

tausch aus chemisch synthetisiertem Dilithiumsalz) [12, 13] gelöst. Der Ansatz wurde mit 0.083 U ($1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol min}^{-1}$) der Dehydratase (1.45 mL Rohextrakt aus *E. coli* B, [8]) versetzt, mit destilliertem Wasser auf 10 mL aufgefüllt und bei 37 °C unter stetem Schütteln inkubiert. Nach 2 d konnte im DC (2-Propanol/Ethanol/Wasser = 5:3:2, 5% HOAc, 2% Triethylamin; Produkt $R_F = 0.4$, Edukt $R_F = 0.3$, dTMP $R_F = 0.5$, dTDP $R_F = 0.2$) keine weitere Produktbildung mehr detektiert werden. Der Ansatz wurde 30 s im siedenden Wasserbad denaturiert, auf ca. 3 mL gefriergetrocknet und an Sephadex G-10 (2 × 160 cm; 1 mL min $^{-1}$) vorfraktioniert. Die Nucleotidzucker enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt, durch Ionenaustauschchromatographie (Dowex 1 × 2, Cl $^-$ -Form, 5 × 18 cm) gereinigt (800 mL linearer Gradient 0–0.8 M LiCl) und eingeengt. Entsalzung an Sephadex G-10 und anschließendes Lyophilisieren lieferten die Dilithiumsalze der Produkte als weiße Schäume. Ausb. 2 und 3 (ca. 3:2 gemäß $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum): 26 mg (54%); Ausb. 5: 20 mg (41%); Ausb. 7: 23 mg (24%).

2: In einem 2-mL-Eppendorf-Reaktionsgefäß wurden 41 mg (60 μmol) dTDP-Glucose-Dinatriumsalz (Sigma) in 2 mL Tris/HCl-Puffer pH 7.5 (50 mM) gelöst, mit 1 U rekombinanter dTDP-d-Glucose-4,5-Dehydratase (65 μL Rohextrakt, 9.5 mg mL $^{-1}$ Protein) versetzt und bei 37 °C inkubiert. Nach vollständigem Umsatz (ca. 2 h) wurde der Ansatz 2 min bei 95 °C denaturiert, 2 min bei 12400 × g zentrifugiert und durch eine 0.45-μm-Membran filtriert. Die Auf trennung erfolgte durch préparative HPLC (Hypersil ODS-10 μ , 2 × 25 cm, Macherey Nagel, Düren, 0.04 M NH₄CO₃-Lösung (pH 3), 0.0038% (v/v) Octylamin, 1% (v/v) Methanol, isokratisch, Fließgeschwindigkeit 20 mL min $^{-1}$, Detektion 260 nm). Die produktartigen Fraktionen wurden vereinigt und nach Verdünnen mit bdestilliertem Wasser mit 250 mL min $^{-1}$ auf ein Membran-Anionenaustauschermodul (KN107Q, Sartorius, Göttingen) gepumpt, die Salze des HPLC-Laufmittels mit 5 mM NaCl-Lösung entfernt und 2 mit 150 mM NaCl-Lösung eluiert. Im Vakuum wurde bei 30 °C auf 10 mL eingeengt, an Sephadex G-10 (2.6 × 93 cm, Fließgeschwindigkeit 1 mL min $^{-1}$) entsalzt und nach Lyophilisation das Dinatriumsalz des Produkts als voluminöser weißer Feststoff erhalten. Ausb.: 24 mg (70%). Selbst Spuren von 3 ließen sich in diesem Ansatz nicht nachweisen.

