

Während die natürlichen Oligonucleotide **5** und **7** von Schlangengift-Phosphodiesterase (SG-PDE) innerhalb weniger Minuten abgebaut werden, sind die modifizierten Oligonucleotide **10** und **12** völlig stabil gegenüber SG-PDE (Tabelle 2). Der Einbau von zwei hA-Monomeren an beiden Enden eines Oligo(dA) wie bei **11** ergab ebenfalls sehr stabile ODNs. SG-PDE ist eine 3'-Exonuclease, und die 3'-Exonuclease-Aktivität ist die Hauptursache für den Abbau von ODNs im Serum^[11].

Ein Hexamer und ein Dodecamer (Tabelle 3), die aus einer gemischten Purinsequenz bestehen und hA und hG enthalten, bilden sowohl mit DNA als auch mit RNA deutlich stabilere

Tabelle 3. T_m -Werte [°C] (Hyperchromie [%]) eines vollständig modifizierten Oligonucleotids ($c = 4 \mu\text{M}$) in 0.1 M NaCl, 20 mM KH_2PO_4 , pH 7.5, 0.1 mM EDTA. Die Duplexbildung erfolgte entweder mit einem komplementären DNA- oder RNA-Strang.

Sequenz	komplementäre DNA-Sequenz	komplementäre RNA-Sequenz
3	31.2 (9.5) [a]	44.8 (13)
4	10.0 [a, b]	10.5 [b]
5	64.8 (14)	84.0 (> 15 [b])
6	49.0 (19)	47.6 (15)

[a] Gemessen in 1 M NaCl. [b] Konnte aufgrund der niedrigen oder hohen Schmelztemperatur nicht bestimmt werden.

Duplexe als ihre natürlichen Gegenstücke. Die beobachteten T_m -Werte sind nicht das Ergebnis einer Selbstassoziation der HNAs, da sie alleine unter diesen Bedingungen keine Hyperchromie zeigen. Für das HNA-DNA-Duplex konnte ein Anstieg des T_m -Wertes um 16 °C im Fall des Dodecamers **15** und um 21 °C für das Hexamer **13** gemessen werden. Die ΔT_m -Werte pro Basenpaar hängen eindeutig von der Sequenz ab. Für die HNA-RNA-Duplexbildung ist der Anstieg im Vergleich zum DNA-RNA-Kontrollduplex mit 36 °C für das Dodecamer und 34 °C für das Hexamer noch stärker ausgeprägt. Ein HNA-RNA-Duplex ist also stabiler als ein HNA-DNA-Duplex, was das Potential von HNA als Antisense-ODNs unterstreicht. Der Anstieg im T_m -Wert von 3 °C auf 5.5 °C pro Basenpaar zeigt eine sehr starke Wechselwirkung der HNAs mit den komplementären Oligoribonucleotiden.

Diese Ergebnisse legen nahe, daß ODNs, die 1,5-Anhydrohexit-Bausteine enthalten, sehr stabile Komplexe mit DNA und RNA bilden sowie enzymatisch stabil sind. Daher erfüllen diese Verbindungen zumindest zwei Anforderungen eines idealen Antisense-Wirkstoffes.

Eingegangen am 8. Februar 1995 [Z 7703]

Stichworte: Antisense-Oligonucleotide · DNA · Nucleinsäuren · RNA · Polyalkohole

- [1] Übersicht: E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 543–584.
- [2] S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1993**, 49, 6123–6194; R. S. Varma, *Synlett* **1993**, 621–637; N. T. Thuong, C. Hélène, *Angew. Chem.* **1993**, 105, 697–723; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 666–690.
- [3] Y. S. Sanghvi, P. D. Cook, *Carbohydrate Modifications in Antisense Research* (Hrsg.: Y. S. Sanghvi, P. D. Cook) (*ACS Symp. Ser.* **1994**, 580, 1).
- [4] M. Egholm, O. Buchardt, P. E. Nielsen, R. H. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 1895–1897; P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Science* **1991**, 254, 1497–1500.
- [5] S. Gryaznov, J.-K. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 3143–3144.
- [6] A. Eschenmoser, *Pure Appl. Chem.* **1993**, 65, 1179–1188; K. Augustyns, A. Van Aerschot, C. Urbanke, P. Herdewijn, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1992**, 101, 119–129; K. Augustyns, F. Vandendriessche, A. Van Aerschot, R. Busson, C. Urbanke, P. Herdewijn, *Nucleic Acids Res.* **1992**, 20, 4711–4716; K. Augustyns, G. Godard, C. Hendrix, A. Van Aerschot, J. Rozanski, T. Saison-Behmoaras, P. Herdewijn, *ibid.* **1993**, 21, 4670–4676.

