

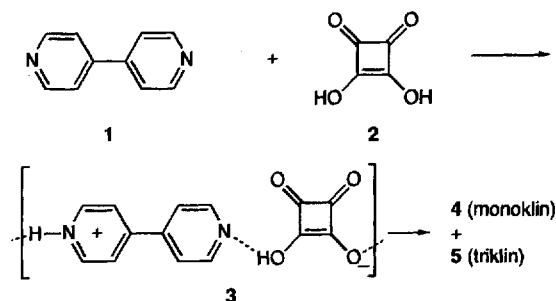
Reversibler Protonentransfer-bedingter Phasenübergang im 4,4'-Bipyridiniumsalz der Quadratsäure**

Manfred T. Reetz*, Sigurd Höger und Klaus Harms

Protonentransfer-vermittelte Elektronenübergänge in organischen Materialien bieten eine Möglichkeit, elektronische Eigenschaften von Festkörpern zu regulieren^[1]. Intramolekulare Protonenübertragungen in *N*-Salicylidenanilinen bewirken die photo- und thermochromen Eigenschaften der Kristalltypen dieser Verbindungsklasse^[2]. Protonenübertragungen unter hydrostatischem Druck in Chinhydronen gehen mit einer Veränderung der Absorptionsspektren einher^[3]. Die Farbänderung bei der Phasenumwandlung von 3,6-Dichlor-2,5-dihydroxyterephthalsäuredimethylester ist mit einem Protonentransfer verbunden^[4]. Untersuchungen der Kristallstrukturen von sich selbst organisierenden, über Wasserstoffbrückenbindungen verknüpften Aggregaten gewinnen daher an Bedeutung^[5]. Wir beschreiben hier ein neues Wasserstoffbrückenbindungssystem, welches unter thermischer Belastung einen reversiblen Einkristall-Einkristall-Phasenübergang vollzieht, der von einem Protonentransfer und einer damit verbundenen Farbänderung begleitet ist.

Die Reaktion von 4,4'-Bipyridin **1** (farblos) und Quadratsäure **2** (farblos) in Wasser liefert einen leicht gelbbraunen Niederschlag **3**^[6] (Schema 1). Nach dem Umkristallisieren fällt der größte Anteil als leicht ockerfarbene [$\lambda_{\max}(\text{Festkörper}) =$

390 nm] quaderförmige Kristalle **4** an. Ein weiteres Polymorph **5**, welches ein wenig dunkler erscheint [$\lambda_{\max}(\text{Festkörper}) = 460 \text{ nm}$], entsteht nur in Form einzelner weniger Kristalle^[7].



Schema 1.

Abbildung 1 zeigt die (erweiterten) asymmetrischen Einheiten der Salze **4** (monoklin) und **5** (triklin)^[8]. Es handelt sich um unendliche, über Wasserstoffbrückenbindungen verknüpfte Ketten, die sich zu Stapeln anordnen. Diese liegen in der kristallographischen *c*-Richtung. Die Position der geordneten Protonen in diesen Ketten läßt sich im Lichte der Aciditätskonstanten der beiden Komponenten verstehen (Quadratsäure: $pK_1 = 1.2 - 1.7$, $pK_2 = 3.2 - 3.5$; 4,4'-Bipyridindihydrochlorid: $pK_1 = 2.73$, $pK_2 = 4.87$)^[9]. Im Salz **4** liegt eine Bipyridineinheit (Torsion

