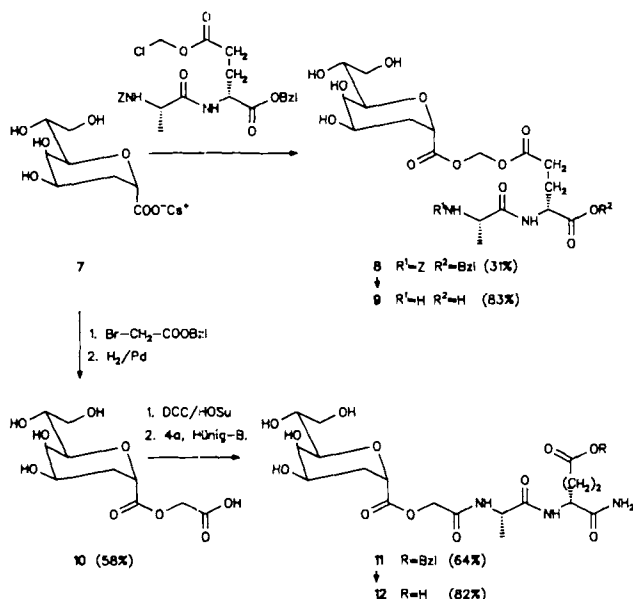


lytisch deblockiert (8 → 9). Ebenfalls durch Alkylierung mit anschließender Hydrogenolyse ist der Glycolsäureester 10 zugänglich, der breit modifizierbar ist. So können durch weitere Umsetzungen mit Zellwandpeptidsequenzen Konjugate wie 11 erhalten werden, die sich hydrogenolytisch zu 12 deblockieren lassen.



Schema 2. Anknüpfung von Zellwandpeptidfragmenten an 2a durch Alkylierung von Caesium-2,3-didesoxy-β-D-manno-2-octulosonat.

Die Spaltbarkeit durch bakterielle Enzyme konnte für die Konjugate 9 und 12 gezeigt werden^[13]. Die in vitro gemessene antibakterielle Aktivität^[14] von 9 belegt sowohl die Aufnahme des Konjugats in die Bakterienzelle als auch die Freisetzung des Inhibitors. Durch die verschiedenen Modifizierungen der 1-Carboxyfunktion der 2-Desoxy-β-KDO in 6, 9 und 12 wird eine Abstufung der in-vivo-Stabilität der Zellwandpeptidkonjugate in Hinblick auf eine selektive Freisetzung des Enzyminhibitors innerhalb der Bakterienzelle erreicht.

Eingegangen am 5. Juni 1991 [Z 4679]

CAS-Registry-Nummern:

2a, 107573-28-4; 4a, 59524-62-8; 4b, 66025-58-9; 4c, 137040-40-5; 4d, 137040-42-7; 4e, 137040-44-9; 5a, 137040-52-9; 5b, 137040-53-0; 5c, 137040-54-1; 5d, 137040-55-2; 5e, 137040-56-3; 6a, 137040-57-4; 6b, 137040-58-5; 6c, 137040-59-6; 6d, 137040-60-7; 6e, 137040-61-0; 7, 137040-45-0; 8, 137040-46-1; 9, 137040-47-2; 10, 137040-48-3; 11, 137040-49-4; 12, 137040-50-7; BrCH₂COOBzl, 5437-45-6; Z-Alanyl-D-glutamyl-α-benzyl-γ-chlormethylester, 137040-51-8.

- [1] Übersicht: O. Lüderitz, M. A. Freudenberg, C. Galanos, V. Lehman, E. T. Rietschel, D. H. Shaw, *Curr. Top. Membr. Transp.* 17 (1982) 79.
- [2] Übersicht: F. Unger, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 38 (1981) 323.
- [3] M. A. Ghalambor, E. C. Heath, *J. Biol. Chem.* 241 (1966) 3216; W. E. Kohlbrenner, S. W. Fesik, *ibid.* 260 (1985) 14695.
- [4] a) A. Claesson, K. Luthman, K. Gustafsson, G. Bondesson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 143 (1987) 1063; b) R. Goldman, W. E. Kohlbrenner, P. Lartey, A. Pernet, *Nature* 329 (1987) 730; c) A. Claesson, A. M. Jansson, B. C. Pring, S. M. Hammond, B. Ekström, *J. Med. Chem.* 30 (1987) 2309.
- [5] P. Lartey, *Drugs of the Future* 13 (1988) 555.
- [6] E. W. Goodell, *J. Bacteriol.* 163 (1985) 305; E. W. Goodell, C. F. Higgins, *ibid.* 169 (1987) 3861.
- [7] Übersicht: E. Wünsch in *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)* 15/1, 2 (1974).
- [8] E. Wünsch, F. Drees, *Chem. Ber.* 99 (1966) 110; F. Weygand, D. Hoffmann, E. Wünsch, *Z. Naturforsch. B21* (1966) 426.