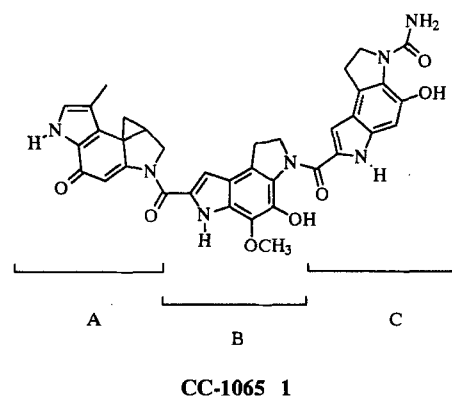
- [7] I. Verheggen, A. Van Aerschot, S. Toppet, R. Snoeck, G. Janssen, P. Claes, J. Balzarini, E. De Clercq, P. Herdewijn, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 2033–2040.
- [8] R. Pon, N. Usman, K. Ogilvie, *BioTechniques* **1988**, 6, 768–771.
- [9] Die Schutzgruppeneinführung, Kettenverlängerung (ABI 392) und Deblockierung erfolgten analog zur Standard-Oligodesoxyribonucleotid-Synthese. Gereinigt wurde über FPLC (Fast Protein, Peptide and Polynucleotide Liquid Chromatography) an einer Mono-Q-Säule bei pH 12 (siehe auch Lit. [6b]).
- [10] J. Hunziker, H.-J. Roth, M. Böhlinger, A. Giger, U. Diederichsen, M. Göbel, R. Krishnan, B. Jaun, C. Leumann, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76, 259–352.
- [11] J.-P. Shaw, K. Kent, J. Bird, J. Fishback, B. Froehler, *Nucleic Acids Res.* **1991**, 19, 747–750.

Effiziente Totalsynthese der pharmakophoren Gruppe des Antitumorantibiotikums CC-1065 durch kombinierte mit einem Zirconocen- und Palladium-Komplex initiierte Cyclisierungen**

Lutz F. Tietze* und Wilm Buhr

Professor Richard R. Schmidt zum 60. Geburtstag gewidmet

Das Antibiotikum CC-1065 **1**, das 1978 aus *Streptomyces zelensis* isoliert wurde, ist eines der am stärksten wirksamen Cytostatica, die zur Zeit bekannt sind^[1]. Es enthält drei partiell hydrierte Pyrrolo[3,2-e]indol-Einheiten; die A-Einheit mit einer ungewöhnlichen, formalen Spirocyclopropylgruppe ist die pharmakophore Gruppe, während die B- und C-Einheit verantwortlich sind für die starke Bindung an die DNA. Es konnte nachgewiesen werden, daß die A-Einheit von **1**, die als CPI bezeichnet



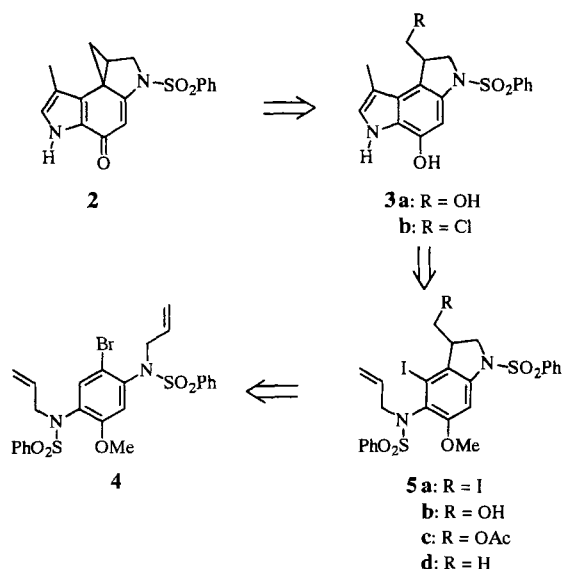
wird, AT-reiche Regionen in der kleinen Furche doppelsträngiger DNA sequenzspezifisch alkyliert^[2]. Das Antibiotikum **1** kann jedoch nicht als Pharmakon eingesetzt werden, da es eine verzögerte letale Hepatoxizität aufweist. Derivate der CPI-Einheit zeigen dagegen diese negative Eigenschaft bei vergleichbarer Cytotoxizität nicht^[3].

