

Die Bildung von Riesenliposomen aus kristallinen Komplexen von Monoalkylammoniumtensiden und 4-Hydroxybiphenyl

Norihiro Yamada,* Mayumi Iijima, Kulthida Vongbupnimit, Keiichi Noguchi und Kenji Okuyama

Einkettige Alkylammoniumhalogenide sind wohlbekannte kationische Tenside, die in Wasser eine micellare Struktur annehmen. Eine Micelle ist ein kleines kugelförmiges Aggregat, das eine geringe Zahl von Tensidmolekülen enthält und das sich unter normalen Bedingungen nicht in größere Aggregate wie z. B. ein Liposom überführen läßt. Allerdings weiß man, daß sich eine micellare Lösung niedriger Viskosität unter bestimmten Bedingungen in eine hochviskose Lösung umwandeln läßt, wenn eine bestimmte aromatische Verbindung, z. B. das Salicylat-Ion, hinzugefügt wird.^[1] Transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Aufnahmen enthüllten, daß die viskosen Lösungen stäbchenförmige Aggregate enthielten.^[2] Vor kurzem berichteten einige Forscher^[3–5] und einer von uns,^[6] daß Ammoniumtenside mit verschiedenen aromatischen Verbindungen kristalline Komplexe bilden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß sich in binären Mischungen von Ammoniumtensiden und aromatischen Verbindungen Aggregate bilden, die größer sind als Micellen. Wir haben deshalb das Aggregationsverhalten von einigen kristallinen Komplexen in Wasser untersucht und gefunden, daß die entstandenen Komplexe Riesenliposome mit Abmessungen oberhalb eines Mikrometers sind. Die Riesenliposome gehen dynamische Änderungen der Morphologie ein, wie sie in ähnlicher Weise auch an wäßrigen Biolipiden^[7] und an wäßrigen Dialkylammoniumsalzen, die Doppelschichtstrukturen bilden, beobachtet wurden.^[8]

In dieser Untersuchung wurden Dodecyltrimethylammoniumchlorid (DTAC) und -bromid (DTAB) sowie Cetyltrimethylammoniumchlorid (CTAC) und -bromid (CTAB) als typische micellenbildende Tenside verwendet. Diese Tenside lösten sich trotz der Unterschiede in den Kettenlängen und/oder der Art des Gegenanions alle sehr gut in Wasser, wobei sich schäumende und transparente Lösungen niedriger Viskosität bildeten. Mit einem optischen Mikroskop, das mit einem Dunkelfeldkondensator ausgerüstet war, konnten wir in den wäßrigen Lösungen (1–400 mM) keine Aggregate nachweisen; demnach sollten sich kleine kugelförmige Micellen gebildet haben. Wir haben dann binäre Mischungen der Tenside und der aromatischen Verbindungen Biphenyl, 2-Naphthol, 4-Hydroxybiphenyl und 4,4'-Dihydroxybiphenyl untersucht. Diese Arene bilden mit den genannten Tensiden kristalline Komplexe, wenn die beiden Komponenten in

einem Achatmörser gemeinsam gemörsert werden oder wenn die Mischung aus der aromatischen Verbindung und dem Tensid aus einem geeigneten organischen Lösungsmittel umkristallisiert wird.^[3–6] Die kristallinen Komplexe werden eingeteilt in „gastabhängige“ Komplexe, deren thermisches Verhalten jenem des Gastkristalls^[6c] stark ähnelt, und in „wirtabhängige“ Komplexe, deren thermisches Verhalten dem des Wirtkristalls sehr ähnlich ist.^[6b] Alle kristallinen Komplexe mit Ausnahme des DTAB/4-Hydroxybiphenyl-Paares gehören entweder zu den gast- oder den wirtabhängigen Komplexen (Tabelle 1). Die DTAB/4-Hydroxybiphenyl-Mischung kann in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis beide Arten von Komplexen bilden.

