

- Schepp, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 4862–4868; M. Schmittel, U. Baumann, *Angew. Chem.* 102 (1990) 571–572; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 (1990) 541–543; B. Urwyler, J. Wirz, *ibid.* 102 (1990) 807–809 bzw. 29 (1990) 790–792; Y. Chiang, A. J. Kresge, P. Pruszynski, N. P. Schepp, J. Wirz, *ibid.* 102 (1990) 810–812 bzw. 29 (1990) 792–794.
- [5] Übersicht: L. Duhamel, P. Duhamel, J. C. Launay, J. C. Plaquevent, *Bull. Soc. Chim. Fr.* II 1984, 421–430.
- [6] a) H. Pracejus, R. Rennau, *React. Kinet. Catal. Lett.* 15 (1980) 203–207; b) H. Hogenboom, L. Zwart, *Tetrahedron Lett.* 23 (1982) 105–108; c) L. Duhamel, J. C. Launay, *ibid.* 24 (1983) 4209–4212; d) S. Takano, J. Kudo, M. Takahashi, K. Ogasawara, *ibid.* 27 (1986) 2405–2408; e) L. Duhamel, S. Fouquay, J. C. Plaquevent, *ibid.* 27 (1986) 4975–4978; f) L. Duhamel, P. Duhamel, S. Fouquay, J. J. Eddine, O. Peschard, J. C. Plaquevent, A. Ravid, R. Solliard, J. Y. Valnot, H. Vincens, *Tetrahedron* 44 (1988) 5495–5506; g) U. Gerlach, S. Hüning, *Angew. Chem.* 99 (1987) 1323–1325; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 1283–1285; h) C. Fehr, J. Galindo, J. Am. Chem. Soc. 110 (1988) 6909–6911; i) D. Potin, K. Williams, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* 102 (1990) 1485–1486; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 (1990) 1420–1422.
- [7] Ein Endiol wurde als Zwischenprodukt der asymmetrischen Protonierung des Kalium-Endiolats von (±)-Benzoin postuliert, siehe [6c].
- [8] G. Jaouen, A. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 4667–4672.
- [9] Erste Experimente sprechen dafür, daß die Protonierung des Enolats von 1 in Gegenwart von (–)-Ephedrin zu 3 mit sehr niedrigem ee-Wert führt.
- [10] W. Tsai, K. Hermann, E. Hug, B. Rohde, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* 68 (1985) 2238–2243; R. Matusch, C. Coors, *Angew. Chem.* 101 (1989) 624; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 28 (1989) 626–627.

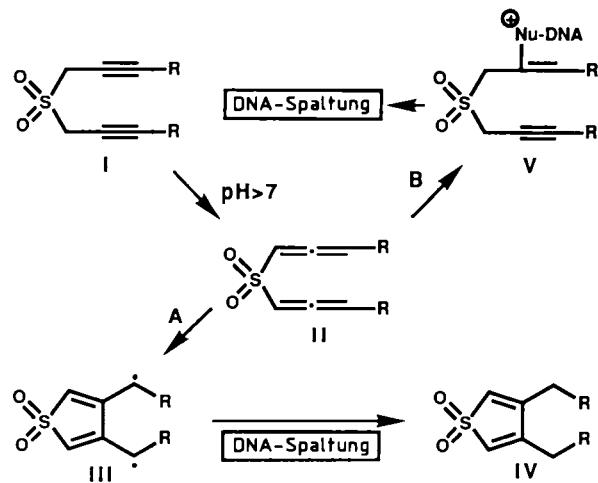
## Selektivität und Wirkungsmechanismus neuer DNA-spaltender Sulfone \*\*

Von K. C. Nicolaou\*, S. Wendeborn, P. Maligres, K. Isshiki, N. Zein und G. Ellestad