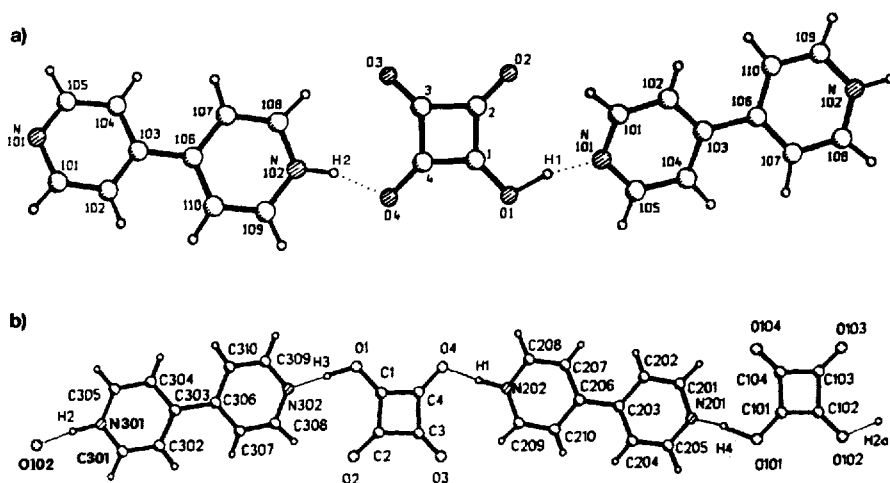


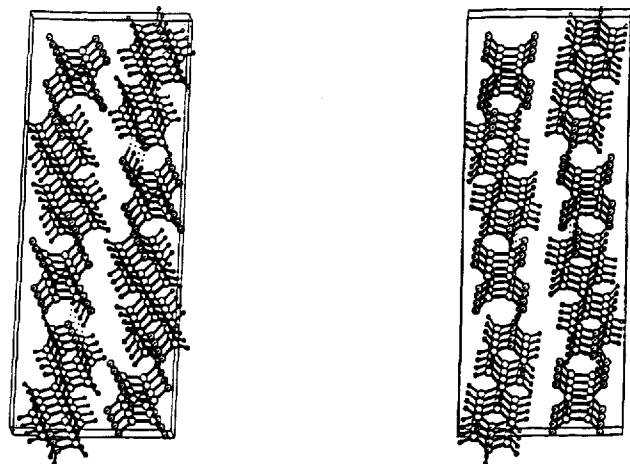
Abb. 1. Erweiterte asymmetrische Einheit von a) **4** und b) **5**.

[*] Prof. Dr. M. T. Reetz, Dr. S. Höger
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-45470 Mülheim an der Ruhr
Telefax: Int. + 208/306-2985
Dr. K. Harms
Fachbereich Chemie der Universität
Hans-Meerwein-Straße, D-35043 Marburg

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Leibniz-Programm) und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

24°) pro asymmetrischer Einheit vor, in **5** sind es zwei unterschiedliche Bipyridineinheiten (C301 bis C310, Torsion 8°; C201 bis C210, Torsion 12°). Abbildung 2 zeigt eine Ansicht von **4** in Stapelrichtung.

Das charakteristische Merkmal beider Strukturen sind die starken Wasserstoffbrückenbindungen des Typs N—H...O und O—H...N (Tabelle 1). Die Atomabstände innerhalb der Anionen zeigen (Tabelle 2), daß die Geometrie der Anionen in

Abb. 2. Ansicht auf die Stapel von **4** (Stereodarstellung).Tabelle 1. Starke Wasserstoffbrückenbindungen in **4** und **5**.

Krist.	Donor	H	Acceptor	D...A [Å]	D-H [Å]	H...A [Å]	Winkel [°]
4	O1	H1	N101	2.613(3)	1.131(34)	1.488(35)	173.8(31)
4	N102	H2	O4	2.602(3)	1.023(2)	1.582(2)	174.3(1)
5	O1	H3	N302	2.616(4)	0.972(54)	1.666(53)	164.6(41)
5	N202	H1	O4	2.613(4)	0.974(40)	1.671(38)	161.4(33)
5	O101	H4	N201	2.572(4)	1.100(47)	1.483(46)	169.2(39)
5	N301	H2	O102	2.580(4)	1.098(45)	1.509(45)	162.9(38)