Tabelle 1. Kristallarten und -morphologien in wäßrigen kristallinen Komplexen.^[a]

	DTAX		CTAX	
	X = Cl [–]	X = Br [–]	X = Cl [–]	X = Br [–]
Biphenyl	N, –	N, –	N, –	N, wa (2:1)
4-Hydroxybiphenyl	L, ga (1:1)	L, ga (1:1)	L, ga (1:1)	LC, –
4,4'-Dihydroxybiphenyl	C, –	C, wa (2:1)	C, wa ^[b]	C, –
2-Naphthol	L, ga (1:1)	L, –	L, –	LC, –

[a] Das Tensid und die aromatische Verbindung wurden in einem Mörser in molaren Verhältnissen von 1:1 und 2:1 gemischt. Die Aggregatmorphologie hing mit Ausnahme der DTAB/4-Hydroxybiphenyl-Mischung nicht vom Mischungsverhältnis ab. Diese Mischung bildete einen wirtabhängigen Komplex, wenn das DTAB/4-Hydroxybiphenyl-Verhältnis 2:1 betrug. Bei einem Mischungsverhältnis von 1:1 wurden Kristallite gemeinsam mit Liposomen beobachtet (siehe Text). N: es wurden keine Kristallite und keine Liposomen beobachtet; L: es wurden Liposomen beobachtet; LC: es wurden Liposomen und Kristallite beobachtet. ga: gastabhängig; wa: wirtabhängig; –: keine Daten. [b] CTAC:4,4'-Dihydroxybiphenyl:H₂O = 2:1:2.

Zur Bestimmung der Morphologie wurden drei Methoden angewendet (siehe *Experimentelles*). Hauptsächlich wurde Methode I verwendet, während die anderen beiden dazu dienten, den Auflösungsprozeß der Komplexe und der aromatischen Verbindungen in Wasser oder in der Tensidlösung zu untersuchen. Die Ergebnisse der Beobachtungen mit dem Mikroskop sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen typische mikroskopische Bilder des wäßrigen DTAC/4-Hydroxybiphenyl-Komplexes. Man erkennt Liposomen mit verschiedenen Formen (Abbildung 1 a). Große Liposomen waren erkennbar, wenn die Probe nach Methode II beobachtet wurde (Abbildung 1 b). Der Durchmesser dieser Liposomen lag im Bereich von 10 bis 50 µm; beim größten betrug er mehr als 100 µm. Die Liposomenbildung wurde stark durch die Konzentration beeinflusst. Im Falle der Lösung von DTAC/4-Hydroxybiphenyl beobachteten wir in verdünnten Lösungen unterhalb von 10 mM Kristallite statt Liposomen; in 10–20 mM Lösungen fanden wir Kristallite und Liposomen und in Lösungen oberhalb von 20 mM nur Liposomen. Die Liposomen hielten sich in der 20-mM-Lösung mehrere Monate lang ohne Niederschlagsbildung, sie sind also bei relativ hohen Konzentrationen stabil. Es ist aber ungewöhnlich, daß hohe Wassergehalte die Kristallite statt der Liposome begünstigen. Zwar könnte man dieses Phänomen im Prinzip thermodynamisch erklären, doch wird es noch detailliert weiter untersucht.

[*] Prof. Dr. N. Yamada, M. Iijima
Faculty of Education
Chiba University
1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba 263-8522 (Japan)
Fax: (+81) 43-290-2519
E-mail: yamadan@cue.e.chiba-u.ac.jp
K. Vongbupnimit, Dr. K. Noguchi, Prof. Dr. K. Okuyama
Faculty of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology (Japan)