Bei der Planung selektiver Cytostatica für die Tumorthherapie^[4] haben wir eine hocheffiziente Synthese für das (N^2 -Benzolsulfonyl)-CPI-Derivat **2** entwickelt, die den bekannten Herstellungsmethoden^[5] überlegen ist und sich durch eine kurze

[*] Prof. Dr. Dr. L. F. Tietze, Dipl.-Chem. W. Buhr
Institut für Organische Chemie der Universität
Tammannstraße 2, D-37077 Göttingen
Telefax: Int. + 551/39-9476

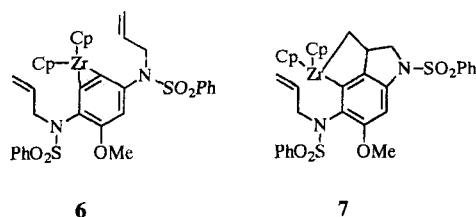
[**] Anticancer Agents, 22. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Der Degussa AG danken wir für Sachspenden. – 21. Mitteilung: Lit. [4b].

Reaktionssequenz auszeichnet. Die Schlüsselschritte hierbei sind zwei aufeinander folgende durch metallorganische Verbindungen initiierte Cyclisierungen, mit denen zuerst der Pyrrolin- und anschließend der Pyrrol-Ring in **2** aufgebaut werden.



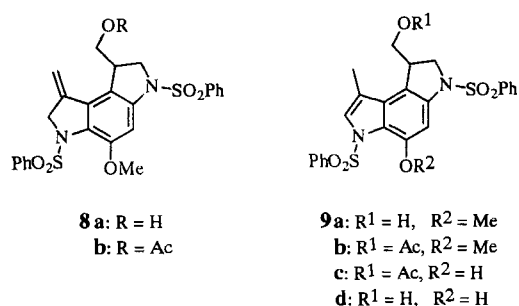
Retrosynthetisch läßt sich **2** in *N*²-Benzolsulfonyl-*seco*-CPI **3** zerlegen, das über **5** zur Ausgangsverbindung **4** führt. Das Besondere der Synthese ist, daß in der ersten Cyclisierung mit Zirconocenmethylchlorid^[5f, 5g, 6a, b] nicht nur selektiv der Pyrrolin-Ring aufgebaut, sondern gleichzeitig beim Quenchen mit Iod neben der Bildung einer Iodmethyl-Gruppe zusätzlich ein Iodatom am Aren eingeführt wird, das in einer nachfolgenden Heck-Reaktion^[7] zum Aufbau des Pyrrol-Ringes verwendet werden kann.

Die Ausgangsverbindung **4** ließ sich in vier Stufen ausgehend von käuflichem 2-Methoxy-4-nitroanilin über eine Pt-katalysierte Hydrierung in Dioxan, zwei *N*-Benzolsulfonylierungen mit Benzolsulfonylchlorid in Pyridin^[8], einer Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid in Tetrahydrofuran und eine zweifache Allylierung mit Allylbromid in Gegenwart von Tetrabutylammoniumiodid ebenfalls in Tetrahydrofuran in 66% Gesamtausbeute herstellen. Der Halogen-Metall-Austausch in **4** mit *t*BuLi in Tetrahydrofuran und die nachfolgende Ummetallierung mit [Cp₂ZrCl(CH₃)]^[9] führten – vermutlich über den Zirconium-Didehydrobenzol-Komplex **6** – zum Zirconacyclopenten-Derivat **7**^[6c], aus dem beim Quenchen mit zwei Äquivalenten Iod in Dichlormethan in einer Gesamtausbeute von 60% **5a** als einziges Produkt entstand. Bei der Reaktion von **7** mit Iod wird zuerst die Aryl-Zirconium- und danach die Alkyl-Zirconium-Bindung gespalten. So ergab die Umsetzung von **7** mit nur einem Äquivalent Iod und nachfolgender wäßriger Aufarbeitung nahezu ausschließlich **5d**. Erstaunlich ist die hohe Selektivität der Cylisierung von **4**; der Einschub der Alken-Gruppe in Komplex **6** erfolgt nur in *para*-Stellung zur Methoxygruppe^[9].