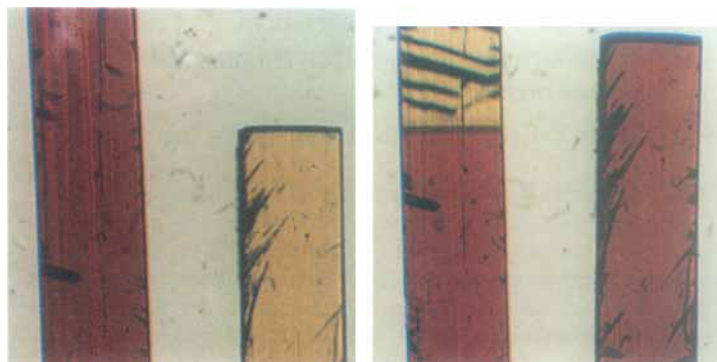
den Salzen **4** und **5** sehr stark durch diese Wasserstoffbrückenbindungen beeinflusst wird. Die formale Spiegelebene eines unkomplexierten Quadratsäure-Monoanions ist hier nicht zu finden. Verwirklicht wird diese ideale Geometrie im Oxamid-dioxonium-dihydrosquarat (monodeprotoniertes Quadratsäure-Anion)^[10]. Unsere Strukturen sind „Intermediate“ zwischen dem ungestörten Monohydrosquarat und der freien Quadratsäure. Daher sind sie Beispiele für das von Bürgi und Dunitz aufgestellte Strukturkorrelationsprinzip^[11]. Sie repräsentieren einen Punkt auf der Reaktionskoordinate der Deprotonierung der Quadratsäure.

Tabelle 2. Atomabstände in den Anionen in **4** und **5**.

Krist.	X	Y	Abstand [Å]	X	Y	Abstand [Å]
4	C1	C2	1.443(3)	C1	O1	1.317(3)
4	C2	C3	1.500(3)	C2	O2	1.231(3)
4	C3	C4	1.481(3)	C3	O3	1.222(3)
4	C4	C1	1.414(3)	C4	O4	1.269(3)
5	C1	C2	1.451(5)	C1	O1	1.326(5)
5	C2	C3	1.489(6)	C2	O2	1.236(5)
5	C3	C4	1.485(6)	C3	O3	1.230(5)
5	C4	C1	1.397(5)	C4	O4	1.268(5)
5	C101	C102	1.403(5)	C101	O101	1.308(5)
5	C102	C103	1.471(6)	C102	O102	1.281(5)
5	C103	C104	1.480(5)	C103	O103	1.229(5)
5	C104	C101	1.464(5)	C104	O104	1.237(5)

Ebenfalls ungewöhnlich ist die thermische reversible Phasenumwandlung der monoklinen Form **4**. Erhitzt man Kristalle von **4** auf 180 °C, so ändert sich deren Farbe von Gelb nach Rot. Dieser Phasenübergang beginnt stets an einem Ende eines Kristalls und durchläuft denselben in Längsrichtung innerhalb des

Bruchteils einer Sekunde (Abb. 3 links). Aus der Bestimmung der Lage der Achsen der Elementarzelle relativ zu den äußeren Kanten des Kristalls ergibt sich, daß die längste Kante des Kristalls der kürzesten Zellachse, die kürzeste Kante (also die Plättchendicke) der längsten Zellachse und die Plättchenbreite der mittleren Zellachse entsprechen.

Abb. 3. Links: Erstes Aufheizen einer Kristallprobe von **4** auf 180 °C. Der rote Kristall liegt bereits in der Hochtemperaturform vor. Rechts: Erstes Abkühlen unter 150 °C.