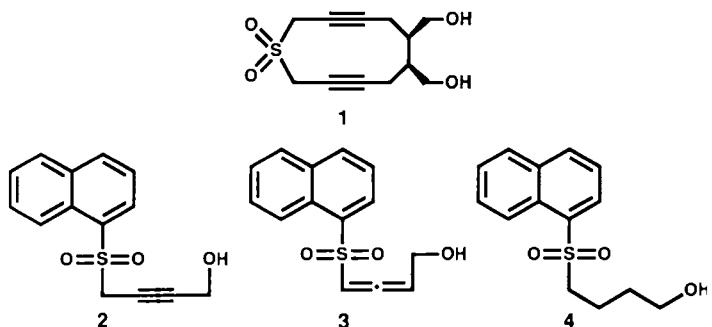
DNA ist der Angriffspunkt verschiedener Cytostatika und Antibiotika<sup>[1]</sup>. Nicht zuletzt deshalb wurden in den vergangenen Jahren große Anstrengungen unternommen, DNA-spaltende Verbindungen zu synthetisieren<sup>[2]</sup>, wobei besonderer Wert auf Spezifität gelegt wurde<sup>[3]</sup>. Kürzlich berichteten wir<sup>[4]</sup> über einfache Propargylsulfone, die DNA in Abhängigkeit vom pH-Wert spalten. Hier beschreiben wir a) die ortsselektive Spaltung doppelsträngiger DNA durch das Sulfon 1, b) eine Erhöhung der Wirkung dieses Verbindungs-typs durch den Einbau einfacher Intercalatoren (Verbindungen 2 und 3) und c) den Wirkungsmechanismus dieser Verbindungsklasse.

In Schema 1 sind die beiden ursprünglich vorgeschlagenen<sup>[4]</sup> Wirkungsmechanismen der Dipropargylsulfone zusammengefaßt: der Garratt-Braverman-Weg<sup>[5,6]</sup> über die Bis(allene) II und die Diradikale III (Weg A) sowie der Alkylierungsweg über die Zwischenstufen II und V (Weg B). Die Verbindung 1 verursacht Brüche von circulärer Einzel- und Doppelstrang-DNA<sup>[4]</sup>. Zur Klärung von Fragen bezüglich des Mechanismus dieser DNA-Spaltung und der Reaktivität der Propargylsulfone wurden die Verbindungen 2–4<sup>[7]</sup> synthetisiert und getestet<sup>[8]</sup>.

Abbildung 1 zeigt die Ergebnisse aus Spaltungsversuchen mit Supercoiled- $\phi$ X174-DNA bei pH 8.5 und 37 °C. Die Ver-



Schema 1. Mögliche Mechanismen der DNA-Spaltung durch Propargylsulfone.



bindungen 2 (Spur 3) und 3 (Spur 4) erwiesen sich als sehr viel wirksamere (500–1000fach) DNA-Spalter als das Sulfon 1 (Spur 2); erwartungsgemäß keine Aktivität zeigte hingegen die gesättigte Verbindung 4 (Spur 5). Ethidiumbromid, ein bekannter DNA-Intercalator, hemmte die Wirkung von 2 (Spur 8) und 3 (Spur 9), hatte aber keinen Effekt auf die DNA-spaltende Aktivität von 1. Verbindung 4 inhibierte etwas die Aktivität von 2 und 3 (Spur 11 bzw. 12), aber nicht die von 1. Weder Katalase noch Superoxid-Dismutase<sup>[9]</sup> beeinflußten die Spaltungsaktivität von 2 und 3, die sich allerdings als stark pH-abhängig erwies (Optimum bei pH 7.4–9.0). Aus diesen Ergebnissen wurde geschlossen, daß a) die Wirkungsweise der Verbindungen 1–3 bevorzugt (oder ausschließlich) nach dem Alkylierungsmechanismus (Weg B in Schema 1) erfolgt, und daß b) eine Intercalation des Naphthalenrests der Verbindungen 2 und 3 vor der Alkylierung stattfindet<sup>[10]</sup>.