Eingegangen am 17. März 1995 [Z 7806]

Stichworte: Biotechnologie · Chromatographie · Dehydrataseren · Desoxyzucker · Enzyme

- [1] S. F. Lo, V. P. Miller, Y. Lei, J. S. Thorson, H.-W. Liu, J. L. Schottel, *J. Bacteriol.* **1994**, 176(2), 460–468.
- [2] S. Chang, B. Duerr, G. Serif, *J. Biol. Chem.* **1988**, 263(4), 1693–1697.
- [3] B. W. Jarvis, C. R. Hutchinson, *Arch. Biochem. Biophys.* **1994**, 308(1), 175–181.
- [4] C. E. Snipes, C. J. Chang, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 701–706.
- [5] C. E. Snipes, G. U. Brüllinger, L. Sellers, L. Mascaro, H. G. Floss, *J. Biol. Chem.* **1977**, 252, 8113–8117.
- [6] K. Marumo, L. Lindqvist, N. Verma, A. Weintraub, P. R. Reeves, A. A. Lindberg, *Eur. J. Biochem.* **1992**, 204, 539–545.
- [7] L. Lindqvist, K. H. Schweda, P. R. Reeves, A. A. Lindberg, *Eur. J. Biochem.* **1994**, 225, 863–872.
- [8] R. D. Bevill in *Methoden der enzymatischen Analyse* (Hrsg.: H. U. Bergmeyer), VCH, Weinheim, 1974, S. 2268–2269.
- [9] R. Okazaki, T. Okazaki, J. L. Strominger, A. M. Michelson, *J. Biol. Chem.* **1962**, 237, 3014–3026.
- [10] T. Y. Aw, D. P. Jones, *Anal. Biochem.* **1982**, 127, 32–36.
- [11] H. P. Wahl, H. Grisebach, *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, 568, 243–252.
- [12] J. G. Moffatt, *Methods Enzymol.* **1966**, 136–142.
- [13] B. Leon, S. Liemann, W. Klaffke, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, 12, 597–610; A. Naundorf, S. Liemann, W. Klaffke, *Synthesis of Deoxy Sugar Phosphates*, Eurocarb VII, Krakau, 1993, Abstr. C004.

Totalsynthese von (\pm)-Dynemicin A **

Matthew D. Shair*, Tae-young Yoon und
Samuel J. Danishefsky

Dynemicin A **1** (Schema 1), ein Stoffwechselprodukt von *Micromonospora chersina*, das DNA zu spalten vermag und in vitro Antitumoraktivität zeigt, hat unter Chemikern erhebliche Begeisterung hervorgerufen^[1]. Obwohl es schwer zugänglich und schwer formulierbar ist und geringe biologische Spezifität aufweist und deshalb kaum je als Arzneimittel zu nutzen sein wird, ist das Interesse an Dynemicin wegen seiner faszinierenden Struktur ungebrochen. Fragen zum Mechanismus seiner Bioaktivierung^[2], die Suche nach einfachen Analoga, die das zentrale Strukturmerkmal des Dynemicins enthalten^[3], und die Bemühungen aufzuklären, wie der Wirkstoff durch das DNA-Zielmolekül erkannt wird, befruchten auch weiterhin die Forschung^[4].

Die Totalsynthese ist keine geringere Herausforderung. We sentliche Fortschritte auf diesem Gebiet wurden von Schreiber et al. gemacht. Ihnen gelang erstmals die Synthese einfacher Modellverbindungen des Dynemicins, denen das Anthrachinon-Segment fehlt^[5a]. Diese Bemühungen gipfelten schließlich in der bemerkenswerten Synthese von geschützten Derivaten des Dynemicins^[5b]. Selbst angesichts dieser Erfolge wurde nicht aufgegeben, neue Synthesewege zu Dynemicin zu erforschen. Dynemicin mit all seinen außergewöhnlichen strukturellen Details zu synthetisieren, war nach wie vor ein lohnendes Ziel.