Nach DSC-Messungen (DSC = Differential Scanning Calorimetry) beträgt die Energieaufnahme für diese Transformation 19.8 J g^{-1} . Wird diese Hochtemperaturphase, in der immer noch ein Einkristall vorliegt, wieder auf unter 150 °C abgekühlt, ändert sich die Farbe des Kristalls erneut nach Gelb (Abb. 3 rechts). Die augenscheinliche Umkehr in die ursprüngliche Phase ist aber nicht vollständig, es wird vom System nur eine Energie von 15.5 J g^{-1} abgegeben. Dabei bricht der Kristall in mehrere Bruchstücke. Es war nicht möglich, von diesem Produkt eine Einkristall-Röntgenstrukturanalyse durchzuführen. Wird diese neue Phase erhitzt, so wandelt sie sich bei 173 °C wieder in die rote Hochtemperaturphase um, wobei 15.7 J g^{-1} aufgenommen werden. Anschließendes Abkühlen unter 150 °C führt bei einer Freisetzung von 15.5 J g^{-1} wieder zu einer Umwandlung in die gelbe Form. Weiteres Erhitzen und Abkühlen bringt weder in der Übergangstemperatur noch in der Energiebilanz eine Änderung mit sich. Der Unterschied zwischen der ursprünglichen und der neu gebildeten Raumtemperaturmodifikation wird nicht nur durch den um ca. 4 J g^{-1} höheren Energiegehalt der letzteren, sondern auch durch die unterschiedlichen Absorptionskoeffizienten in der UV-Region und die unterschiedlichen Intensitäten der Signale im Pulverdiffraktogramm bestätigt: Im Festkörper-UV-VIS-Spektrum steigt nach Erhitzen und Abkühlen der monoklinen Form die relative Intensität der Absorptionsbande im UV-Bereich (Maximum bei 240 nm) im Vergleich zur Charge-Transfer(CT)-Bande (390 nm) deutlich. Betragen die Verhältnisse der Maxima vorher etwa 3:4 (UV:CT), so sind sie nach dem Erhitzen auf etwa 6:5 verändert. Die Lage der Banden bleibt davon unberührt. Auch die relativen Intensitäten der Signale im Pulverdiffraktogramm unterscheiden sich in der ursprünglichen und in der zunächst erhitzten und dann abgekühlten Form. Die dabei unveränderte Lage der Signale zeigt, daß die Abmessungen der Elementarzelle erhalten bleiben. Lediglich die Atomlagen innerhalb dieser Zelle sind unterschiedlich. Von der Form **5** konnte keine ausreichende Menge isoliert werden, um analoge Versuche durchzuführen. Bemerkenswert ist jedoch der Befund, daß beim Erhitzen von **5** keine Farbänderung wie in **4** beobachtet werden konnte.

Durch Umkristallisieren von **3** aus Deuteriumoxid werden die aciden Protonen in **4** durch Deuterium ersetzt. Die Einkristall-

Röntgenstrukturanalyse dieser Form (6) bei Zimmertemperatur zeigt im Vergleich mit der protonierten Form 4 bei gleicher Temperatur eine Zunahme des O1-N101-Abstands von 2.620(3) auf 2.641(2) Å^[8]. Zugleich wächst der O4-N102-Abstand von 2.593(2) Å auf 2.623(2) Å. Dies ist vergleichbar mit der Zunahme des O-O-Abstands bei der Deuterierung der freien Quadratsäure^[12] und deutet auf das Vorliegen eines Doppelminimumpotentials hin^[13]. Wird die deuterierte Form 6 erhitzt, so ist bis zur Zersetzungstemperatur von ca. 225 °C keine Farbänderung zu beobachten.

Ein solch starker Isotopeneffekt (Erhöhung der Phasenumwandlungstemperatur) wurde auch bei der freien Quadratsäure gefunden^[14]. Dies gibt Grund zu der Annahme, daß auch in unserem Fall die rote Hochtemperaturmodifikation durch Protonentransfer aus der gelben Zimmertemperaturmodifikation gebildet wird. Dadurch werden die Elektronen-Donor-Acceptor-Eigenschaften der beteiligten Ionen beeinflusst.

Erste Versuche weisen darauf hin, daß 4 auch unter hydrostatischem Druck einen reversiblen Phasenübergang durchläuft. So ähneln das Festkörper-UV-VIS-Spektrum und das Pulverdiffraktogramm einer für 60 s auf 11 kbar gepreßten Pulverprobe von 4 nach dem Entspannen denen der ehemals erhitzten Form.

Eingegangen am 1. Juli,
veränderte Fassung am 23. August 1993 [Z 6183]