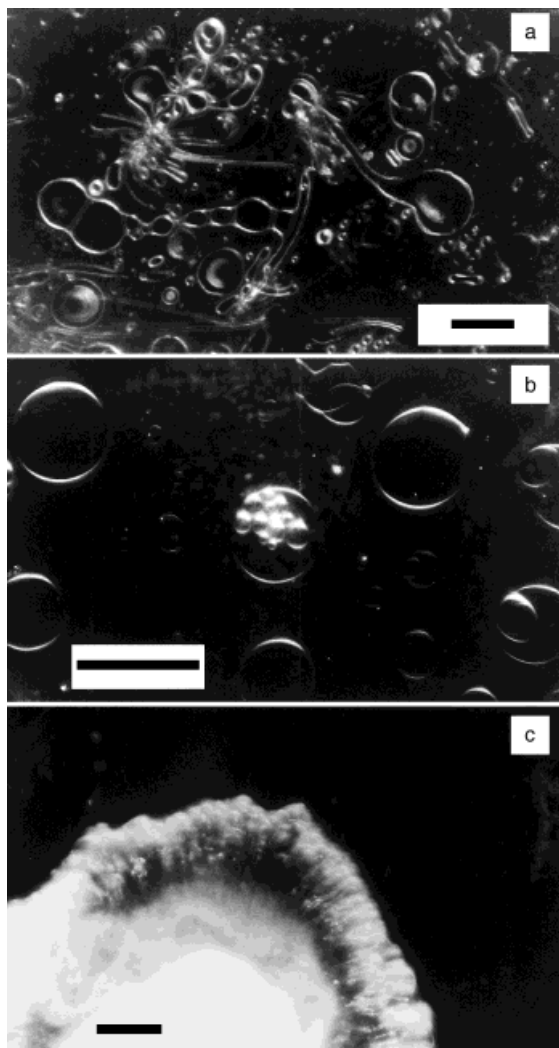


Abbildung 1. Dunkelfeld-lichtmikroskopische Aufnahmen von aus dem DTAC/4-Hydroxybiphenyl-Komplex gebildeten Liposomen; Maßstabsbalken: 50 µm. a) 20 mm wässrige Lösung (Methode I); b) Liposomen mit Durchmessern von 10 bis 50 µm wurden bei Raumtemperatur beobachtet (Methode II); c) beim Quellen des 4-Hydroxybiphenyl-Kristalls wurde direkt nach dem Mischen ein myelinartiges Muster beobachtet (Methode III).

Auch wenn 4-Hydroxybiphenyl zu einer Tensidlösung gegeben wurde, beobachtete man Liposomstrukturen (Methode III). Die Abbildungen 1c und 2 zeigen den Auflösungsprozeß von 4-Hydroxybiphenyl in einer DTAC-Lösung. Es erschienen sofort myelinartige Muster, wenn die 4-Hydroxybiphenyl-Kristalle mit einer ca. 30 mm micellaren DTAC-Lösung gesättigt wurden (Abbildung 1c). Diese Muster wuchsen zu langen Röhrenstrukturen heran (Abbildung 2a), die sich dann über rosenkranzartige Strukturen (Abbildung 2b und c) in Liposomen umwandelten (Abbildung 2d). Diese morphologische Dynamik entspricht genau jener, wie sie in Doppelschichtmembransystemen wie wässriger Lecithin^[7] und wässriger Dialkylammoniumbromid-Lösung beobachtet wurde.^[8] Die anderen Tensid/4-Hydroxybiphenyl-Systeme und das Tensid/2-Naphthol-System weisen die gleiche morphologische Dynamik auf. Die Stabilität der Liposomen hing von der Art des Tensides ab. Tenside mit einer kürzeren Alkylkette (DTAC und DTAB) konnten bei

