University, New York, NY 10027 (USA)

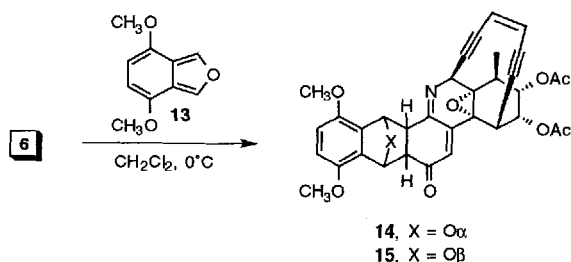
[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (Grant CA 28824) und vom Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (Stipendium für M. D. S.) gefördert. Wir danken Professor A. G. Myers für einen Vorabdruck eines Manuskripts, in dem er ähnliche Entwicklungen beschreibt.



Schema 4. Synthese von **6**: a) (TIPS)C≡CMgBr, CICO₂AlI, THF, -20 °C (75%); b) konz. HCl (1 Äquiv.), THF (90%); c) (COCl)₂, DMSO, Et₃N, -78 °C (95%); d) Ph₃P, CBr₄, CH₂Cl₂ (90%); e) *n*BuLi, Toluol, -78 °C (81%); f) TBAF, THF; g) konz. HCl, MeOH; h) NaH, TBSCl; i) Ac₂O, Py, DMAP, CH₂Cl₂ (60% über vier Stufen); j) Pd(PPh₃)₄, Morpholin, THF, dann NaH, TEOCCl (90%); k) NH₂NH₂, THF/MeOH (100%); l) *m*CPBA, CH₂Cl₂ (80%); m) AgNO₃, NIS, THF (93%); n) Pd(PPh₃)₄, DMF, 70 °C (80%); o) Ac₂O, Py, DMAP, CH₂Cl₂ (96%); p) TBAF, THF, 0 °C, 3 h, dann PhI(OAc)₂ (60%). – TIPS = Triisopropylsilyl, All = Allyl, DMSO = Dimethylsulfoxid, TBAF = Tetra-*n*-butylammoniumfluorid, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, DMAP = 4-Dimethylamino-pyridin, TSE = (Trimethylsilyl)ethyl, TEOC = (Trimethylsilyl)ethoxycarbonyl, *m*CPBA = *meta*-Chlorperbenzoesäure, NIS = *N*-Iodsuccinimid, DMF = Dimethylformamid.

Im Hinblick auf eine Synthese von Dynemicin und von analogen Verbindungen haben wir die Dienophilie der Chinonimin-Gruppe in Gegenwart der verbrückenden Endiineinheit anhand der Cycloaddition des Chinonimins **6** an das Isobenzofuran **13**^[13] untersucht (Schema 5). Bei 0 °C in Dichlormethan wurden zwei Produkte, **14** und **15**, in 86% Gesamtausbeute im Verhältnis 2.5:1 gebildet^[14]. Untersuchungen zur Anwendung solcher Cycloadditionen von Chinoniminen zur Synthese von Dynemicin A sind im Gange.

Neben der Totalsynthese interessierte uns bei der Untersuchung dieser Endiin-Chinonimine auch, ob sie im Sinne der Reaktionsfolge **6** → **7** → **8** (Schema 3) biologisch aktiv sind. Wir erhielten dazu einige vielversprechende Ergebnisse.



Schema 5. Cycloaddition des Chinonimins **6** an das Isobenzofuran **13**.

Verbindung **6** ist gegenüber sehr vielen Tumorzellarten stark cytotoxisch (IC₅₀ ca. 5×10^{-4} μM, Tabelle 1) und damit erheblich wirksamer als der häufig verwendete Wirkstoff Mitomycin C. Beispielsweise ist bei menschlichen promyelocytischen Leukämiezellarten seine Wirksamkeit gemessen am IC₅₀-Wert 83mal höher als die von Mitomycin C, bei akut wirkenden lymphoblastischen T-Zellen (CCRF-CEM) sogar 280mal höher. In entsprechenden Vergleichen mit Methansulfonsäure-4-(9-acridinylamino)-*m*-anisidid (*m*AMSA)^[15] ist **6** bei den gleichen Zelllinien 70- bzw. 400mal wirksamer.

Tabelle 1. Vergleich der Cytotoxizitäten von **6**, Mitomycin C und *m*AMSA bei menschlichen promyelocytischen Leukämiezellen A und menschlichen, akut wirkenden lymphoblastischen T-Zellen (CCRF-CEM) B.

Verbindung	IC ₅₀ [μM] bei A	IC ₅₀ [μM] bei B
6	0.00058	0.0005
Mitomycin C	0.0484	0.140
<i>m</i> AMSA	0.0388	0.199

Die Fähigkeit von **6** zur Zerstörung von DNA wurden mit pBR322-DNA untersucht (Abb. 1). Die reduktive Aktivierung mit NADPH und die mit Dithiothreitol (DTT) wurden verglichen, wobei sich herausstellte, daß letztere effektiver ist. Bei der Einzelstrangspaltung übertraf das Chinonimin **6** den Wirkstoff Mitomycin C ebenfalls. In höheren Konzentrationen (500 μM) führt **6** bei Aktivierung mit NADPH zu erheblichen Mengen nichthelicaler DNA. Bedenkt man, daß offensichtlich ein intercalierender Arm fehlt, ist die Doppelstrangspaltung bemerkenswert.