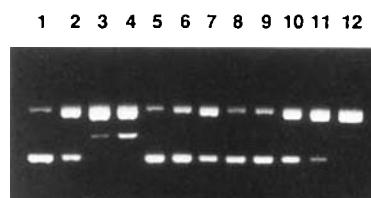


Abb. 1.  $\phi$ X174-DNA (Form I) wurde 24 h bei 37 °C mit den Verbindungen 1–4 in Pufferlösung (50 mM Tris-HCl, pH 8.5) inkubiert und dann durch Elektrophorese (1% Agarosegel, Ethidiumbromidfärbung) analysiert. Spur 1: DNA-Kontrolle; Spur 2: 1 (100  $\mu$ M); Spur 3: 2 (5  $\mu$ M); Spur 4: 3 (5  $\mu$ M); Spur 5: 4 (10 mM); Spur 6: Ethidiumbromid (100  $\mu$ M); Spur 7: 1 (100  $\mu$ M) + Ethidiumbromid (100  $\mu$ M); Spur 8: 2 (5  $\mu$ M) + Ethidiumbromid (5  $\mu$ M); Spur 9: 3 (5  $\mu$ M) + Ethidiumbromid (5  $\mu$ M); Spur 10: 1 (100  $\mu$ M) + 4 (10 mM); Spur 11: 2 (5  $\mu$ M) + 4 (10 mM); Spur 12: 3 (5  $\mu$ M) + 4 (10 mM).

[\*] Prof. Dr. K. C. Nicolaou, S. Wendeborn, P. Maligres, Dr. K. Isshiki  
Department of Chemistry Research Institute of Scripps Clinic  
10 666 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)

and  
Department of Chemistry  
University of California, San Diego  
La Jolla, CA 92093 (USA)

Dr. N. Zein, Dr. G. Ellestad  
American Cyanamid Co. Lederle Research Division  
Lederle Laboratories, Pearl River, NY 10965 (USA)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health gefördert. S. W. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für ein Doktorandenstipendium (1989–1990); K. I. arbeitete als Gastwissenschaftler von der Firma Mercian (Japan) an diesem Projekt.

Um weiteren Einblick in den Alkylierungsmechanismus zu erhalten (und ihn zu bestätigen), wurden sowohl am 5'- als auch am 3'-Ende markierte Restriktionsfragmente von pBR322 mit den Verbindungen 1-3 umgesetzt. Abbildung 2

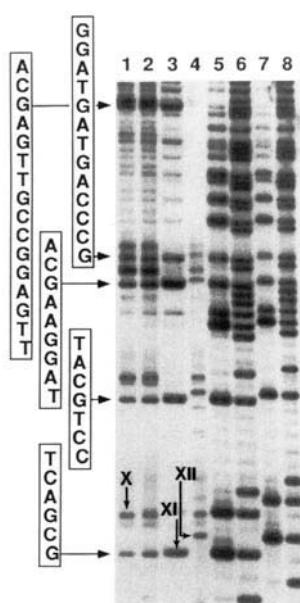


Abb. 2. Hochauflötes, denaturierendes Gel-Autoradiogramm der Spaltung des am 5'-Ende  $^{32}\text{P}$ -markierten 275 bp-Sal-I/BamH-I-Restriktionsfragments von pBR322 durch das Sulfon 1 (gezeigt sind die Basen 18-68). Alle Inkubationen wurden mit 5 mM-Konzentrationen 1 bei 37 °C 16 h durchgeführt. Spur 1: keine weitere Behandlung; Spur 2: 90 °C, 0.5 h; Spur 3: Piperidin (1 M), 90 °C, 0.5 h; Spur 4: T4-Polynukleotid-Kinase, 37 °C, 0.5 h; Spuren 5 und 6: Maxam-Gilbert-G- bzw. -AG-Reaktion; Spuren 7 und 8: Maxam-Gilbert-G- bzw. -AG-Reaktion, anschließend T4-Polynukleotid-Kinase, 37 °C, 0.5 h.

