

Arch. Pharm. (Weinheim) 315, 515–519 (1982)

Synthese und Testung der potentiellen östrophilen Cytostatica 2,3-Epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)hexen-4 und 2,3,4,5-Bis-epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)hexan

Martin R. Schneider, Helmut Schönenberger*,

Institut für Pharmazie der Universität Regensburg, Universitätsstr. 31, D-8400 Regensburg

Ralf T. Michel und Hans P. Fortmeyer

Klinik der Johann Wolfgang Goethe Universität, Abteilung für Gynaekologie und Onkologie,
Theodor-Stern-Kai 7, D-6000 Frankfurt/Main

Eingegangen am 8. Juli 1981

Durch Epoxidierung von 3,4-Bis(4'-acetoxyphenyl)-*E,E*-hexadien-2,4 (**3a**) werden 2,3-Epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)hexen-4 (**4a**) und 2,3,4,5-Bis-epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)hexan (**5a**) erhalten. **3a**, **4a** und **5a** hemmen die ³H-Östradiol-Rezeptor-Wechselbeziehung kompetitiv (**3a** > **4a** > **5a**) und das Wachstum eines auf thymusaplastische Mäuse transplantierten menschlichen Mammacarcinoms (**3a** > **4a** > **5a**).

Syntheses and Evaluation of the Potentially Oestrophilic Cytostatics

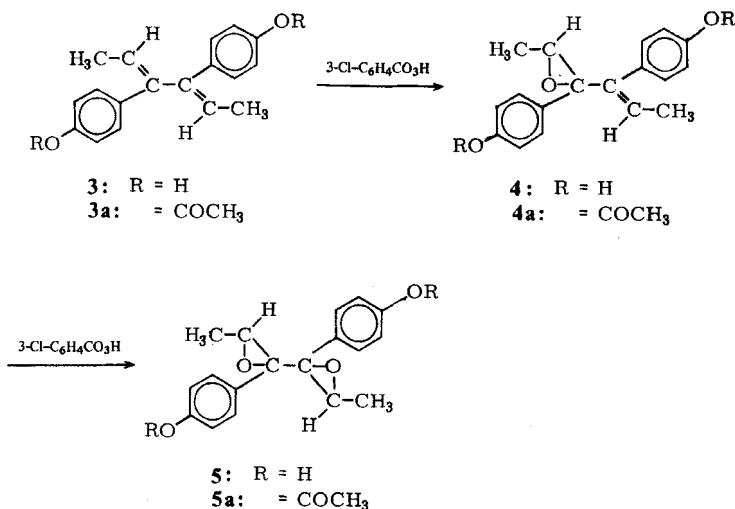
2,3-Epoxy-3,4-bis-(4-acetoxyphenyl)-4-hexene and

2,3,4,5-Bisepoxy-3,4-bis-(4-acetoxyphenyl)hexane

2,3-Epoxy-3,4-bis-(4-acetoxyphenyl)-4-hexene (**4a**) and 2,3,4,5-bisepoxy-3,4-bis-(4-acetoxyphenyl)hexane (**5a**) were synthesized by epoxidation of *E,E*-3,4-bis-(4-acetoxyphenyl)-2,4-hexadiene (**3a**). Compounds **3a**, **4a** and **5a** competitively inhibit the interaction of ³H-estradiol with its receptor (**3a** > **4a** > **5a**) and the growth of a human mammary carcinoma transplanted in thymus-aplastic mice.

Die Feststellung, daß die Überführung von Diethylstilböstrol (DES (**1**)) relative Bindungsaffinität (RBA) = 41,0, Östradiol, RBA = 100) in 3,4-Bis(4'-hydroxyphenyl)3,4-epoxy-hexan (**2**, RBA = 38,0) zu keiner nennenswerten Veränderung der Östradiolrezeptor-Affinität führt¹⁾, und die starke Wirkung von **2** an verschiedenen hormonabhängigen Mammatumormodellen¹⁾ veranlaßten uns zur Synthese und pharmakologischen Prüfung des Mono- und Bisepoxids von Dienöstrol (**3**), 2,3-Epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)hexen-4 (**4a**) und 2,3, 4,5-Bis-epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)hexan (**5a**). Wir diskutieren die Bildung der potentiell cytotoxischen Metabolite **2**, **4** und **5** (s. Formelschema) als eine mögliche Ursache der mammatumormhemmenden Eigenschaften von DES (**1**) und Dienöstrol (DIES, **3**). Einen Hinweis für diese Theorie liefert der Nachweis genotoxischer Eigenschaften für **1** und **3** im „sister chromatid exchange experiment“ (SCE-Test) nach metabolischer Aktivierung²⁾.