Die Verbindung **5a** kann nicht direkt in einer Heck-Reaktion zum gewünschten Produkt umgesetzt werden, da hierbei nicht nur das Iodaren, sondern auch die Iodmethylpyrrolin-Gruppe unter Bildung einer Methylpyrrol-Einheit abreagierte. Deshalb wurde **5a** durch Umsetzung mit Silberoxid auf Kieselgel in 90% Ausbeute in das Hydroxymethyl-Derivat **5b** umgewandelt (Aceton/Wasser, 20 °C, 24 h). Die Transformation der Iodmethyl-Gruppe in **5a** bereitete anfänglich erhebliche Schwierigkeiten, da alle Versuche, sie beispielsweise mit Acetat nucleophil zu substituieren, scheiterten. Hierbei erfolgte stets Eliminierung mit partieller Isomerisierung der gebildeten Doppelbindung.

Die Heck-Reaktion zum Aufbau von **3** kann sowohl mit **5b** als auch vorzugsweise mit **5c**, das aus **5b** und Natriumacetat in Acetanhydrid quantitativ erhalten wurde, durchgeführt werden. Mit katalytischen Mengen an Tetrakis(triphenylphosphan)palladium in Acetonitril ergab **5b** ein 17:1-Gemisch von **8a** und **9a** in 90% Ausbeute (2 Mol-% Pd(PPh₃)₄, CH₃CN/Et₃N, 60 °C, 18 h). Wurde **5c** mit Palladiumacetat in Gegenwart von Silbercarbonat umgesetzt, so entstand in 90% Ausbeute ausschließlich **8b** (2 Mol-% Pd(OAc)₂, 1.5 Äquiv. Ag₂CO₃, DMF, 20 °C, 2 h). Ohne weitere Aufarbeitung wurde das Gemisch **8a/9a** bzw. **8b** mit Camphersulfonsäure quantitativ zu **9a** bzw. **9b** isomerisiert (CH₂Cl₂, 20 °C, 1 h).



Der Arylmethylether **9b** konnte zu **9c** mit Bortribromid in 80% Ausbeute gespalten werden (CH₂Cl₂, –10 °C, 1 h); **9a** ergab unter diesen Bedingungen nur ein Gemisch zahlreicher Produkte.

Die Solvolyse von **9c** in Methanol in Gegenwart von Kaliumcarbonat zu **9d** und die nachfolgende Abspaltung der Benzolsulfonylgruppe am Indol-Stickstoffatom mit Natriumbis-(2-methoxyethoxy)-dihydroaluminat (Red-Al) führten in einer Gesamtausbeute von 70% zum gewünschten *seco*-CPI **3a**, dessen Umwandlung in **2** bekannt^[10] ist. Diese wurde sowohl nach der Methode von Mitsunobu^[11] mit Azodicarbonsäurediethylester als auch über das Chlorid **3b** mit nachfolgender baseninduzierter Cyclisierung durchgeführt.

Das pharmakologisch bedeutsame CPI-Derivat **2** wurde in elf Stufen mit einer Gesamtausbeute von 12% ausgehend von käuflichem 2-Methoxy-4-nitroanilin erhalten. Von generellem Wert sind die kombinierten, durch Zirconocen- und Palladium-Komplexe initiierten Cyclisierungen, deren Nutzung für den Aufbau anderer komplexer bis-*ortho*-anellierter Arene zur Zeit von uns untersucht wird.

Experimentelles

5a: Zu einer auf –78 °C gekühlten Lösung von **4** (0.34 mmol) und [Cp₂ZrCH₃Cl] (0.35 mmol) in 10 mL wasserfreiem THF wurde eine Lösung von *tert*-Butyllithium in Hexan (0.70 mmol) langsam getropft und die Mischung 1 h bei –78 °C, anschließend 18 h bei 20 °C gerührt. THF wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand in 20 mL wasserfreiem Dichlormethan aufgenommen und auf 0 °C gekühlt. Hierzu wurde eine Suspension aus Iod (0.72 mmol) in 20 mL wasserfreiem Dichlormethan

langsam zugegeben und die Mischung 1 h bei 0 °C, anschließend 36 h bei 20 °C gerührt. Nach dem Filtrieren über Celite wurde das Filtrat mit jeweils 10 mL gesättigter Na₂SO₃-Lösung, Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum konzentriert. Chromatographie an Kieselgel (Petrolether/Essigester = 3:1) ergab **5a** in 60% Ausbeute als amorphen Feststoff, der aus Essigester in farblosen Nadeln auskristallisierte.