Unsere anfänglichen Bemühungen richteten sich auf die Erprobung einiger neuer Ansätze, über die eine Totalsynthese verwirklicht werden könnte. Wir zeigten, daß die *cis*-Orientierung zwischen den C-4- und C-7-Substituenten (Dynemicin-Nummerierung) in Dynemicin-Vorstufen über eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion erzielt werden kann (**2** → **3** → **4**) (Schema 1)^[6]. Wir entwickelten ein Verfahren, die C5-C6-Doppelbindung zu funktionalisieren, das nicht nur die Fortführung der Synthese, sondern auch die korrekte Konfiguration von C-2 und C-7 gewährleistet (**4** → **5** → **6**, Schema 1)^[6, 7]. Ein neuerer Reaktionstyp, die Palladium-induzierte Kreuzkupplung von Diiodalkinen mit einem (Z)-Distannylethenen (**6** + **7** → **8**) wurde angewendet, um die Endiin-Brücke aufzubauen (Schema 2)^[7]. Schließlich lernten wir, wie die β -Ketosäure-Enoether-Einheit an C-5 und C-6 eingeführt werden kann (**8** → **9** → **10**)^[7].

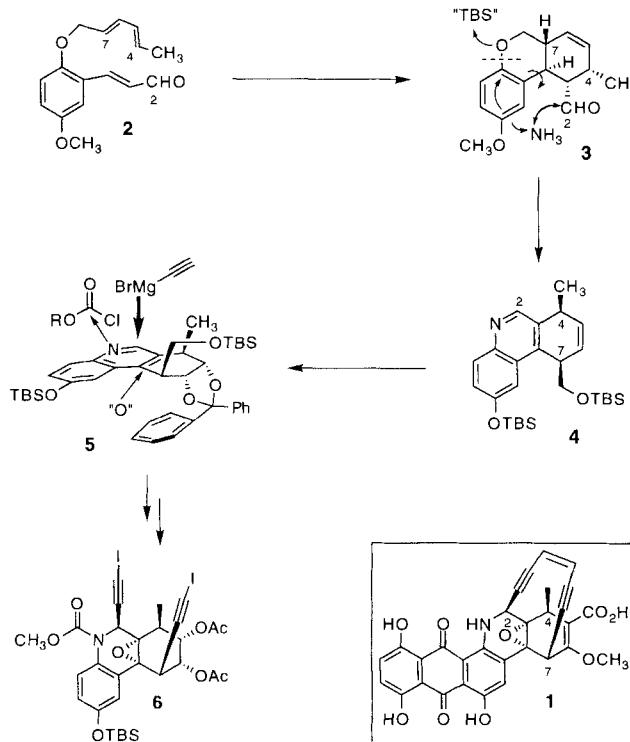
Nun war es an der Zeit, sich mit dem Aufbau der CDE-Trihydroxyanthrachinon-Einheit zu beschäftigen. Wir berichteten kürzlich über eine Methode, Chinonimine des Typs **11** (Schema 2) zu synthetisieren^[3a]. Diese Chinonimine gehen bereitwillig Cycloadditionen ein, die zum Aufbau der Anthrachinon-Einheit geeignet sind. Zeitgleich veröffentlichten Myers et al. die Synthese eines eng verwandten Chinonimins, wobei sie allerdings von ganz anderen Vorläufern ausgehen^[8]. Auch ihr Chinonimin reagiert in Cycloadditionen mit Dienen, die im Hinblick auf das „DE-Problem“ bedeutsam sind^[9]. In der Tat gelang Myers et al. in einer eindrucksvollen Arbeit die erste

[*] M. D. Shair, Prof. S. J. Danishefsky^[+], T. Yoon
Department of Chemistry, Havemeyer Hall
Columbia University, New York, NY 10027 (USA)
Telefax: Int. + 212/854-7142