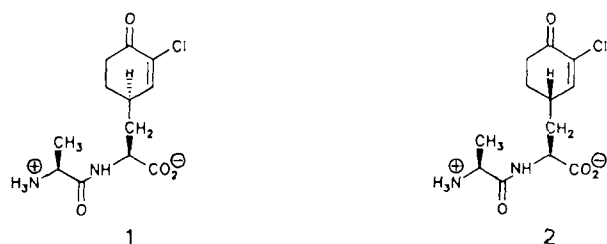
- [9] Übersicht: H. Bundgaard in B. Roche (Hrsg.): *Bioreversible Carriers in Drug Design*, Pergamon, London 1987, S. 13–94.
- [10] B. F. Gisin, *Helv. Chim. Acta* 56 (1973) 1476; W. H. Kruijzinga, B. Strijveen, R. M. Kellogg, *J. Org. Chem.* 46 (1981) 4321; H.-G. Lerchen, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* 26 (1985) 5257.
- [11] Herstellung aus Z-L-Ala-D-Glu(OH)-Bzl mit Chlormethyl-chlorsulfat unter Phasentransferbedingungen (vgl. [12]). Bei der Umsetzung mit 7 erfolgt als Nebenreaktion eine Cyclisierung des Glutaminsäure-Bausteins zum Imid.
- [12] B. Baltzer, E. Binderup, W. v. Daehne, W. O. Godtfredsen, K. Hansen, B. Nielsen, H. Sorensen, S. Vangedal, *J. Antibiot.* 33 (1980) 1183.
- [13] Die Spaltbarkeit wurde mit einem CMP-KDO-Synthetase-Assay überprüft. Die Derivate 9 und 12 zeigen nur nach Freisetzung des Enzyminhibitors durch Vorbehandlung mit Bakterienzellsatz Aktivität in diesem Enzymtest.
- [14] Nach 24 und 36 h wurde mit 2,2 μM 9 eine Reduktion der Keimzahlen von *Salmonella typhimurium* um 3,6 log-Stufen gegenüber der unbehandelten Kontrolle gemessen.

Enantio- und diastereoselektive Totalsynthese des antimykotisch wirkenden Naturstoffes Chlorotetain: Revision der relativen Konfiguration **

Von Hanno Wild* und Liborius Born

Professor Karl Heinz Büchel zum 60. Geburtstag gewidmet

Das vor kurzem aus dem *Bacillus-subtilis*-Stamm BGSC 1 E 2 isolierte Dipeptid Chlorotetain, dem die Struktur 1 zugeordnet wurde^[1], hat ähnliche antimykotische Eigenschaften wie das verwandte und bereits länger bekannte Bacilysin^[2]. Obwohl bisher drei Synthesen für die C-terminale Aminosäure des Bacilysins, Anticapsin, beschrieben sind^[3], ist ein stereoselektiver allgemeiner Zugang zu Aminosäuren dieses ungewöhnlichen Typs bisher nicht bekannt. Wir berichten hier über die erste Totalsynthese des Chlorotetains, aufgrund derer dem Naturstoff die zu 1 epimere Struktur 2 mit (S)-Konfiguration des C-Atoms im Cyclohexenylrest zukommt.