5a: Schmp. 206.9 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.34 (dd, *J* = 10, 9.0 Hz, 1 H, 3-CH₃), 3.32 (s, 3 H, O-CH₃), 3.34–3.46 (m, 2 H, 3-H, 3-CH₂), 3.85–4.00 (m, 2 H, 2-H_a, 1'-H_a), 4.10 (d, *J* = 12 Hz, 1 H, 2-H_b), 4.49 (dd, *J* = 13.5, 6.0 Hz, 1 H, 1'-H_b), 4.93 (d, *J* = 6 Hz, 1 H, *trans*-CH = CH₂), 4.98 (s, 1 H, *cis*-CH = CH₂), 5.83–5.97 (cm, 1 H, CH = CH₂), 7.14 (s, 1 H, 7-H), 7.48–7.69 (m, 6 H, Ph-H), 7.72–7.79 (m, 2 H, Ph-H), 7.82 (d, *J* = 8.0 Hz, Ph-H).

9c: ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = 2.01 (s, 3 H, OAc), 2.21 (s, 3 H, 8-CH₃), 3.10 (dd, *J* = 10, 9.0 Hz, 1 H, 1-CH₂), 3.52–3.78 (m, 2 H, 1-H, 1-CH₂), 4.06 (dd, *J* = 11.5, 3.5 Hz, 1 H, 2-H_a), 4.16 (d, *J* = 11.5 Hz, 2-H_b), 7.15 (s, 1 H, 7-H), 7.37 (s, 1 H, 4-H), 7.38–7.63 (m, 6 H, Ph-H), 7.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 2 H, Ph-H), 7.85 (d, *J* = 8.0 Hz, 2 H, Ph-H), 8.85 (s, 1 H, Ph-OH).

Eingegangen am 10. November 1994 [Z 7469]

Stichworte: Antibiotica · Cyclisierungen · Cytostatica · Heck-Reaktionen · Zirconiumverbindungen

- [1] L. J. Hanka, A. Dietz, S. A. Gerpheide, S. L. Kuentzel, D. G. Martin, *J. Antibiot.* **1978**, *31*, 1211.
- [2] a) D. L. Boger, S. M. Sakya, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1277; b) M. A. Warpehosky, L. H. Hurley, *Chem. Res. Toxicol.* **1988**, *1*, 315; c) V. L. Reynolds, I. Molinieux, D. J. Kaplan, D. H. Swenson, L. H. Hurley, *Biochemistry* **1985**, *24*, 6228; d) D. L. Boger, W. Yun, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 5523.
- [3] J. P. Gorren, G. L. Clarke, E. A. Pratt, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 63.
- [4] a) Übersichtsartikel: L. F. Tietze in *Molecular Aspects of Chemotherapy* (Hrsg.: E. Borowski, D. Shugar), Pergamon, New York, **1990**, S. 55–70; b) L. F. Tietze, A. Fischer-Beller, *Carbohydr. Res.* **1994**, *254*, 169, zit. Lit.
- [5] a) W. Wierenga, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 5621; b) P. Magnus, Y. S. Or, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1983**, *26*; c) G. A. Kraus, S. Yue, *ibid.* **1983**, 1198; d) D. L. Boger, R. S. Coleman, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4796; e) *ibid.* **1988**, *110*, 1321; f) L. F. Tietze, T. Grote, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 2733; g) *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 192; h) N. Uesaka, M. Mori, K. Okamura, T. Date, *ibid.* **1994**, *59*, 4542.
- [6] a) J. H. Tidwell, D. R. Senn, S. L. Buchwald, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4685; b) J. H. Tidwell, S. L. Buchwald, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6380; c) G. Erker, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 411; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 397.
- [7] a) T. Jeffery, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 1287; b) *Synthesis* **1987**, 70; c) R. C. Larock, B. E. Baker, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 905.
- [8] R. Adams, T. E. Young, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 3235.
- [9] Anhand der NMR-Daten von **5a** können die beiden möglichen Cyclisierungsprodukte nicht unterschieden werden. Die Zuordnung erfolgte aufgrund des Vergleichs von **3b** mit authentischem Material.
- [10] P. Magnus, T. Gallagher, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 289.
- [11] O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1.

Quaterrylentetracarbonsäurediimide**

Heribert Quante und Klaus Müllen*

Perylen-3,4:9,10-tetracarbonsäurediimide **1** sind wichtige Chromophore in der Farbenchemie^[1]. Sie zeichnen sich vor allem durch ihre chemische, thermische und photochemische Beständigkeit aus^[2,3]. Dank ihrer Absorptionswellenlänge von 530–590 nm und ihrer hohen Fluoreszenzquantenausbeuten^[3] finden Verbindungen des Typs **1** breite technische Anwendung als Pigmente sowie als lösliche Farbstoffe.