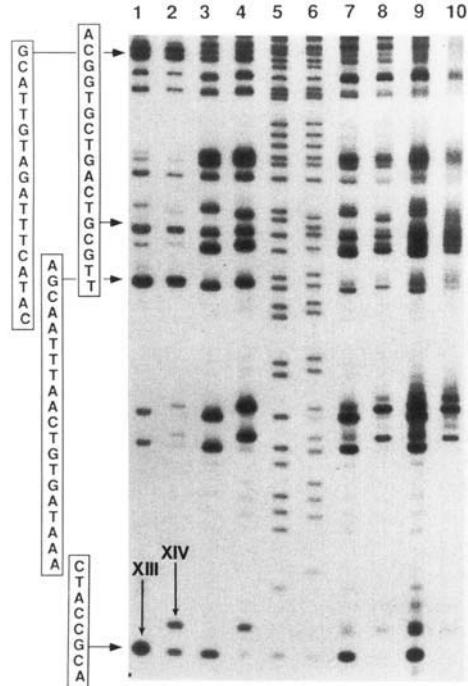
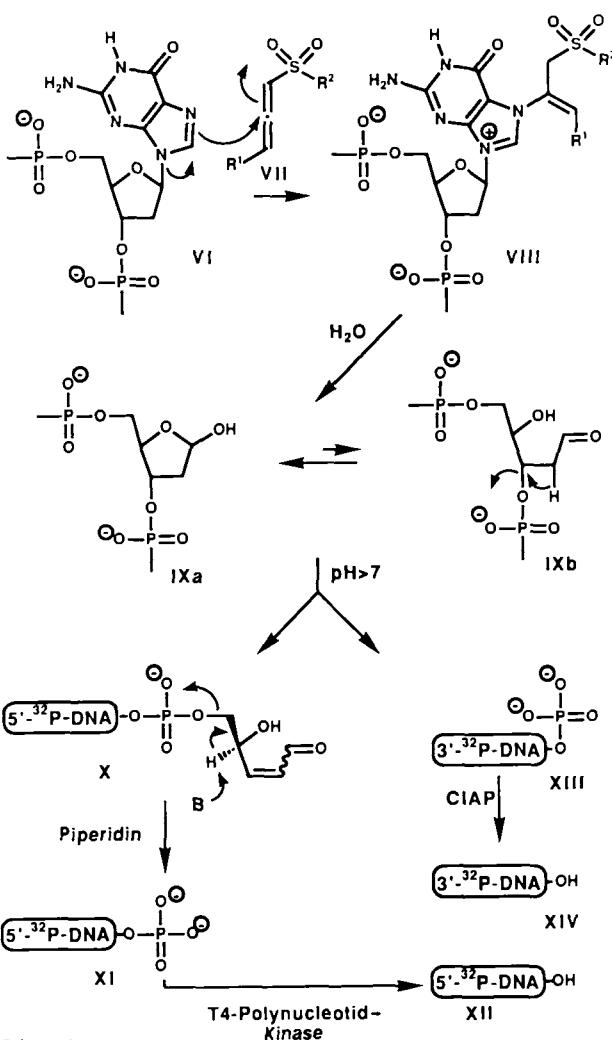


Abb. 3. Hochauflötes, denaturierendes Gel-Autoradiogramm der Spaltung des am 3'-Ende  $^{32}\text{P}$ -markierten 351 bp-Cla-I/BamH-I-Restriktionsfragments von pBR322 durch die Verbindungen 1-3 (gezeigt sind die Basen 12-76). Spur 1: 1 (5 mM), 37 °C, 16 h; Spur 2: 1 (5 mM), 37 °C, 16 h, dann alkalische Kälberdarm-Phosphatase (CIAP), 37 °C, 1 h; Spur 3: Maxam-Gilbert-G-Reaktion; Spur 4: Maxam-Gilbert-G-Reaktion, anschließend CIAP, 37 °C, 1 h; Spur 5: Maxam-Gilbert-AG-Reaktion; Spur 6: Maxam-Gilbert-AG-Reaktion, anschließend CIAP, 37 °C, 1 h; Spur 7: 2 (100  $\mu\text{M}$ ), 37 °C, 16 h; Spur 8: 2 (100  $\mu\text{M}$ ), 37 °C, 16 h, dann CIAP, 37 °C, 1 h; Spur 9: 3 (100  $\mu\text{M}$ ), 37 °C, 16 h; Spur 10: 3 (100  $\mu\text{M}$ ), 37 °C, 16 h, dann CIAP, 37 °C, 1 h.