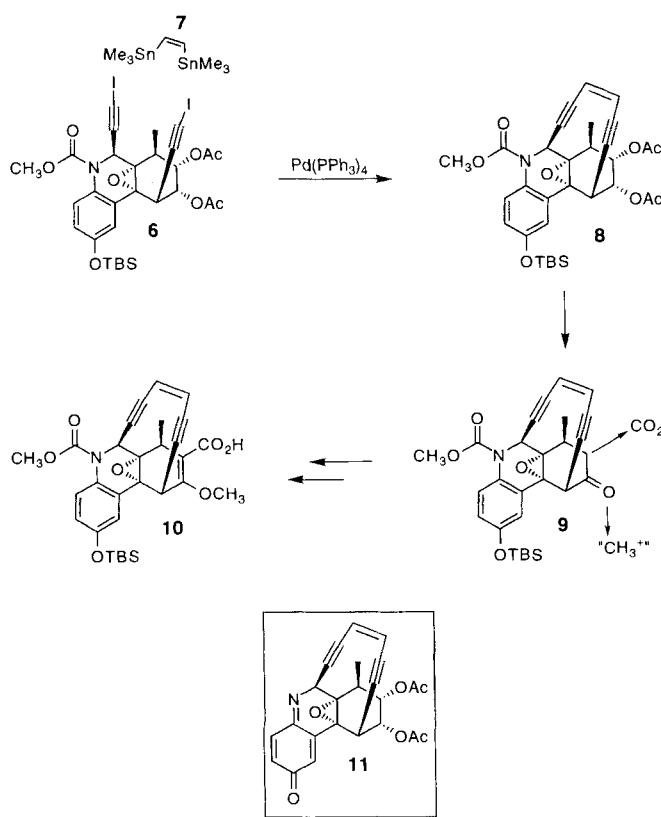
[+] Alternative Adresse:

Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
Laboratory for Bioorganic Chemistry
1275 York Avenue, Box 106, New York, NY 10021 (USA)
Telefax: Int. + 212/772-8691

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (Grant CA 28824) und vom Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (Stipendium für M.D.S.) gefördert. Wir danken Dr. I. J. Kim für die Darstellung des Arylboromids **17** und Dr. Dolatrai M. Vyas vom Bristol-Myers Squibb Pharmaceutical Research Institute für eine authentische Probe von Dynemicin A.



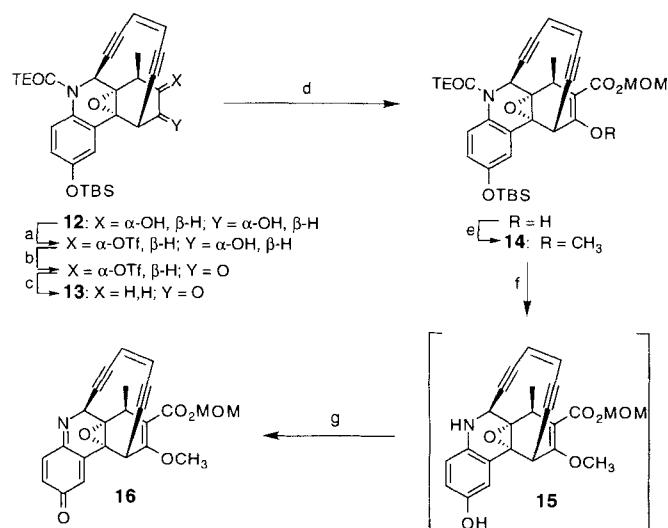
Schema 1. Synthese des Diiodalkins 6. TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl.



Schema 2. Synthese des Endiins 10.

Totalsynthese von Dynemicin A über die Diels-Alder-Reaktion eines Chinonimins mit einem geeigneten Isobenzofuran. Dieser Cycloaddition folgte am Ende ein oxidativer „Feinschliff“ des DE-Segmentes und die Freisetzung der C5-C6-Funktionalität^[19].

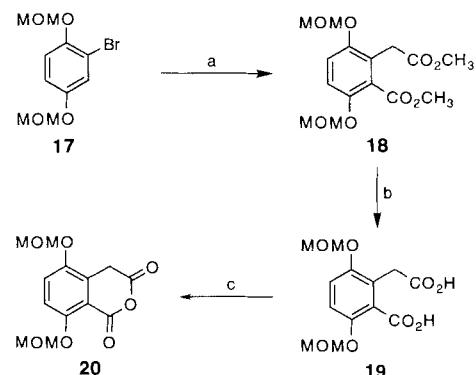
Wir beschreiben hier die Höhepunkte unserer eigenen Bemühungen, die zur Totalsynthese von Dynemicin A 1 führten, wobei wir eine ganz andere Anellierungsstrategie für die Umwandlung des Chinonimins 16 (Schema 3) in Dynemicin A anwendeten. Der Weg zum Aufbau des Anthrachinons ist recht kurz und sollte sich auch zur Synthese von Verwandten des Dynemicins oder von anderen Klassen von Anthracyclin-stämmigen Antitumorwirkstoffen anwenden lassen.