- [1] T. Mitani, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1989**, 171, 343.
- [2] T. Inabe, K. Okinawa, H. Okamoto, T. Mitani, Y. Murayama, S. Takeda, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1992**, 216, 229.
- [3] K. Nakasui, K. Sugiura, T. Kitagawa, J. Toyada, H. Okamoto, K. Okinawa, T. Mitani, H. Yamamoto, I. Murata, A. Kawamoto, J. Tanaka, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 1862.
- [4] S. R. Byrn, D. Y. Curtin, J. C. Paul, *Acc. Chem. Res.* **1973**, 7, 217; Q. C. Yang, M. F. Richardson, J. D. Dunitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 5535; *Acta Crystallogr. Sect. B* **1989**, 45, 312.
- [5] H. Bock, W. Seitz, Z. Havlas, J. W. Bats, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 410; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 411.
- [6] Reaktion von äquimolaren Mengen 1 und 2 in heißem Wasser liefert nach dem Abkühlen nahezu quantitativ einen leicht gelbbraunen Niederschlag von 3. Durch Umkristallisieren aus Wasser lassen sich für die Röntgenstrukturanalyse geeignete Einkristalle von 4 und 5 erhalten. Elementaranalyse (C₁₄H₁₀N₂O₄): berechnet: C 62.21%, H 3.74%, N 10.37%; gefunden: C 61.95%, H 3.81%, N 10.31%. Schmp. ca. 225 °C (Zers.).
- [7] Übersicht über Polymorphe von organischen Festkörpern: J. Bernstein in *Organic Solid State Chemistry* (Hrsg.: D. R. Desiraju), Elsevier, Amsterdam, **1987**, S. 471.
- [8] Kristallstrukturuntersuchungen (Cu_{Kα}-Strahlung): 4 (183 K), monoklin, *P*₂/n, *a* = 3.758(1), *b* = 11.196(1), *c* = 27.351(2) Å; β = 92.95(1)°, *Z* = 4, ρ_{ber.} = 1.562 g cm⁻³; *R* = 0.052 (*R*_w = 0.057) für 1701 unabhängige Reflexe. 5 (173 K), triklin, *P*₁, *a* = 9.619(1), *b* = 10.679(2), *c* = 12.726(4) Å, α = 70.17(3), β = 85.83(2), γ = 70.08(1)°, *Z* = 4, ρ_{ber.} = 1.55 g cm⁻³; *R* = 0.049 (*R*_w = 0.053) für 2859 unabhängige Reflexe. 4 (293 K), monoklin, *P*₂/n, *a* = 3.800(1), *b* = 11.208(1), *c* = 27.447(2) Å, β = 92.22(1)°, *Z* = 4, ρ_{ber.} = 1.537 g cm⁻³; *R* = 0.061 (*R*_w = 0.041) für 1734 unabhängige Reflexe. 6 (293 K), monoklin, *P*₂/n, *a* = 3.793(1), *b* = 11.175(1), *c* = 27.581(4) Å, β = 91.99(1)°, *Z* = 4, ρ_{ber.} = 1.536 g cm⁻³; *R* = 0.036 (*R*_w = 0.036) für 1445 unabhängige Reflexe. Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter der Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-57835 angefordert werden.
- [9] E. Patton, R. West, *J. Phys. Chem.* **1970**, 74, 2512; L. A. Ashton, J. I. Bullock, P. N. G. Simpson, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1982**, 343; J. Ulstrup, *Acta Chem. Scand.* **1971**, 25, 3397.
- [10] H. Endres, M. Schendzielorz, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1984**, 40, 453.
- [11] H. B. Bürgi, J. D. Dunitz, *Acc. Chem. Res.* **1983**, 16, 153.
- [12] D. Semmingsen, *Acta Chem. Scand. Ser. A* **1975**, 29, 470.
- [13] T. R. Singh, J. L. Wood, *J. Phys. Chem.* **1969**, 50, 3572.
- [14] F. J. Hollander, D. Semmingsen, F. F. Koetzle, *J. Chem. Phys.* **1977**, 67, 4825.

Calicheamicin θ_1^1 : durch Moleküldesign zu einer Verbindung, die DNA selektiv und effizient spaltet und Zelltod auslöst **