zeigt die Ergebnisse der Spaltung der am 5'-Ende markierten DNA durch Verbindung 1. Vergleiche der Spaltprodukte (Spur 3) mit chemisch hergestellten Maxam-Gilbert-Markern<sup>[11]</sup> ergaben, daß bevorzugt am Guanin angegriffen wird und daß eine hohe Selektivität für die Sequenzen 5-GCA, 5-GCG und 5-GCC besteht (vgl. horizontale Pfeile in Abb. 2). Guaninreste an anderen Stellen wurden kaum oder gar nicht angegriffen. Im Gel-Autoradiogramm wurden zwei Produkte, X und XI (Spuren 1-3), beobachtet. Während das Erhitzen auf 90 °C nach der Inkubation keine signifikanten Änderungen bewirkte (Spur 2), führte die Behandlung mit Piperidin zur Umwandlung der Bande X in XI (Spur 3). Letztere wandert gemeinsam mit den 3'-phosphorylierten Maxam-Gilbert-Markern (Spuren 5 und 6), und beide zeigten gleiche Wanderungsgeschwindigkeit nach der Behandlung mit T4-Polynukleotid-Kinase<sup>[12]</sup>. (XII, Spur 4 und Spuren 7 und 8). Diese Beobachtungen lassen sich mit dem in Schema 2 gezeigten Wirkungsmechanismus erklären.

Ähnliche Versuche mit am 3'-Ende markierter DNA und den Verbindungen 1-3 (Abb. 3) bestätigen die Bildung dieser Zwischenstufen und den in Schema 2 postulierten Alkylierungsmechanismus. So wurden für Verbindung 1 die Zwischenstufen XIII und XIV (Abb. 3, Spur 2 bzw. 3) beobachtet. Ferner wurde gezeigt, daß die Verbindungen 2 und 3 gleiche Spaltungsmuster (Abb. 3, Spuren 7 bzw. 9) verursachen, die sich jedoch von dem der Verbindung 1 (Abb. 3, Spur 1) unterscheiden. Die Empfindlichkeit konjugierter Sulfone gegenüber einem nucleophilen Angriff paßt ebenfalls zum vorgeschlagenen Mechanismus<sup>[13]</sup>.



Schema 2.

Die Selektivität der Verbindungen **1–3** bei der Erkennung von DNA-Regionen spiegelt nicht nur ihre Reaktivität gegenüber einzelnen Basen wider, sondern auch gegenüber bestimmten DNA-Fragmenten. Diese Selektivität sollte sich durch Verknüpfung der hier vorgestellten DNA-Spalter mit sequenzspezifischen DNA-bindenden Systemen synergistisch verstärken lassen.

Eingegangen am 9. Oktober 1990 [Z 4236]