Derartige Eingriffe in den DNA-Stoffwechsel sind als Wirkungsursache alkylierender Cytostatica beschrieben³⁾. Epoxide, die zur pharmakologischen Klasse der alkylierenden Cytostatica zählen, verursachen eine ausgeprägte Hemmung verschiedener Experimentaltumoren, wobei für Bisepoxide eine bessere Wirkung als für Monoepoxide erwähnt ist⁴⁾. Wir nehmen an, daß sich östrophile Epoxide durch Wechselbeziehung mit Östradiolrezeptoren in hormonabhängigen Mammacarcinomzellen anreichern und daher eine selektivere Wirkung als therapeutisch gebräuchliche Epoxide⁵⁾ entfalten.



4a wird in quantitativer Ausbeute durch Acetylierung von *E,E*-DIES (**3**) zu **3a**⁶⁾ und anschließende Umsetzung mit 3-Chlorperbenzoesäure im Molverhältnis 1:1 erhalten. **4a** ist ¹H-NMR-spektroskopisch einheitlich. Auf Grund des bekannten stereospezifischen Verlaufs der Epoxidierung von Olefinen⁷⁾ nehmen wir bei **4a** *cis*-Stellung der benachbarten CH₃- und 4-CH₃COO-C₆H₄-Reste im Oxiranring an. Die analoge Umsetzung von **4a** zum Bisepoxid **5a** liefert erwartungsgemäß ein Diastereomerenmisch, dessen beide Komponenten aufgrund NMR-spektroskopischer Daten im Mengenverhältnis 1:1 vorliegen. Im ¹H-NMR-Spektrum von **5a** finden sich 2 Signalgruppen (q) für die beiden H-Atome in 2- und 5-Position.

DIES (**3**) besitzt einen ähnlichen RBA-Wert (23,8) wie DES (**1**). Durch Acetylierung der beiden phenolischen OH-Gruppen in **3** verringert sich der RBA-Wert auf 4,5. **3a** ist eine östrophile Transportform von **3**, die *in vivo* in die stark rezeptoraffine Verbindung **3** übergeführt wird.⁸⁾ Der gleiche Vorgang ist für **4a** und **5a** anzunehmen. Der Einbau einer Epoxidgruppierung in **3a** reduziert die Rezeptoraffinität auf 34 % (RBA = 1.51) der von zwei Epoxidgruppierungen auf 21 % (RBA = 0.96) des ursprünglichen Werts.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen im SCE-Test mit **3** lassen sich bei **2**, **4a** und **5a** *in vitro* keine alkylierenden Eigenschaften im NBP-Test nachweisen. Epoxide und andere alkylierende Cytostatica wie Chlorambucil alkylieren in diesem Experiment *p*-Nitrobenzylpyridin am Pyridinstickstoff unter Bildung eines bei 600 nm absorbierenden Farbstoffs¹⁾.

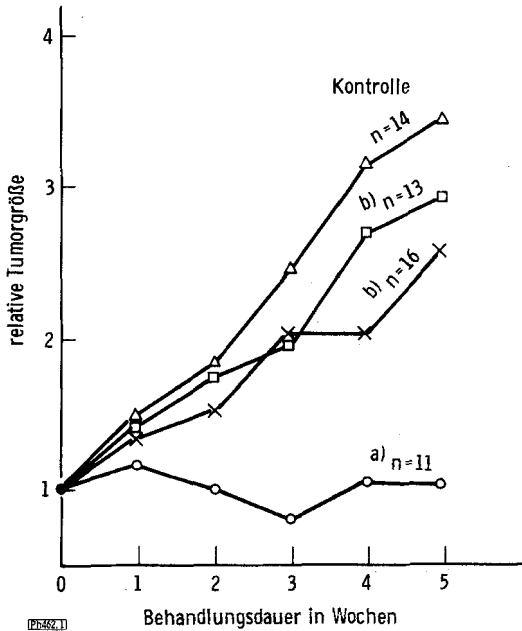


Abb. 1: Wirkung von **3a** (O—O), **4a** (x—x) und **5a** (□—□): 6 x 1.3 mg/kg sc/Woche am auf thymusaplastische Mäuse transplantierten Östrogen- und Progesteronrezeptor-positiven, postmenopausalen, menschlichen Mammacarcinom; ^a)signifikant ($\alpha > 0.05$); ^b)nicht signifikant ($\alpha \leq 0.05$); n = Anzahl der Tumoren pro Versuchsgruppe. Die Tiergewichtsänderung der behandelten Tiere lag im Bereich von $\pm 10\%$ im Vergleich zur Kontrolle.