K. C. Nicolaou*, T. Li, M. Nakada, C. W. Hummel, A. Hiatt und W. Wrasidlo

Calicheamicin θ_1^1 1 (Abb. 1 A), ein biologisch aktives und selektiv wirksames Endiin^[1], wurde, in Kenntnis der Wirkungsweise des natürlich vorkommenden Calicheamicins γ_1^1 2^[2], designed. Dieses neue Endiin wurde so konstruiert, daß es – anders als sein natürliches Analogon – unter mild basischen Bedingungen^[3] von Hydroxid-Ionen (Abb. 1 B) aktiviert wird. Hierbei entstehen 1,4-Phenyl-Diradikale^[4], die Doppelstrang-DNA spalten können. Durch Totalsynthese hergestelltes Calicheamicin θ_1^1 1 spaltet DNA wirksam (Konzentrationen $< 10^{-9}$ M genügen) und selektiv (an TCCT-, TTTT- und CTCT-Sequenzen) bei pH 7.5 und 37 °C. Es löst den programmierten Zelltod (Apoptose)^[5] in einer Konzentration $< 10^{-10}$ M aus und tötet Zellen in noch geringerer Konzentration ($< 10^{-12}$ M); die Wirksamkeit übertrifft in einigen Fällen die von Calicheamicin γ_1^1 2, MRA-CN (= 3-Cyan-4-morpholinyl-derivat des Anthracyclins Doxorubicin)^[6] und Ricin^[7], Substanzen, die zu den toxischsten Verbindungen überhaupt gehören.

Die Wirkungsweise von Calicheamicin γ_1^1 2^[8] (Abb. 1 B), bei dem ein starkes Nucleophil, z.B. ein Thiolat-Ion, eine Kette von Reaktionen auslöst, die zur DNA-Schädigung führen^[9, 10], und unsere Absicht, ein Molekül zu konstruieren, das auf andere Weise aktiviert wird, führten uns zu Calicheamicin θ_1^1 1, das anstelle der Trisulfidfunktion eine Thioacetylgruppe als reaktives Zentrum enthält. 1 sollte von sauerstoffhaltigen Nucleophilen, z.B. Hydroxid-Ionen, oder schwefel- oder stickstoffhaltigen Nucleophilen aktiviert werden; 2 wird normalerweise von Thiolen aktiviert. Calicheamicin θ_1^1 1 sollte sowohl in vitro als auch in vivo Vorteile bieten, da es besonders einfach zu aktivieren ist. Nicht nur die Art und Weise der Aktivierung unterscheidet 1 von 2; trotz der strukturellen Ähnlichkeit zwischen den Verbindungen kann 1 nicht aus dem Naturstoff 2 hergestellt werden. Die hierfür benötigten chemischen Reaktionen würden 1 zugleich aktivieren und damit zerstören. Unsere Befunde sind deshalb unter den Aspekten Moleküldesign^[11], chemische Synthese und biologische Eigenschaften von Bedeutung.

Calicheamicin θ_1^1 1 wurde durch eine Totalsynthese erhalten, für die ein vor kurzem beschriebener Syntheseweg^[12–15] für Calicheamicin γ_1^1 2 variiert wurde. Danach wurde das früher synthetisierte Zwischenprodukt 3^[12–15] bei Raumtemperatur 48 h mit *para*-Toluolsulfonsäure in wäßrigem Tetrahydrofuran behandelt. Zugabe von wasserhaltigem Diethylamin führte dann in 75% Ausbeute zu 1, dessen physikalische Eigenschaften in der Legende zu Abbildung 1 zusammengefaßt sind.

Die superspiralisierte DNA des Phagen ΦX 174 wurde bei 37 °C in Pufferlösungen verschiedener pH-Werte mit 1 und 2 inkubiert und die Spaltung mit Agarose-Gelelektrophorese verfolgt (Abb. 2). Das synthetische Calicheamicin θ_1^1 1 schneidet schon in sehr niedrigen Konzentrationen Doppel- und Einzel-

[*] K. C. Nicolaou, T. Li, M. Nakada, C. W. Hummel, A. Hiatt, W. Wrasidlo
Department of Chemistry, The Scripps Research Institute
10666 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
und
Department of Chemistry, University of California
San Diego, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093 (USA).

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (USA) und vom Scripps Research Institute gefördert. Wir danken Dr. Darryl Rideout und Z. Zeng für Diskussionen, E. N. Pitsinos, Dr. H. Saimoto, Dr. K. Shibayama, Dr. Y. Mizuno und Dr. K.-U. Baldenius für ihre Unterstützung bei Synthesen sowie Robert Merlock und Gail Hum für Hilfe bei den biologischen Tests.