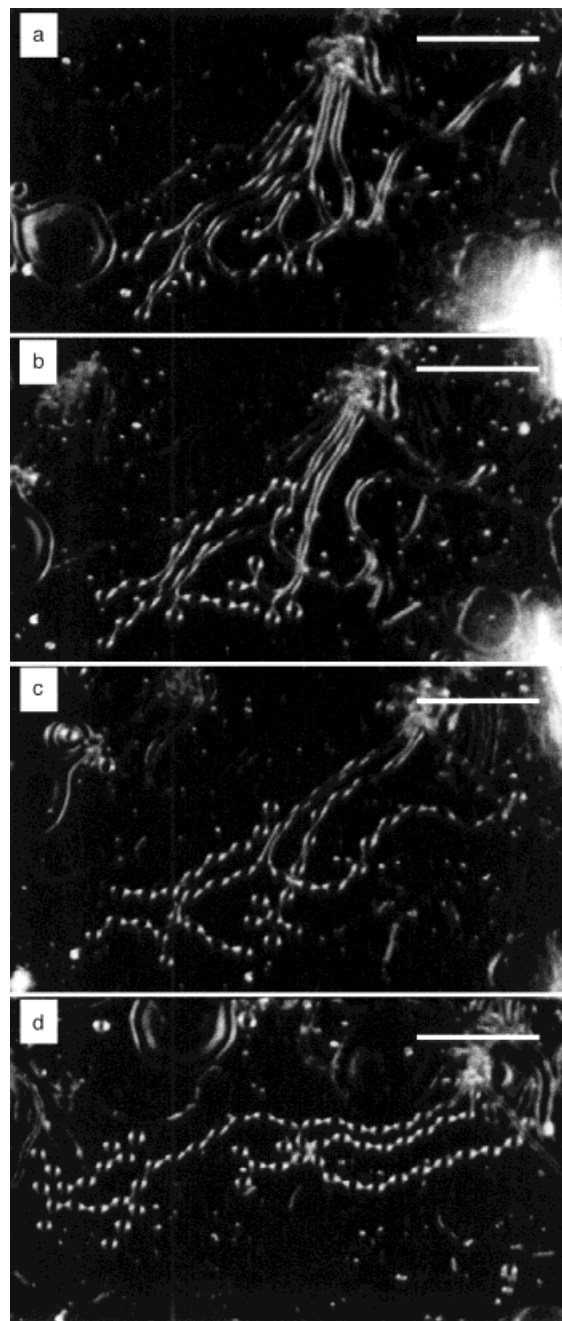


Abbildung 2. Dynamische morphologische Umwandlung von 4-Hydroxybiphenyl, die durch Hinzufügen von wässriger CTAC-Lösung (ca. 30 mm) ausgelöst wurde (Methode III); Maßstabsbalken: 25 µm. a) Eine flexible, vom gequollenen 4-Hydroxybiphenyl-Kristall (b) isolierte Röhre; c) aus der flexiblen Röhre aus (a) hat sich ein rosenkranzartiges Aggregat gebildet; d) kleine Liposomen, die sich aus dem in (c) gezeigten rosenkranzartigen Aggregat gebildet haben.

20 mm die Liposomstruktur ohne Niederschlagsbildung über mehrere Monate erhalten, wohingegen jene mit einer längeren Kette (CTAC und CTAB) nach einem Tag bei Raumtemperatur Niederschläge gaben.

Bei den kristallinen Komplexen des Tensid/Biphenyl- und des Tensid/4,4'-Dihydroxybiphenyl-Systems wurden keine Liposomen beobachtet. Auch wenn sich der erstgenannte Komplex in Wasser löste, so fanden wir doch unter dem optischen Mikroskop keine Aggregate (Methode I). Die

Kristalle des Biphenyls verschwanden innerhalb eines Tages nach dem Vermischen mit einer Tensidlösung (Methode III). Der kristalline Tensid/4,4'-Dihydroxybiphenyl-Komplex löste sich nicht in Wasser; wurde Methode III angewendet, so blieben die 4,4'-Dihydroxybiphenyl-Kristalle in der Tensidlösung intakt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die chemische Struktur des Gastmoleküls von entscheidender Bedeutung ist. Die spontane Bildung der Liposomen erfordert das Vorhandensein einer Phenolgruppe.

Doppelschichtstrukturen werden vor allem von doppelkettigen Ammoniumtensiden aufgebaut, wohingegen einkettige Ammoniumamphiphile Micellenstrukturen bilden.^[9] Einkettige Ammoniumamphiphile können jedoch Doppelschichtvesikel bilden, wenn sie mit einem anionischen micellenbildenden Tensid gemischt werden,^[10] weil dann das resultierende Ionenpaar zwei hydrophobe Ketten aufweist. In unseren hier beschriebenen Experimenten könnte eine dissoziierte Phenolatgruppe, wenn sie denn gebildet wird, mit der kationischen Ammoniumkopfgruppe wechselwirken. So würde ein Pseudo-Doppelkettenamphiphil entstehen, das dem gepaarten Kation-Anion-Tensid entspricht, da das Hydroxyproton des 4-Hydroxybiphenyls innerhalb der hydrophilen Region dissoziiert, wo die Hydroxid-Anionen dicht beieinander liegen. Wir beobachteten die Liposombildung jedoch in 0.1M HCl, was die Dissoziation der Phenolgruppe verhindern sollte. Des weiteren wurden in einem Einkristall, der aus der wäßrigen Lösung des CTAB/4-Hydroxybiphenyl-Gemisches isoliert wurde, Bromid-Anionen nachgewiesen, wohingegen kein dissoziiertes Phenolat beobachtet wurde. Die Kristallstruktur entsprach im übrigen vollständig jener, die an einem aus organischen Lösungsmitteln erhaltenen Kristall bestimmt wurde. Demnach sind elektrostatische Wechselwirkungen nicht der wichtigste Faktor bei der spontanen Bildung der Liposomen.