3a, **4a** und **5a** hemmen in einer Dosierung von 6 x 1.3 mg/kg sc/Woche das auf thymusaplastische Mäuse transplantierte Östradiol- und Progesteronrezeptor-positive, postmenopausale, menschliche Mammacarcinom entsprechend ihren abnehmenden Östradiolrezeptor-Affinitäten in der Reihenfolge **3a**>**4a**>**5a** (Abb. 1). Entgegen unseren Erwartungen wird die tumorhemmende Wirkung von **3** durch Überführung in die Epoxide **4a** und **5a** nicht verbessert, sondern (vermutlich auf Grund verringerter Östradiolrezeptor-agonistischer oder -antagonistischer und fehlender alkylierender Effekte) abgeschwächt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie – Fonds der Chemischen Industrie – danken wir für die Förderung dieser Untersuchungen.

Experimenteller Teil

Schmp.: Büchi 510-Schmelzpunktapparat, nicht korr.; ¹H-NMR-Spektren: Varian EM 360 A (60 MHz); MS: CH5 Varian MAT; DC: Silikagelplatten Merck F 254 (Fließmittel: Toluol/Ethylacetat 8:2); *Elementaranalysen*: Mikroanal. Lab. Universität Regensburg.

3,4-Bis(4'-acetoxyphenyl)-E,E-hexadien-2,4 (3a)

2.66 g (0.01 mol) **3** werden mit 2.4 g (0.02 mol) Acetanhydrid und 1.98 g (0.025 mol) Pyridin 30 min unter Rückfluß erhitzt und mit Eiswasser versetzt. Farblose Kristalle, Schmp. 118° (Ethanol); Ausb. 95 % d. Th.; ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1.45 (d, 6H, J = 7 Hz, -CH₃), 2.30 (s, 6H, -OCOCH₃), 5.25 (q, 2H, J = 7 Hz, -C-H), 7.15 (s, 8H, arom.); hRf: 56; C₂₂H₂₂O₄ (350.4) Ber. C 75.4 H 6.33 Gef. C 75.5 H 6.41.

2,3-Epoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)-E,E-hexen-4 (4a)

3.50 g (0.01 mol) **3a** werden unter Lichtausschluß bei Raumtemp. mit 2.1 g (0.012 mol) 3-Cl-Perbenzoesäure in etherischer Lösung gerührt. Der Reaktionsverlauf wird dc verfolgt. Nach quantitativer Umsetzung wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und der Ether abgezogen. Farblose Kristalle, Schmp. 88° (Ethanol); Ausb. 66 % d. Th.; ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1.00 (d, 3H, J = 7 Hz, 2-C-CH₃), 1.57 (d, 3H, J = 7 Hz, 5-C-CH₃), 2.30 (s, 6H, -OCOCH₃), 3.30 (q, 1H, J = 7 Hz, 2-C-H), 5.85 (q, 1H, J = 7 Hz, 5-C-H), 6.90–7.33 (m, 8H, arom.); MS (70 eV): m/e = 366 (M⁺); hRf: 36; C₂₂H₂₂O₅ (366.4) Ber. C 72.1 H 6.05 Gef. C 71.8 H 6.14.

2,3,4,5-Bisepoxy-3,4-bis(4'-acetoxyphenyl)-hexan (5a)

Die Darstellung erfolgt analog **3a** zu **4a**. **5a** liegt als Diastereomeregemisch im Mengenverhältnis 1:1 vor. Farblose Kristalle, Schmp. 114–118° (Ethanol); Ausb. 31 % d. Th.; ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1.00 (d, 6H, J = 7 Hz, -CH₃), 2.30 (s, 6H, -OCOCH₃), 3.38 und 3.50 (2q, 2H, J = 7 Hz, -C-H), 6.90–7.30 (m, 8H, arom.); MS (70 eV): m/e 382 (M⁺); hRf: 25; C₂₂H₂₂O₆ (382.4) Ber. C 69.1 H 5.80 Gef. C 69.3 H 5.96.