- [1] W. A. Remers (Hrsg.) *Antineoplastic Agents*, Wiley, New York 1984; S. Neidle, M. J. Waring (Hrsg.): *Molecular Aspects of Anticancer Drug Action*, Verlag Chemie, Weinheim 1983; C. Chagas, B. Pullman (Hrsg.): *Molecular Mechanism of Carcinogenic and Antitumor Activity*, Adenine Press, Schenectady, NY, USA 1987.
- [2] Für einige ausgewählte Beispiele, vgl.: a) R. P. Hertzberg, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 313; b) H. E. Moser, P. B. Dervan, *Science* **238** (1987) 645; c) K. C. Nicolaou, Y. Ogawa, G. Zuccarello, H. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 7247; d) T. J. Posvic, P. B. Dervan, *ibid.* **111** (1989) 3059; e) D. R. Corey, P. G. Schultz, *ibid.* **111** (1989) 8523; f) A. M. Pyle, E. C. Long, J. K. Barton, *ibid.* **111** (1989) 4520; g) D. S. Sigman, *ibid.* **111** (1989) 4941; h) N. B. Mantlo, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **54** (1989) 2781; i) M. Otsuka, T. Masuda, A. Haupt, M. Ohno, T. Shiraki, Y. Sugiura, K. Maeda, *J. Am. Chem. Soc.* **112** (1990) 838; k) D. Natans, H. O. Smith, *Annu. Rev. Biochem.* **44** (1975) 273; l) K. C. Nicolaou, G. Skokotas, S. Furoya, H. Suemune, D. C. Nicolaou, *Angew. Chem.* **102** (1990) 1066; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **29** (1990) 1064.
- [3] B. F. Baker, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **111** (1989) 2700; D. P. Mack, P. B. Dervan, *ibid.* **112** (1990) 4604; D. Pei, P. G. Schultz, *ibid.* **112** (1990) 4579; S. A. Strobel, P. B. Dervan, *Science* **249** (1990) 73, zit. Lit.
- [4] K. C. Nicolaou, G. Skokotas, P. Maligres, G. Zuccarello, E. J. Schweiger, K. Toshima, S. Wendeborn, *Angew. Chem.* **101** (1989) 1255; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **28** (1989) 1272.
- [5] P. J. Garratt, S. B. Neoh, *J. Org. Chem.* **44** (1979) 2667; Y. S. P. Cheng, P. J. Garratt, S. B. Neoh, V. H. Rumjanek, *Isr. J. Chem.* **26** (1985) 101.
- [6] S. Braverman, D. Segev, *J. Am. Chem. Soc.* **96** (1974) 1245; S. Braverman, Y. Duar, D. Segev, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 3181.
- [7] Ausgewählte physikalische Daten der Verbindungen **2–4**: **2**: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.78 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H, Naphthyl), 8.35 (dd,  $J$  = 7.5, 1 Hz, 1H, Naphthyl), 8.16 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H, Naphthyl), 7.98 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1H, Naphthyl), 7.71 (ddd,  $J$  = 8.5, 7.0, 1.0 Hz, 1H, Naphthyl), 7.45 (m, 2H, Naphthyl), 4.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>), 4.12 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OH); IR(CHCl<sub>3</sub>):  $\tilde{\nu}_{max}$  = 3602, 3080, 2950, 1346, 1169, 1124 cm<sup>-1</sup>; HRMS (CI):  $m/z$  ber. für C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S ( $M^+$ ): 260.050, gef.: 260.048. **3**: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.66 (d,  $J$  = 9 Hz, 1H, Naphthyl), 8.34 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 1H, Naphthyl), 8.12 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H, Naphthyl), 7.96 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H, Naphthyl), 7.61 (m, 2H, Naphthyl), 6.42 (ddd,  $J$  = 6.0, 3.0, 3.0 Hz, 1H, CHSO<sub>2</sub>), 6.02 (ddd,  $J$  = 6.0, 6.0, 6.0 Hz, 1H, CHCH<sub>3</sub>), 4.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>OH); IR(CHCl<sub>3</sub>):  $\tilde{\nu}_{max}$  = 3608, 3080, 2950, 1959, 1318, 1156, 1127 cm<sup>-1</sup>; HRMS (CI):  $m/z$  ber. für C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S ( $M^+$ ): 260.050, gef.: 260.051. **4**: <sup>1</sup>H-NMR (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 8.73 (d,  $J$  = 8.45 Hz, 1H, Naphthyl), 8.31 (dd,  $J$  = 8.6, 1.2 Hz, 1H, Naphthyl), 8.14 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, Naphthyl), 7.99 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H, Naphthyl), 7.66 (m, 3H, Naphthyl), 3.61 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OH), 3.36 (t,  $J$  = 7.64 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>), 1.83 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.64 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); IR(CHCl<sub>3</sub>):  $\tilde{\nu}_{max}$  = 3627, 3550, 3080, 2945, 1346, 1156, 1125 cm<sup>-1</sup>; HRMS (CI):  $m/z$  ber. für C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S ( $M^+$ ): 264.082, gef.: 264.082.
- [8] Verbindung **2** wurde aus Naphthalin-1-thiol durch Umsetzung mit BrCH<sub>2</sub>C≡CCH<sub>2</sub>OSi<sub>2</sub>BuMe<sub>2</sub> unter basischen Bedingungen, Oxidation mit meta-Chlorperbenzoësäure und Fluorid-induzierte Desilylierung synthetisiert. Verbindung **3** wurde aus **2** durch Reaktion mit Triethylamin erhalten. Die Verbindung **4** wurde ähnlich wie Verbindung **2** unter Verwendung von 1(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>OSi<sub>2</sub>BuMe<sub>2</sub> dargestellt.
- [9] J. M. McCord, I. Fridovich, *J. Biol. Chem.* **244** (1969) 6049.
- [10] Die DNA-spaltenden Eigenschaften der Verbindungen **1–3** wurden durch EDTA nicht beeinflußt, so daß eine Beteiligung EDTA-bindender Metalle bei der Spaltungsreaktion ausgeschlossen werden kann.
- [11] A. M. Maxam, W. Gilbert, *Methods Enzymol.* **65** (1980) 499; A. M. Maxam, W. Gilbert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74** (1977) 560.
- [12] V. Cameron, O. C. Uhlenbeck *Biochemistry* **16** (1977) 5120.
- [13] Verbindung **3** reagiert mit Adenin, Guanin und Benzylamin unter Bildung labiler Addukte, die erwartungsgemäß zu den entsprechenden 2-Ketoverbindungen hydrolysierten. Über die Addition von Nucleophilen an Propargyl- und Allenylsulfone wurde schon früher berichtet: L. Skattebol, B. Boulette, S. Salomon, *J. Org. Chem.* **33** (1968) 548; C. J. M. Stirling, *J. Chem. Soc.* **1964**, 5856, 5863, 5875; H. F. Schuster, G. M. Coppola: *Alkaloids in Organic Synthesis*, Wiley, New York 1984, S. 235–239, zit. Lit.