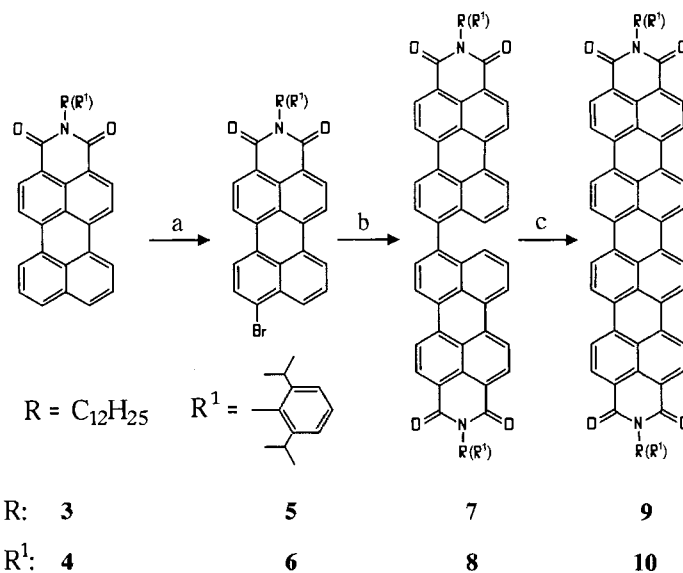
In den letzten Jahren gerieten zunehmend elektrooptische Eigenschaften von **1** in den Blickpunkt, und es wurde über den

Einsatz von **1** in reprographischen Prozessen^[4], in Fluoreszenzsolarkollektoren^[5], in der Photovoltaik^[6] sowie in molekularen Schaltern berichtet^[7].

Eine besondere Herausforderung der aktuellen, insbesondere der nichttextilen Farbenchemie liegt in der Generierung von stabilen Farbstoffen, die an der Grenze des Sichtbaren oder gar im nahen Infrarot absorbieren^[8]. Angesichts der Vorteile von **1** liegt es nahe, diesen Strukturtyp für die Suche nach „tieffarbigem Chromophoren“^[8] auszunutzen.

Wir beschreiben die Synthese und die attraktiven optischen Eigenschaften von Quaterrylentetracarbonsäurediimiden **2**. Dabei ist wichtig, daß die neuen Chromophore **2** je nach Strukturtyp als Pigmente oder als lösliche Farbstoffe vorliegen können, was einerseits ein breites Anwendungsspektrum eröffnet, andererseits aber auch die Entwicklung noch größerer chromophorer Systeme zuläßt.

Schlüsselbausteine unseres Synthesekonzepts (Schema 1) sind die halbseitig funktionalisierten Perylenderivate **3** und **4**. Die



Schema 1. Synthese der Quaterrylentetracarbonsäurediimide **9** und **10**; Reagentien, Bedingungen und Ausbeuten: a) **3**: Br₂/CH₂Cl₂, Rückfl., 94%; **4**: Br₂/C₆H₅Cl, 50 °C, 98%; b) [Ni(cod)₂]/DMF, 60 °C, 2 d, **7**: 89%, **8**: 83%; c) KOH/EtOH/Ox., **9**: 37%, **10**: 83%.

Bereitstellung dieser Zwischenstufen gelingt im Falle der *N*-alkylierten Spezies **3** nach dem bekannten Verfahren der partiellen Decarboxylierung von Perylentetracarbonsäuremonoimid-monoanhydrid^[9,10]. Die anschließende Bromierung liefert die Monobromderivate **5** bzw. **6** in Ausbeuten von über 90%. Die Kupplung zu den Biperylenylverbindungen **7** bzw. **8** war eine besondere Herausforderung. Die von Misono und Nagao^[11] vorgeschlagene Verknüpfung mit einer Ullmann-Reaktion ist beschränkt auf *N*-alkylierte Derivate mit einer maximalen Kettenlänge von vier C-Atomen und liefert zudem nur geringe Aus-

[*] Prof. Dr. K. Müllen, Dr. H. Quante
Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Ackermannweg 10, D-55128 Mainz
Telefax: Int. + 6131/379350

[**] Diese Arbeit wurde von der BASF AG gefördert.