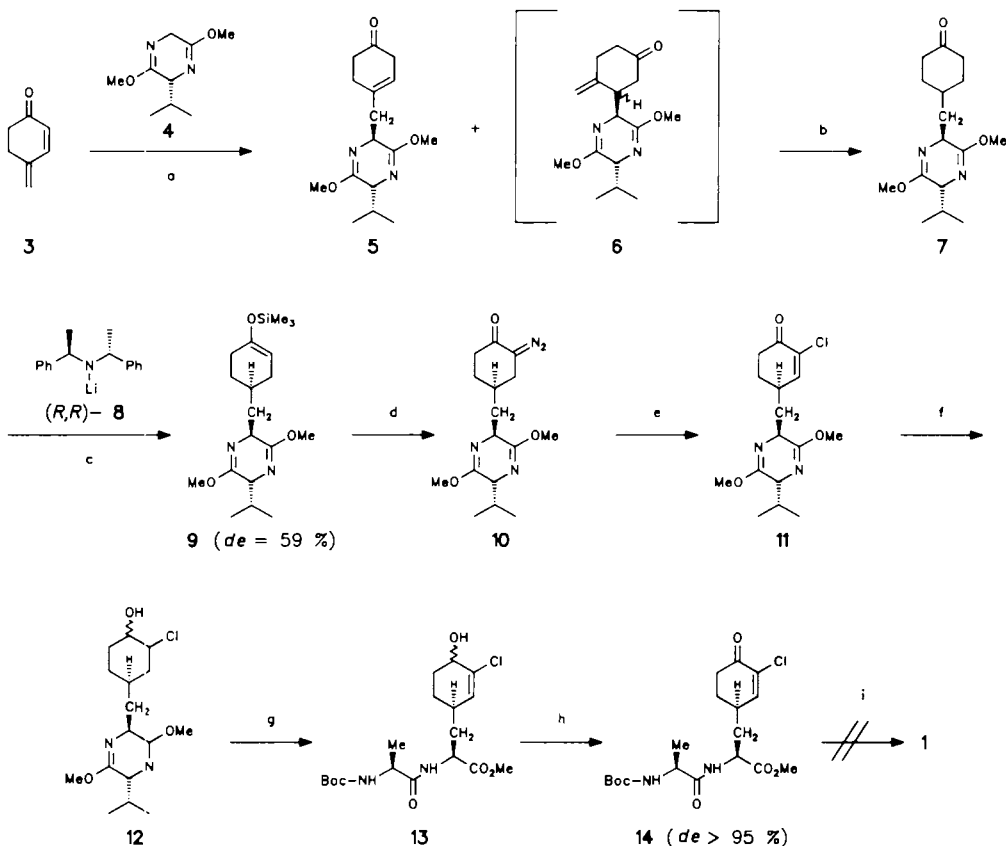
Bei der Syntheseplanung war zu berücksichtigen, daß Chlorotetain nur bei einem pH-Wert um 5 in Lösung stabil ist. Oberhalb pH 7 und unterhalb pH 5 nimmt die biologische Aktivität, besonders beim Erwärmen, rasch ab^[1]. Hauptreaktionsweg im Alkalischen ist die intramolekulare 1,4-Addition des Amides an das Enon-System unter Bildung eines 6-Oxo-octahydroindols^[3b, c]. Da die Gefahr dieser Nebenreaktion auch bei Zwischenstufen der Synthese besteht, sollte das Enon erst zu einem möglichst späten Zeitpunkt freigesetzt werden. Schema 1 zeigt die Reaktionsfolge, die

[*] Dr. H. Wild
Bayer AG, Chemisch-wissenschaftliches Labor Pharma
Postfach 101709, W-5600 Wuppertal 1
Dr. L. Born
ZF-DZA Strukturforschung
Bayerwerk, W-5090 Leverkusen

[**] Herrn Prof. G. Jung, Tübingen, danken wir für eine Probe natürlichen Chlorotetains.

zum Dipeptid **1**, dem vermeintlichen Chlorotetain, führen sollte.

1,6-Addition des Cuprates des Bislactimethers **4**^[4] an das Dienon **3**^[5] ergab in 40 % Ausbeute das gewünschte diastereomerenreine 3-Cyclohexenonderivat **5** neben 24 % des 1,4-Adduktes **6**. **5** wurde dann zum Cyclohexanon **7** hydriert und die gewünschte Konfiguration an C-1' nach Koga et al.^[6] und Simpkins et al.^[7] durch diastereoselektive Deprotonierung mit (*R,R*)-Lithium-bis(phenylethyl)amid **8** erzeugt. In Analogie zu den Reaktionen einfacher 4-Alkylcyclohexanone sollte das Hauptdiastereomer die für **9** gezeigte Konfiguration aufweisen.