Form II
Form III

Form I

Abb. 1. Spaltung von pBR322-DNA. Die DNA wurde in Tris(hydroxymethyl)aminomethan(Tris)/HCl-Pufferlösung (pH = 7.5) 60 min bei 37 °C ohne oder in Gegenwart von NADPH oder Dithiothreitol (DTT) inkubiert. Die Reaktionsmischungen wurden elektrophoretisch untersucht (1% Agarosegel, Ethidiumbromid-Färbung). Spur 1: nur DNA; Spur 2: DNA + NADPH; Spur 3: DNA + Dynemicin A (5 μM); Spur 4: DNA + NADPH + Dynemicin A (5 μM); Spur 5: DNA + NADPH + Dynemicin A (100 μM); Spur 6: DNA + NADPH + Dynemicin A (500 μM); Spur 7: DNA + DTT; Spur 8: DNA + DTT + Dynemicin A (5 μM); Spur 9: DNA + DTT + Dynemicin A (100 μM); Spur 10: DNA + DTT + Dynemicin A (500 μM); Spur 11: DNA + Mitomycin C (5 μM); Spur 12: DNA + NADPH + Mitomycin C (5 μM); Spur 13: DNA + NADPH + Mitomycin C (500 μM); Spur 14: DNA + DTT + Mitomycin C (5 μM); Spur 15: DNA + DTT + Mitomycin C (100 μM).

Über In-vitro-Untersuchungen hinaus wurde eine erste Untersuchung von **6** mit Maus-Modellen durchgeführt. Durch Verbindung **6** (0.1–0.5 mg kg⁻¹ i.p. (QD × 5)) wird bei B16-Melanom- und Sarcom-180-Mäusen das Tumorzellvolumen um 42–63% verringert^[16]. In allen untersuchten Fällen verringerte **6** die Tumormasse effektiver als Mitomycin C. Daß die Antitumorstoffwirkung von **6** auf der Reaktivität der Diyl-Zwischenstufe **8**

beruht, ist anzunehmen, wurde aber bislang nicht bewiesen, besonders nicht in In-vivo-Versuchen.

Weitere Untersuchungen dieser neuartigen Klasse von Endin-Chinoniminen zielen auf deren Anwendung in der Totalsynthese von Dynemicin A und von dessen Analoga sowie auf die Zugänglichkeit dieser Verbindungen für die Entwicklung pharmazeutisch einsetzbarer Wirkstoffe.

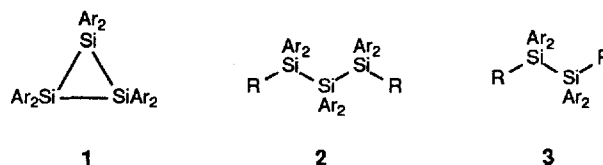
Eingegangen am 19. August,
veränderte Fassung am 10. Oktober 1994 [Z7252]

- [1] M. Konishi, H. Ohkuma, K. Matsumoto, T. Tsuno, H. Kamei, T. Miyaki, T. Oki, H. Kawaguchi, G. D. VanDuyne, J. Clardy, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 1449; M. Konishi, H. Ohkuma, T. Tsuno, T. Oki, G. D. VanDuyne, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3715.
- [2] Y. Sugiyura, T. Shiraki, M. Konishi, T. Oki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 3831.
- [3] a) Eine hervorragende Übersicht über die Chemie und die Biologie von Endin-Antibiotica geben K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387; b) K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, S.-C. Tsay, V. A. Estevez, W. Wasilido, *Science* **1992**, *256*, 1387; c) P. A. Wender, C. K. Zercher, S. Beckham, E.-M. Haubold, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5867.
- [4] J. Taunton, J. L. Wood, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10378, zit. Lit.
- [5] a) M. F. Semmelhack, J. Gallagher, D. Cohen, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1521; b) Y. Sugiyura, T. Shiraki, M. Konishi, T. Oki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 3831.
- [6] R. R. Jones, R. G. Bergman, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 660; R. G. Bergman, *Acc. Chem. Res.* **1973**, *6*, 25.
- [7] Für eine Diskussion der intercalierenden Eigenschaften von Adriamycin siehe a) F. Arcamone in *Doxorubicin Anticancer Antibiotics*, Academic, New York, **1981**; b) S. Neidle, L. H. Pearl, J. V. Skelly, *Biochem. J.* **1987**, *243*, 1; c) A. Wang, G. Ughetto, G. Quigley, A. Rich, *Biochemistry* **1987**, *26*, 1152.
- [8] T. Yoon, M. D. Shair, S. J. Danishefsky, G. K. Schulte, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3752.
- [9] M. D. Shair, T. Yoon, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3755.
- [10] a) S. A. Hitchcock, S. H. Boyer, M. Y. Chu-Moyer, S. H. Olson, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 928; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 858; b) G. Kim, M. Y. Chu-Moyer, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2003.
- [11] T. Yoon, Dissertation, Yale University, **1994**.
- [12] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 426; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 436.
- [13] Das Isobenzofuran **13** wurde wie erforderlich in situ hergestellt: a) R. N. Warren, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 2346; G. M. Priestly, R. N. Warren, *Tetrahedron Lett.* **1971**, 4295.
- [14] Das 2.5:1-Verhältnis der Produkte hat seine Ursache vermutlich in einer *endo*- statt in einer Seitendifferenzierung. Zwar erscheint es vernünftig, daß die Cycloaddition auf der dem Endin entgegengesetzten Seite stattfindet, doch fehlt bislang der Beweis.
- [15] mAMSA ist ein bekannter DNA-Topoisomerase-II-Inhibitor: N. Osheroff, A. H. Coebett, M. J. Robinson, *Biochemistry* **1993**, *32*, 3638.
- [16] Der Tumor (2×10^6 Zellen) wurde subcutan geimpft. Die Behandlung begann am vierten Tag; je drei Mäuse wurden bei jeder Dosis und zur Kontrolle verwendet. Die Tumorgroße wurde nach sieben Tagen nach Beginn der Behandlung bestimmt.