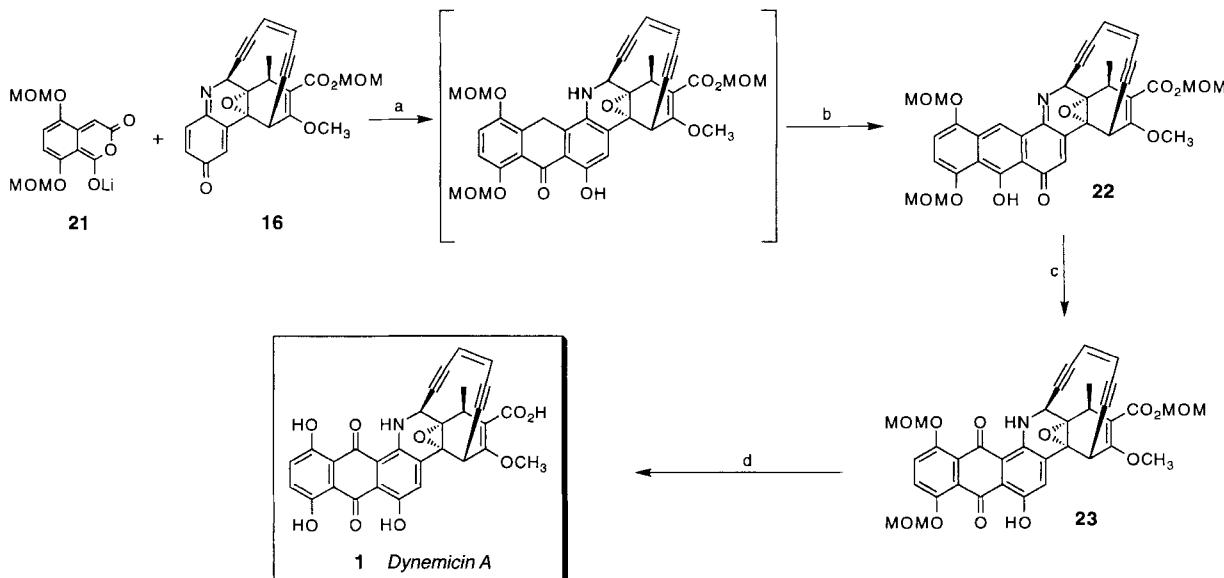
Schema 3. Synthese des Chinonimins 16: a) 1.8 Äquiv. Tf₂O, 40 Äquiv. C₅H₅N, CH₂Cl₂, -20 °C, 1 h, (95%); b) 3.0 Äquiv. Dess-Martin-Reagens, CH₂Cl₂, 25 °C, 2 h (91%); c) 7.0 Äquiv. CrCl₂, THF, 25 °C, 2 h (75%); d) 5.5 Äquiv. MgBr₂, 30.0 Äquiv. Et₃N, CO₂, CH₃CN, 25 °C, 2.5 h, dann 7.0 Äquiv. MOMCl, 50.0 Äquiv. iPr₂NEt, THF, 25 °C, 5 min (60%); e) Überschub CH₂N₂, MeOH, 0 °C, 1 h (70%); f) 5.0 Äquiv. TBAF, THF, 0 °C, 3.5 h; g) 5.0 Äquiv. PhI (OAc)₂, 0 °C, 0.5 h (60%). TEOC = Trimethylsilylethoxycarbonyl, TBAF = Tetra-n-butylammoniumfluorid.