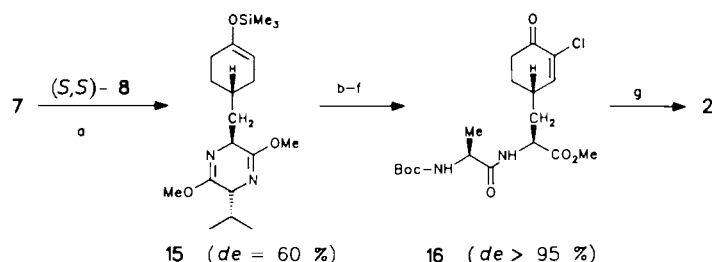
Schema 1. a) **4**, *n*BuLi, THF, Me₂S, -78 °C; 0.5 CuBr · Me₂S, 30 min, -40 °C; **3**, -78 °C; AcOH (**5**: 40 %, *de* > 95 %; **6**: 24 %, *de* (1,4) > 95 %, *de* (1,5) = 81 %; b) 3 atm H₂, Pd-C, Essigester, 2 h (97 %); c) (*R,R*)-**8**, Me₃SiCl, THF, -78 °C, +7 (76 %); d) MeLi, THF, 0 °C; CF₃CO₂CH₂CF₃, -78 °C; TosN₃, NEt₃, CH₃CN, 2 h (66 %); e) PhSeCl, CH₂Cl₂, -5 °C; 3 H₂O₂, Pyridin, CH₂Cl₂, 1 h, 0 °C (67 %); f) NaBH₄, CeCl₃, MeOH (89 %); g) 2 HCl, CH₃CN, H₂O, 2 h; gesättigte Na₂CO₃-Lösung; (*S*)-Boc-alanin, Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), Hydroxybenzotriazol (HOBt), THF, 1 h (87 %); h) MnO₂, CH₂Cl₂, 6 h; Chromatographie an Kieselgel (59 %); i) CF₃CO₂H, Anisol, 1 h, 0 °C; Schweinepankreas-Lipase (Sigma: L 3126), Puffer pH 7.5, 4 h.

Zur Erzeugung der 2-Chlorenon-Teilstruktur wurde der Silylenolether **9** zuerst über eine C-Trifluoracetyl-Zwischenstufe in die Diazoverbindung **10** überführt^[8]. Diese reagierte mit Phenylselenenylchlorid bei -5 °C spontan, und anschließende oxidative Eliminierung ergab das Chlorenon **11**^[9]. Vor der Hydrolyse des Bislactimethers mußte das Keton reduziert werden^[10], da saure Spaltung von **11** und anschließende Freisetzung des Amins zu der bereits erwähnten intramolekularen 1,4-Addition führen. Der Alkohol **12** hingegen ergab nach Hydrolyse und Verknüpfung mit (*S*)-Boc-alanin problemlos das Dipeptid **13**, das sich mit Braunstein in guter Ausbeute zum Cyclohexanon reoxidieren ließ. Auf dieser Stufe ließen sich Reste des unerwünschten Diastereomers chromatographisch leicht abtrennen^[11]. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe wurde der Methylester mit Schweinepankreas-Lipase verseift. Trotz dieser milden Bedingungen wurde aber nicht das freie Dipeptid **1** erhalten, sondern

es konnten nur die durch intramolekulare 1,4-Addition entstehenden Octahydroindole als Diastereomergemisch isoliert werden.

Schema 2 zeigt die Synthese des zu **1** epimeren Dipeptides **2**. Ausgehend von dem Cyclohexanon **7** wurde das geschützte Dipeptid **16** völlig analog zu der in Schema 1 gezeigten Reaktionsfolge in vergleichbarer Ausbeute aufgebaut^[11]. Die Deprotonierung von **7** in Gegenwart von Trimethylsilylchlorid mit (*S,S*)-**8** lieferte den zu **9** epimeren Silylenolether **15** mit gleicher Selektivität. Abspaltung der Boc-Schutzgruppe von **16** gefolgt von Lipase-katalysierter Verseifung und Umkehrphasenchromatographie zur Abtren-

nung von Zersetzungsprodukten ergab das Dipeptid **2**, das in jeglicher Hinsicht (NMR, UV, DC, HPLC) mit natürlichem Chlorotetain identisch ist.



Schema 2. a) (*S,S*)-**8**, Me₃SiCl, THF, -78 °C, +7 (71 %); b-f) siehe Schema 1, **9** → **14**; g) CF₃CO₂H, Anisol, 1 h, 0 °C; Schweinepankreas-Lipase (Sigma: L 3126), Puffer pH 7.5; Reinigung an RP-8, Lobar mit H₂O (52 %).