Doppelt lithiierte Oligosilane: Synthese und Struktur des ersten vicinalen Dilithiodisilans**

Johannes Belzner*, Uwe Dehnert und Dietmar Stalke*

Eine gängige Methode zur Darstellung metallierter Silane ist die Spaltung von Silicium-Silicium- σ -Bindungen durch Alkalimetalle; diese Reaktion läuft aber nur dann zufriedenstellend ab, wenn die Siliciumzentren wenigstens einen aromatischen Substituenten tragen^[1]. Analoges gilt für die Umsetzung von cyclischen Silanen mit Metallen: Während peralkylierte Cyclosilane von Alkalimetallen lediglich bis zur Stufe der Radikalanionen reduziert werden^[2], reagieren arylsubstituierte Silacyklen unter Bindungsspaltung zu präparativ nützlichen difunktionellen α,ω -Dimetallio-Oligosilanen. Vor allem die eingehend untersuchte Umsetzung von Octaphenylcyclotetrasilan und Decaphenylcyclopentasilan mit Lithium wurde zum Aufbau zahlreicher siliciumorganischer Verbindungen genutzt^[3]. Über analoge Reaktionen von Cyclotrisilanen mit Metallen wurde unseres Wissens bisher nicht berichtet. Diese Lücke wird nun durch die Resultate der Umsetzung des Cyclotrisilans **1** mit Lithiummetall geschlossen, die, je nach Reaktionsbedingungen, zum 1,3-Dilithiotrisilan **2a** oder zum 1,2-Dilithiodisilan **3a** führt.



1 **2** **3**
Ar = 2-(Me₂NCH₂)C₆H₄

2a,3a: R = Li
2b,3b: R = H

Setzt man das Cyclotrisilan **1** mit zwei Äquivalenten Lithium in 1,4-Dioxan um, so lassen sich rote, extrem luftempfindliche Kristalle der Verbindung **2a** isolieren, deren Protonierung mit Cyclopentadien glatt das Trisilan **2b** liefert. Die stark konzentrations- und temperaturabhängigen ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von **2a** tragen wenig zur Strukturaufklärung bei, da sie vor allem sehr breite, teilweise stark überlagerte Signale aufweisen. Im ²⁹Si-NMR-Spektrum erscheinen zwei, ebenfalls stark verbreiterte Signale bei $\delta = -26.5$ und -31.8 . Die Identifizierung des Reaktionsproduktes als 1,3-Dilithiotrisilan **2a** basiert deshalb im wesentlichen auf dem Ergebnis der Einkristall-Röntgenstrukturanalyse^[4].

Wie die Struktur von **2a** (Abb. 1) im Kristall zeigt, erweist sich auch hier das Konzept der intramolekularen „Seitenarmkomplexierung“, das bereits bei Organokupferverbindungen^[8] und Verbindungen mit hochkoordinierten Siliciumzentren^[9] erfolgreich eingesetzt wurde, als besonders fruchtbar. So werden in **2a** die Silicium-gebundenen Lithiumatome durch beide Ami-

[*] Dr. J. Belzner, Dipl.-Chem. U. Dehnert
Institut für Organische Chemie der Universität
Tammannstraße 2, D-37077 Göttingen
Telefax: Int. + 551/39-9475
Priv.-Doz. Dr. D. Stalke
Institut für Anorganische Chemie der Universität
Tammannstraße 4, D-37077 Göttingen
Telefax: Int. + 551/39-2582

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Herrn Prof. M. Rabinovitz für hilfreiche Diskussionen und den Herren R. Machinek, Dr. G. Elter und W. Zolke für die Unterstützung bei den NMR-spektroskopischen Untersuchungen.