Die Synthese begann mit Verbindung 12^[3a] (Schema 3), die über das Keton 13 in Verbindung 14 überführt wurde, in der die Kohlenstoffatome C-5 und C-6 in geeigneter Weise funktionalisiert sind^[7]. Durch die gleichzeitige Abspaltung der beiden Schutzgruppen TEOC und TBS wurde das sehr labile, nicht charakterisierte Tetrahydrochinolinol-Derivat 15 erzeugt, das direkt zu 16 oxidiert wurde^[10].

Die Synthese eines geschützten Homophthalsäureanhydrids 20, welches letztendlich das DE-Segment von Dynemicin A liefert, ist in Schema 4 gezeigt^[11]. Das doppelt MOM-ge-



Schema 4. Synthese des Homophthalsäureanhydrids 20: a) 1.2 Äquiv. CH₂(CO₂CH₃)₂, 2.4 Äquiv. LiTMP, THF, -78 °C, 30 min (71%); b) 20 Äquiv. KOH, H₂O, MeOH, Rückfluss, 3 h (91%); c) TMSC≡COEt, CH₂Cl₂, 25 °C, 2 h (100%). LiTMP = Lithiumtetramethylpiperidid.



Schema 5. Anthrachinon-Anellierungssequenz und Entschützen von 23 zu Dynemicin A: a) 5.0 Äquiv. 2,5-Bis(methoxymethyl)homophthalic anhydrid, 4.8 Äquiv. LHMDS, 0 °C, 1 h; b) 7.0 Äquiv. PhI(OOCF₃)₂, THF, 0 °C, 5 min; c) Luft, hohe Konzentration, 25 °C, Tageslicht, THF, 24 h; d) 15 Äquiv. MgBr₂, Et₂O, 0–25 °C, 36 h (15% Gesamtausbeute über 4 Stufen). LHMDS = Lithium-1,1,1,3,3-hexamethyldisilazan.

schützte Arylbromid **17** wurde mit der Lithiumverbindung des Malonsäuredimethylesters und Lithiumtetramethylpiperidid bei niedriger Temperatur umgesetzt. Es entstand sofort der Homophthalic anhydrid **18**, wahrscheinlich durch die Addition von Lithiumdimethylmalonat an das primär gebildete Arin, gefolgt von einer intramolekularen Carboxylierung des resultierenden Arylanions^[12]. Die Verseifung des Diesters **18** lieferte die Dicarbonsäure **19**, die mit TMS-Ethinylethylether in hoher Ausbeute zum gewünschten Anhydrid **20** dehydratisiert wurde^[13].

Nach viel Experimentieren fanden wir eine praktikable Anellierungssequenz (Schema 5)^[11]. Die Umsetzung von **16** mit dem Anion **21**, das sich vom doppelt MOM-geschützten Homophthalic anhydrid **20** ableitet, gefolgt von Oxidation mit Phenyliodoniumbis(trifluoracetat) lieferte eine Verbindung, die wir vorläufig als **22** formulieren^[14]. Die in Schema 5 gezeigte Zwischenstufe der Transformation von **16** in **22** sollte nur als Vorschlag betrachtet werden. Wenn eine hochkonzentrierte Lösung von **22** in THF unter Einwirkung von Sauerstoff dem Tageslicht ausgesetzt wird, erhält man ein violett-rotes Produkt, bei dem es sich wahrscheinlich um die geschützte Zielstruktur **23** handelt^[15]. Abspalten der Schutzgruppen von **23** lieferte Dynemicin A **1**. Das ¹H-NMR-Spektrum und das dünnenschichtchromatographische Laufverhalten der synthetischen Verbindung und einer authentischen Probe erwiesen sich als identisch. Die relative Konfiguration an C-4 ist unabhängig auf einer früheren Stufe kristallographisch bestimmt worden^[16]. Die Vergleiche mit dem authentischen Material, das nur in geringer Menge zur Verfügung stand, die Natur der Syntheseschritte und die Eigenschaften unseres Endprodukts beweisen zweifelsfrei, daß (\pm)-Dynemicin A **1** synthetisiert wurde. Versuche, die Ausbeuten der Anthrachinon-Anellierung zu erhöhen, werden zur Zeit durchgeführt. Angesichts der größeren Mengen an Dynemicin, die uns nun über die Synthese zur Verfügung stehen, wurden Untersuchungen zu einigen der eingangs erwähnten bioorganischen Probleme begonnen.