Daß die selektive Deprotonierung des Cyclohexanons **7** tatsächlich den erwarteten Verlauf genommen hatte, konnte durch eine Röntgenstrukturanalyse des *N*-Tritylderivates **17** zweifelsfrei gezeigt werden, das wie **16** aus dem Silylenol-ether **15** hergestellt wurde. Das asymmetrische C-Atom im Cyclohexenring von **17** und damit auch im Chlorotetain **2** ist (*S*)-konfiguriert! Der Aminosäurerest nimmt, zumindest im Kristall, die *axiale* Position ein (Allyl-1,2-Spannung^[13]). Im Gegensatz dazu war bei der ursprünglichen Konfigurationsbestimmung anhand des Circular dichroismus(CD)-Spektrums eine äquatoriale Stellung dieser Gruppe vorausgesetzt worden^[1].

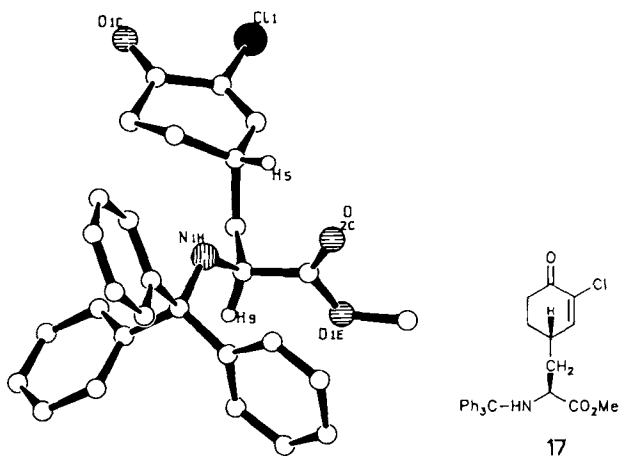


Abb. 1. Struktur von **17** im Kristall (SCHAKAL-Darstellung)[12].

Die höhere Stabilität des Chlorotetains **2** gegenüber seinem Epimer **1** läßt sich zwanglos erklären. Während die Cyclisierung von **1** zu einem Octahydroindol mit *exo*-Carboxysubstituenten führt, wird die gleiche Reaktion ausgehend von **2** durch Bildung eines Produktes mit *endo*-Carboxyrest erschwert.

Eingegangen am 13. Juni,
veränderte Fassung am 23. September 1991 [Z 4703]

- [1] a) C. Rapp, G. Jung, W. Katzer, W. Loeffler, *Angew. Chem.* **100** (1988) 1801; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27** (1988) 1733; b) G. Jung, W. Loeffler, C. Rapp, W. Katzer, F. Petersen, DE-A 3834662 (1990).
- [2] J. E. Walker, E.-P. Abraham, *Biochem. J.* **118** (1970) 563.
- [3] a) R. W. Rickards, J. L. Rodwell, K. J. Schmalzl, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 849; b) B. C. Laguzza, B. Ganem, *Tetrahedron Lett.* **22** (1981) 1483; c) M. Souchet, M. Baillarge, F. LeGoffic, *ibid.* **29** (1988) 191; d) M. J. Crossley, T. W. Hambley, A. W. Stamford, *Aust. J. Chem.* **43** (1990) 1827.
- [4] U. Schöllkopf, D. Pettig, E. Schulze, M. Klinge, E. Egert, B. Benecke, M. Noltemeyer, *Angew. Chem.* **100** (1988) 1238; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27** (1988) 1194.
- [5] A. J. Birch, *J. Proc. R. Soc. N.S.W.* **83** (1949) 245.
- [6] R. Shirai, M. Tanaka, K. Koga, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 543.
- [7] C. M. Cain, R. P. C. Cousins, G. Coumarides, M. S. Simpkins, *Tetrahedron* **46** (1990) 523.
- [8] R. L. Danheiser, R. F. Miller, R. G. Brisbois, S. Z. Park, *J. Org. Chem.* **55** (1990) 1959.
- [9] D. J. Buckley, M. A. McKerver, *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1985**, 2193.
- [10] J.-L. Luche, L. Rodriguez-Hahn, P. Crabbe, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 601.
- [11] Alle neuen Verbindungen lieferten zufriedenstellende spektroskopische und massenspektrometrische Daten. Ausgewählte physikalische Daten: **14** $R_f = 0.32$ (Ether); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.38$ (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.70–1.85 (m, 2H), 2.05–2.20 (m, 2H), 2.55 (dd, $J = 11$ und 5 Hz, 1H), 2.62–2.78 (m, 2H), 3.58 (s, 3H), 4.13 (quint., $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.74 (td, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.92 (br, 1NH), 6.72 (d, $J = 8$ Hz, 1NH), 7.17 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H). **16**: $R_f = 0.40$ (Ether); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.38$ (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.65–2.05 (m, 3H), 2.30–2.45 (m, 1H), 2.51 (dd, $J = 13$ und 4 Hz, 1H), 2.62–2.78 (m, 2H), 3.56 (s, 3H), 4.12 (quint.,

$J = 6.5$ Hz, 1H), 4.75 (td, $J = 8$ und 4 Hz, 1H), 4.92 (br, 1NH), 6.68 (d, $J = 8$ Hz, 1NH), 6.93 (d, $J = 3$ Hz, 1H).