Die Bildung der Liposomen hängt stark von der Struktur der kristallinen Komplexe ab, denn eine Liposomenstruktur wurde nur von gastabhängigen Komplexen gebildet. Der Strukturunterschied zwischen den wirt- und den gastabhängigen Komplexen besteht in der Packung der aromatischen Moleküle (Abbildung 3). In den gastabhängigen Komplexen

küle in den wirtabhängigen Komplexen stark, so daß die langen Achsen der Arene fast senkrecht zu denen der Tensidmoleküle stehen. In diesem Fall bindet der hydrophobe Biphenylteil an die hydrophilen Bereiche im Tensid und vermindert so die Hydrophilie der Tenside. Gemäß früherer Untersuchungen an wäßrigen Doppelschichtstrukturen ist die molekulare Orientierung fast die gleiche wie im Kristall der entsprechenden Komponente.^[11] Im vorliegenden Fall sollte somit auch die lokale Struktur innerhalb des Riesenliposoms der im Einkristall des entsprechenden Komplexes ähneln. Daher sollte eine senkrechte Ausrichtung eher als eine parallele zur Bildung einer Liposomenstruktur führen, weil die senkrechte Ausrichtung die Hydrophilie der Aggregate vermindern sollte. Tatsächlich bildet DTAB/4-Hydroxybiphenyl bei einem Mischungsverhältnis von 1:1 ein Liposom, wohingegen bei einem Verhältnis von 2:1 ein Niederschlag gebildet wird (Tabelle 1).

Experimentelles

Substanzen: Alle in dieser Untersuchung verwendeten Substanzen waren bei Wako Pure Chemical Ind. Ltd., (Osaka, Japan) kommerziell erhältlich. Die kristallinen Verbindungen wurden durch Umkristallisieren einer äquimolaren Mischung eines Tensids und einer aromatischen Verbindung aus Aceton/Ethylacetat (1/1) erhalten. Ein Einkristall eines Komplexes wurde wie in Lit. [6b, c] beschrieben hergestellt.

Mikroskopische Beobachtungen: Es wurden drei Methoden angewendet. Methode I: Der kristalline Komplex wurde durch Ultraschallbehandlung in Wasser (1–20 mm) dispergiert und dann beobachtet. Methode II: Eine sehr kleine Menge des kristallinen Komplexes wurde zwischen einen Objektträger und ein Deckglas gebracht. Der Raum zwischen den Glasscheiben wurde mit Wasser gefüllt, und dann wurde die Beobachtung durchgeführt. Methode III: Eine sehr kleine Menge der aromatischen Verbindung wurde zwischen einen Objektträger und ein Deckglas plaziert. Der Raum zwischen den Glasscheiben wurde mit wäßriger Tensidlösung (10–30 mm) gefüllt, woraufhin dann die Beobachtung durchgeführt wurde. Überschüssiges Wasser oder überschüssige Lösung wurde mit einem Filterpapier von der Kante des Deckglases abgesogen. Die Probe wurde mit farblosem Nagellack verschlossen, um das Verdampfen des Wassers zu verhindern. Die Beobachtungen wurden mit einem Dunkelfeld-Lichtmikroskop (OLYMPUS BHF) mit einer 200-W-Quecksilberhochdrucklampe (OSRAM HBO 200W/2) als Lichtquelle durchgeführt. Wir erhielten ein Negativ von 132 Vergrößerungen auf einem KODAK-Tri-X-pan-Film (ISO 400) unter Nutzung eines Kameramoduls (OLYMPUS PM-10AD; Abbildung 1) oder ein einzelnes Bild mit einem digitalen Standkamerasystem (Fuji Photo Film Co., Ltd.; FUJIX HC-300; Abbildung 2).

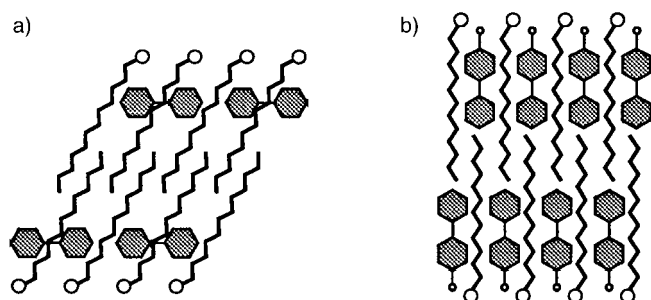


Abbildung 3. Schematische Darstellung der Packung in den Kristallstrukturen von wirt- (a) und gastabhängigen Komplexen (b).

sind die langen Achsen der aromatischen Moleküle parallel zu jenen der Tensidmoleküle; somit ist der hydrophobe Biphenylteil in der hydrophoben Region der Tensidmoleküle verborgen. Dagegen verdrehen sich die aromatischen Mole-