Östradiolrezeptor-Affinität

Die Bestimmung erfolgte nach der von Hartmann et al.⁹⁾ beschriebenen Methode unter Verwendung von Kalbsuteruscytosol. Die relative Bindungsaffinität errechnet sich nach $RBA = E2/I \times 100$; E2 und I: Östradiol- bzw. Inhibitorkonzentration erforderlich für eine 50proz. Reduktion der ³H-E2-Rezeptor-Bindung.

Testung am Östrogen- und Progesteronrezeptor-positiven, postmenopausalen, menschlichen Mammacarcinom-Transplantat auf thymusaplastischen Mäusen¹⁾

4(4'-Nitrobenzyl)-pyridin-Test (NBP-Test)¹⁾**Literatur**

- 1 M. R. Schneider, G. Kranzfelder, E. v. Angerer, H. Schönenberger, M. Metzler, R. Th. Michel, H. P. Fortmeyer und G. Ruckdeschel, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 100, 247 (1981).
- 2 H. W. Rüdiger, F. Haenisch, M. Metzler, F. Oesch und H. R. Glatt, Nature (London) 281, 5730 (1979).
- 3 W. E. G. Müller, Chemotherapie von Tumoren, Biochemische Grundlagen, S. 93–108, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1975.
- 4 W. C. J. Ross, Biological Alkylating Agents, S. 13, 27, 107, 119, Butterworths, London 1962.
- 5 G. Ehrhart und H. Ruschig, Arzneimittel-Entwicklung, Wirkung, Darstellung, Vol. V, S. 357, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1972.
- 6 T. D. Doyle, J. McDonald Stewart, N. Filipescu und W. R. Benson, J. Pharm. Sci. 64, 1525 (1975).

- 7 D. Swern, J. Am. Chem. Soc. 70, 1235 (1948).
 8 M. C. Mani, D. H. Rector, H. D. Christensen, G. L. Kimmel und C. E. Cook, J. Med. Chem. 18, 982 (1975).
 9 R. W. Hartmann, G. Kranzfelder, E. v. Angerer und H. Schönenberger, J. Med. Chem. 23, 841 (1980).

[Ph 462]

Arch. Pharm. (Weinheim) 315, 519–525 (1982)

Synthese von 6-Thia-minocyclin, einem Thiaanalogon des Antibiotikums Minocyclin

Richard Kirchlechner^{*)} und Jürgen Seubert

Pharma Forschung, Pharmazeutische Chemie, E. Merck, Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

Eingegangen am 9. Juli 1981

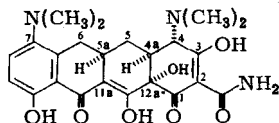
6-Thia-minocyclin, das 6-Thiaanalogon des Antibiotikums Minocyclin wurde in 14-stufiger Synthese, ausgehend von 2-Nitro-5-methoxy-phenol, dargestellt; seine antibakterielle Wirksamkeit ist mit der des Minocyclins vergleichbar.

Synthesis of 6-Thiaminocycline, a Thia Analogue of the Antibiotic Minocycline

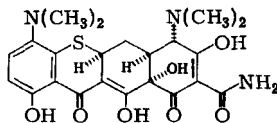
6-Thiaminocycline, the 6-thia analogue of the antibiotic minocycline, has been synthesized in a fourteen step synthesis starting from 2-nitro-5-methoxyphenol; its antibacterial activity is comparable to that of minocycline.

Minocyclin (**1**), ein halbsynthetisches Tetracyclin, zeigt neben Doxycyclin von allen, in die medizinische Therapie eingeführten Tetracyclinantibiotika das beste antibakterielle Wirkungsspektrum.

Wir berichteten vor kurzem über die Synthese von 6-Thia-^{1,2,3}) und 6-Oxatetracyclin⁴), und waren im Rahmen unserer Untersuchungen an heteroanalogen Tetracyclinen daran interessiert, wie sich das 6-Thiaderivat des Minocyclins, 6-Thia-minocyclin (**2**), (= 7-Dimethylamino-6-thiatetracyclin), in seiner antibakteriellen Aktivität verhalten würde.



1



2

^{*)} Neue Anschrift: Fa. Dr. Theodor Schuchardt u. Co., Eduard-Buchner-Str., 8011 Hohenbrunn