- [12] Kristallstrukturanalyse von **17**: Raumgruppe $P2_12_12_1$ (Nr. 19); $a = 1010.9(4)$, $b = 1843.9(4)$, $c = 1335.2(3)$ pm, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.265$ g cm $^{-3}$. Diffraktometer Enraf-Nonius-CAD4, Raumtemperatur, CuK_α -Strahlung, 2585 unabhängige Reflexe, empirische Absorptionskorrektur, Lösung mit direkten und Differenz-Fourier-Methoden. Verfeinerung: anisotrope Temperaturfaktoren (Nichtwasserstoffatome), isotrope Temperaturfaktoren (Wasserstoffatome), R (1887 Reflexe, 420 Parameter) = 0.041. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, W-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-55831, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

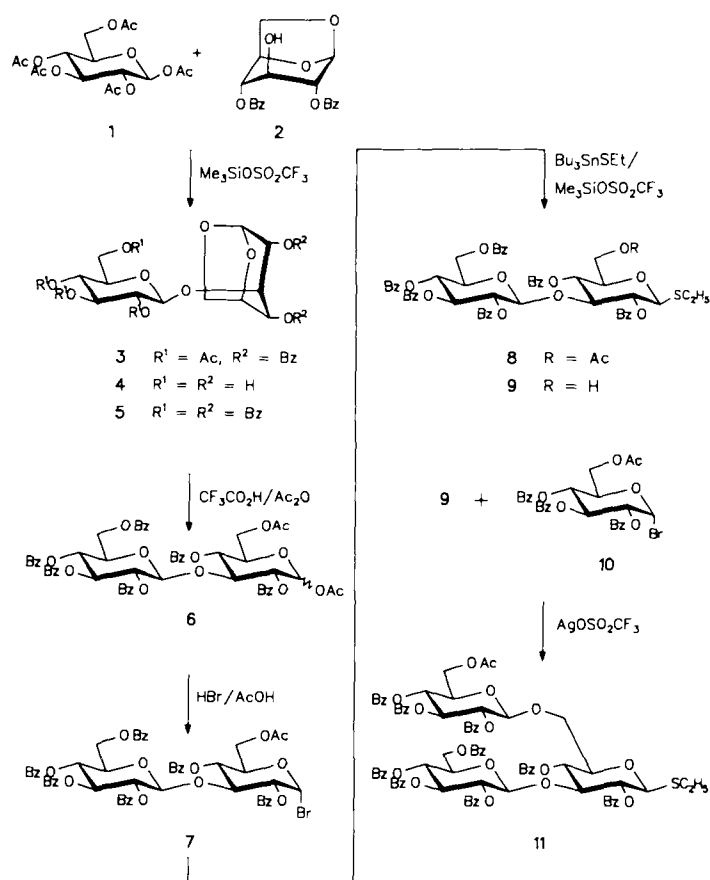
- [13] a) S. K. Malhotra, D. G. Moakley, F. Johnson, *Chem. Commun.* **1967**, 448; b) F. Johnson, *Chem. Rev.* **68** (1968) 375.

Synthese eines elicitoraktiven Heptaglucansaccharides zur Untersuchung pflanzlicher Abwehrmechanismen

Von Jens Peter Lorentzen*, Barbara Helpap
und Oskar Lockhoff

Professor Karl Heinz Büchel zum 60. Geburtstag gewidmet

Elicitoren sind Substanzen, die durch die Aktivierung der Phytoalexin-Biosynthese die pflanzliche Abwehrreaktion induzieren. Im Wirt-Parasit-System Sojabohne/*Phytophthora megasperma* ist das Heptasaccharid **19** die kleinste stark eli-



Schema 1. Synthese des Trisaccharid-Thioglycosiddonors **11**. Ac = CH_3CO , Bz = $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$.

[*] Dr. J. P. Lorentzen, Dr. B. Helpap, Dr. O. Lockhoff
Bayer AG
ZF-FWI, Gebäude Q18/6
Bayerwerk, W-5090 Leverkusen