Eingegangen am 20. April 1995 [Z 7913]

Stichworte: Anthrachinone · Dynemicin A · Endiine · Totalsynthesen

- [1] a) M. Konishi, H. Ohkuma, T. Tsuno, T. Oki, G. D. VanDuyne, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3715, zit. Lit. b) Überblick über die Chemie und Biologie von Endiin-Antibiotika: K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem. 1991*, *103*, 1453; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387.
- [2] M. F. Semmelhack, J. Gallagher, D. Cohen, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1521.
- [3] a) M. D. Shair, T. Yoon, T.-C. Chou, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2578; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2477; b) K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, S.-C. Tsay, V. A. Estevez, W. Wrasillo, *Science* **1992**, *256*, 1387; c) P. A. Wender, C. K. Zercher, S. Beckham, E.-M. Haubold, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5867.
- [4] a) Y. Sugiyama, T. Shiraki, M. Konishi, T. Oki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 3831; b) D. R. Langley, T. W. Doyle, D. L. Beveridge, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4395; c) P. A. Wender, R. C. Kelly, S. Beckham, B. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 8835.
- [5] a) J. L. Wood, J. A. Porco, Jr., J. Taunton, A. Y. Lee, J. Clardy, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5898; b) J. Taunton, J. L. Wood, S. L. Schreiber, *ibid.* **1993**, *115*, 10378.
- [6] T. Yoon, M. D. Shair, S. J. Danishefsky, G. K. Schulte, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3752.
- [7] M. D. Shair, T. Yoon, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3755.
- [8] A. G. Myers, M. E. Fraley, N. J. Tom, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11556.
- [9] A. G. Myers, M. E. Fraley, N. J. Tom, S. B. Cohen, D. J. Madar, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 33.
- [10] Zur Verwendung der Trimethylsilylethoxycarbonyl(TEOC)-Gruppe zum Schutz von Aminfunktionen in empfindlichen Molekülen: a) S. A. Hitchcock, S. H. Boyer, M. Y. Chu-Moyer, S. H. Olson, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem. 1994*, *106*, 928; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 858; b) G. Kim, M. Y. Chu-Moyer, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 2003.
- [11] Anwendung einer baseninduzierten Cycloaddition zwischen Homophthalic anhydriden und Chinonen beim Aufbau polycyclischer Verbindungen: Y. Tamura, S. Sasho, K. Nakagawa, T. Tsugoshi, Y. Kita, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 473.
- [12] M. Guyot, D. Molho, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 3433.
- [13] Y. Kita, S. Akai, N. Ajimura, M. Yoshigi, T. Tsugoshi, H. Yasuda, Y. Tamura, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4150.
- [14] Das Produkt der Cycloaddition von **16** und **21** mag vor der Oxidation auch als Anthracenol vorliegen und nicht als Anthron, wie vorgeschlagen. Darüber hinaus könnte es sein, daß beim Ring C noch keine Aromatisierung stattgefunden hat. Die spektroskopischen Eigenschaften, die für das Produkt nach der In-situ-Oxidation beobachtet werden, passen jedoch gut zu **22**.
- [15] Zur Umwandlung von Anthracenolen in Anthrachinone in Anwesenheit von Sauerstoff im Grundzustand und Licht siehe: D. W. Cameron, P. E. Schultz, *J. Chem. Soc. C* **1967**, 2121; P. L. Julian, W. Cole, G. Diemer, *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 1721.