## BUCHBESPRECHUNGEN

Buchbesprechungen werden auf Einladung der Redaktion geschrieben. Vorschläge für zu besprechende Bücher und für Rezessenten sind willkommen. Verlage sollten Buchankündigungen oder (besser) Bücher an folgende Adresse senden: Redaktion Angewandte Chemie, Postfach 101161, W-6940 Weinheim, Bundesrepublik Deutschland. Die Redaktion behält sich bei der Besprechung von Büchern, die unverlangt zur Rezension eingehen, eine Auswahl vor. Nicht rezensierte Bücher werden nicht zurückgesandt.

**Chemistry of Plant Protection. Vol. 4: Synthetic Pyrethroid Insecticides.** Von K. Naumann. Springer, Berlin 1990. XVI, 241 S., geb. DM 224.00. – ISBN 3-540-51313-2

Die Buchserie „Chemistry of Plant Protection“ tritt die Nachfolge des bekannten Handbuchs von R. Wegler „Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel“ an. Nicht nur die Sprache hat sich geändert, es ist auch ein Wandel in der Herausgeberpolitik eingetreten. Während das Weglersche Handbuch sich in klassischer Weise nach Herbiziden, Fungiziden und Insektiziden gliedert, sind die Bände des Nachfolgewerks nach aktuellen Einzelthemen („Topics“) geordnet. So widmet sich der erste Band der Inhibition der Sterolbiosynthese, der zweite dem biologischen Abbau von Pestiziden, der Entlaubung und Austrocknung von grünen Pflanzen sowie der Beeinflussung von Acetyl-