Eingegangen am 7. September
veränderte Fassung am 3. Dezember 1998 [Z12386]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 916–918

Stichwörter: Aggregation • Liposomen • Micellen • Tenside

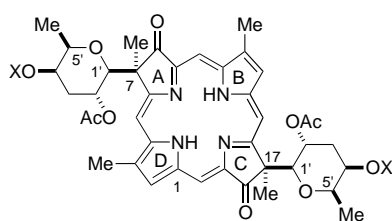
- [1] J. Ulmius, H. Wennerstrom, L. B. Johansson, G. Lindblom, S. Gravholt, *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 2232–2236.
- [2] a) T. Shikata, Y. Sakaiguchi, H. Uragami, A. Tamura, H. Hirata, *J. Colloid Interface Sci.* **1987**, 119, 291–293; b) H. Hitata, Y. Sakaiguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, 62, 581–582.
- [3] H. Hirata, Y. Kaneda, S. Ohashi, *Colloid Polym. Sci.* **1992**, 270, 781–784.
- [4] F. Toda, K. Tanaka, T. Okada, S. A. Bourne, L. R. Nassimbeni, *Supramol. Chem.* **1994**, 3, 291–298.
- [5] K. Sawada, Y. Ohashi, N. Iimura, H. Hirata, *Abstr. Pap. 2nd Conf. Asian Crystallogr. Assoc.* (Bangkok, Thailand) **1995**, Abstract 3P36.
- [6] a) K. Noguchi, K. Okuyama, K. Vongbupnimit, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1996**, 276, 185–191; b) S. Kamitori, Y. Sumimoto, K. Vongbupnimit,

- K. Noguchi, K. Okuyama, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1997**, 300, 31–43; c) K. Vongbupnimit, K. Noguchi, K. Okuyama, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1997**, 300, 191–200; d) K. Okuyama, T. Ishii, K. Vongbupnimit, K. Noguchi, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1998**, 312, 101–115.
- [7] a) W. Harbich, R. M. Survuss, W. Helfrich, *Phys. Lett.* **1976**, 57A, 294; b) E. Boroske, M. Elwenspoek, W. Helfrich, *Biophys. J.* **1981**, 34, 95; c) P. Yager, J. P. Sheridan, W. L. Peticolas, *Biochim. Biophys. Acta* **1982**, 693, 485–491; K.-C. Lin, R. M. Weis, H. M. McConnell, *Nature* **1982**, 296, 164–165; d) H. Hotani, *J. Mol. Biol.* **1984**, 178, 113–120; e) I. Sakurai, Y. Kawamura, T. Sakurai, A. Ikegami, T. Seto, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1985**, 130, 203–222.
- [8] N. Nakashima, T. Kunitake, H. Hotani, *Chem. Lett.* **1984**, 227–230.
- [9] a) T. Kunitake, Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 3860–3861; b) T. Kunitake, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 692–710; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 709–726.
- [10] E. W. Kaler, A. K. Murthy, B. E. Rodriguez, T. A. N. Zasadinski, *Science* **1989**, 245, 1371.
- [11] a) K. Okuyama, M. Shimomura, *New Developments in Construction and Function of Organic Thin Films* (Hrsg.: T. Kajiyama, M. Aizawa), Elsevier, Amsterdam (Niederlande), **1996**; b) N. Yamada, K. Okuyama, T. Serizawa, M. Kawasaki, S. Oshima, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1996**, 2707–2713.

Totalsynthese des (+)-Tolyporphin-A-O,O-diacetats mit der vorgeschlagenen Struktur**

Thomas G. Minehan und Yoshito Kishi*

1992 berichteten Moore und Mitarbeiter, daß der lipophile Extrakt der cyanophyten Mikroalge *Tolypothrix nodosa* die Mehrfachresistenz (multi-drug resistance, MDR)^[1] einer Vinblastin-resistenten Unterlinie einer humanen Eierstock-Adenokarzinomlinie umkehrt und daß diese Aktivität größtenteils auf ein ungewöhnliches Porphyrin, das Tolyporphin A, zurückzuführen ist.^[2a] Aufgrund umfassender spektroskopischer Untersuchungen wurde für Tolyporphin A die Struktur **1a** vorgeschlagen.^[2a] Anschließend wurden noch acht weitere Tolyporphyrine (B–I) isoliert, die unterschiedlich starke

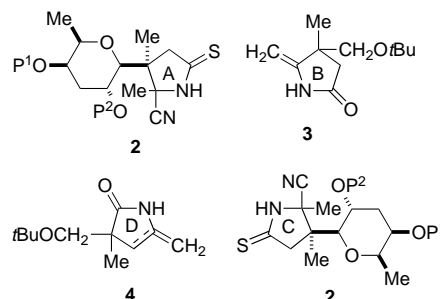


1a (X=H) : „Tolyporphin A“
1b (X=Ac) : „Tolyporphin-A-O,O-diacetat“

Anti-MDR-Aktivität aufwiesen.^[2b] Die Struktur von Tolyporphin A, der für diese Naturstoffklasse repräsentativen Verbindung, besteht aus einem unsymmetrischen Dioxobac-

teriochlorin-Kern mit C7 und C17 als quartären Zentren, die β -verknüpft C-Glycoside tragen.

Fasziniert von den einzigartigen Strukturen und der biologischen Aktivität der Tolyporphine führten wir Studien zu ihrer Synthese durch. Insbesondere interessierten wir uns für den Aufbau des Tolyporphin-Gerüsts aus den vier monocyclischen Vorläufern **2–4**. Dieser Zugang hat den offensichtlichen Vorteil, daß der Vorläufer des C-Rings identisch mit



dem des A-Rings ist (**2**). Die Durchführbarkeit der Methode wurde anhand der Synthese des Modellchromophors^[3] demonstriert: Mit der Sulfidkontraktions/Iminoestercyclisierungs-Methode von Eschenmoser und Mitarbeitern^[4] wurde ein Octahydorphyrin-Vorläufer aufgebaut, der dann in einer doppelten Retroaldol/Oxidationssequenz zum Chromophor der Tolyporphine weiterreagierte. Hier berichten wir über eine Erweiterung dieser Route zur erfolgreichen Totalsynthese der vorgeschlagenen Struktur **1b** von (+)-Tolyporphin-A-O,O-diacetat, woraus sich die Notwendigkeit einer neuen Festlegung der Struktur für diese Naturstoffklasse ergibt.

Da die Tolyporphine C-Glycosid-Unterstrukturen enthalten, wollten wir den A-Ring-Vorläufer **2** aus einem geeigneten Kohlenhydrat wie 3,6-Didesoxy-D-xylose herstellen. Dabei muß man zwei Strukturcharakteristika von **2** beachten: die β -C-Glycosidbindung und das dem anomeren Zentrum benachbarte quartäre Kohlenstoffatom. Wir haben kürzlich die Synthese sterisch gehinderter β -C-Glycoside durch Lewis-Säure-unterstützte Addition von Silylketenacetalen an Kohlenhydrat-1-O-acetate beschrieben.^[5] Damit blieb noch die Frage, wie die Konfiguration des quartären Kohlenstoffatoms bei der C-Glycosidierung kontrolliert werden kann. Vorstellbar war, daß ein weiteres Chiralitätszentrum im Nucleophil die faciale Selektivität der Reaktion beeinflussen würde. Aus zwei Gründen interessierten wir uns besonders für Silylketenacetale mit einer geschützten Hydroxymethylgruppe an C9: 1) Zur Optimierung der Stereoselektivität in der C-Glycosidierung könnte der Raumbedarf der Schutzgruppe variiert werden; 2) die Hydroxymethylgruppe könnte nach der Glycosidierung durch eine oxidative Diol-Spaltung entfernt werden. Unter der Annahme, daß sich ein Kohlenhydrat einem Lacton bevorzugt von der Seite nähert, die der dirigierenden chiralen Gruppe abgewandt ist, wurde erwartet, daß ein (*R*)-Silylketenacetal wie **6**^[6] (siehe Schema 1) ein C-Glycosid-Produkt mit der korrekten Konfiguration an C7 liefern würde.^[7]

Die Reaktion des Bisbenzylethers **5a** mit dem *tert*-butylsubstituierten **6a** in Gegenwart von TMSOTf in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF}$

[*] Prof. Dr. Y. Kishi, T. G. Minehan
 Department of Chemistry and Chemical Biology
 Harvard University, Cambridge, MA 02138 (USA)
 Fax: (+1) 617-495-5150
 E-mail: kishi@chemistry.harvard.edu

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (CA 22215) unterstützt.