

- M. Bodenbinder, R. J. Batchelor, F. W. B. Einstein, F. Aubke, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 3521; M. Bodenbinder, G. Balzer-Jöllenbeck, H. Willner, R. J. Batchelor, F. W. B. Einstein, C. Wang, F. Aubke, *ibid.* **1996**, 35, 82.
- [21] G. W. Bethke, M. K. Wilson, *J. Chem. Phys.* **1957**, 26, 1118.
- [22] P. Selg, H.-H. Brintzinger, R. A. Andersen, I. Horváth, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 877; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 791.
- [23] Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter der Hinterlegungsnummer CSD-404624 angefordert werden.
- [24] a) G. M. Sheldrick: SHELXTL-Plus, Rel. 5.03, Siemens Analytical X-ray Instruments, Madison, WI, USA, **1995**; b) C. K. Johnson: ORTEP II: a Fortran Thermal-Ellipsoid Plot Program for Crystal Structure Illustrations, ORNL-5138, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, USA, März 1976.
- [25] Nach dem Einreichen dieser Arbeit haben wir von Prof. G. Thiele, Universität Freiburg, erfahren, daß in seiner Gruppe kristallographische Daten von Einkristallen aus solvatisiertem (Benzol oder Chloroform) $[Pd_6Cl_{12}]$, bei Raumtemperatur aus den entsprechenden Lösungen erhalten, ermittelt worden sind. Ihre und unsere Datensätze stimmen zufriedenstellend überein. Wir danken Prof. G. Thiele für die Überlassung der Ergebnisse vor der Veröffentlichung.

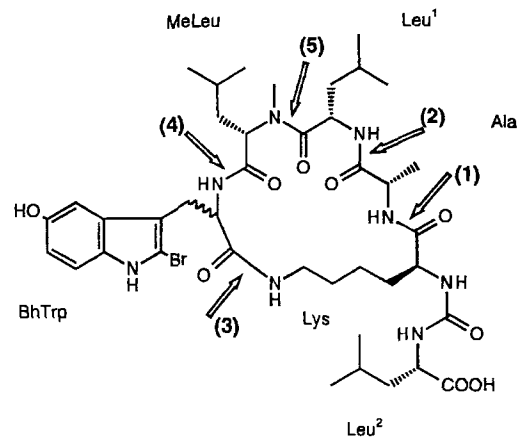
Welche Struktur hat der Calmodulin-Antagonist Konbamid aus *Theonella* sp.? – Synthese zweier Isomere durch direkte biomimetische Einführung von Brom in hydroxytryptophanhaltige Cyclopeptide**

Ulrich Schmidt* und Steffen Weinbrenner

Zahlreiche Meerestiere und Pflanzen speichern Halogene. Ihre peptidischen Inhaltsstoffe enthalten häufig halogeniertes Tyrosin^[1] oder Tryptophan. So ist in den aus Algen isolierten Naturstoffen Clionamid^[2] und Celenamid^[3] die nicht-ribosomale Aminosäure 6-Bromtryptophan eingebaut. Der cyclische Naturstoff Jaspamid^[4] enthält 2-Brom-*N*-methyltryptophan als Ringbaustein. 2-Brom-5-hydroxytryptophan ist ein Bestandteil der aus dem Meeresschwamm *Theonella* isolierten Cyclopeptide Konbamid^[5], Orbiculamid A^[6] und Keramid B-D^[7] und wurde von uns durch direkte Bromierung von Hydroxytryptophanderivaten gebildet^[8]. Die Aminosäure selbst und ihre *N*-Acylverbindungen sind instabil und können deshalb nicht zum Aufbau der Naturstoffe eingesetzt werden.

Bei der Biosynthese von bromhaltigen Peptiden ist die Bromierung des Peptids in letzter Stufe diskutierbar, wobei sogar eine elektrophile, nichtenzymatische Substitution durch Brom denkbar scheint – letzteres oxidativ aus Bromid gebildet, vielleicht aus symbiotischen Algen. Wir beschreiben im folgenden unsere Versuche, Konbamid biomimetisch durch elektrophile Bromierung eines vorgebildeten Cyclopeptids zu synthetisieren. Strukturelle Besonderheiten von Konbamid (Schema 1), welche die Synthese erschweren, sind das empfindliche 2-Brom-5-hydroxytryptophan, Lysin mit der ϵ -Aminogruppe als Ringglied und die Harnstoffseitenkette.

Für den Ringschluß boten sich intramolekulare Acylierungen am Alanin- (Position 1) oder Leucin-Stickstoffatom (Position 2) an. Beide Positionen scheinen ungehindert, und aktivier-



Schema 1. Postulierte Konbamid-Struktur mit Markierungen für Retrosynthese-Überlegungen.

tes Alanin bzw. Lysin sind ziemlich konfigurationsstabil. Nach unseren Erfahrungen bei der Synthese von Glidobaktin^[9] ist der Ringschluß an der ϵ -Aminogruppe von Lysin (Position 3) nicht vielversprechend. Ringschlußversuche am Hydroxytryptophan (Position 4) und *N*-Methyleucin-Stickstoffatom (Position 5) wurden wegen der Schwierigkeit der Acylierung an sekundären Stickstoffzentren und der leichten Racemisierung von aktiviertem *N*-Methyleucin ausgeschlossen.

Das lineare Pentapeptid **5** für den Ringschluß am Alaninstickstoffatom wurde auf übersichtlichem Weg aus **2** und **4** gewonnen (Schema 2). Alle Schutzgruppen müssen von jetzt ab kompatibel mit dem nach dem Ringschluß zu bildenden 2-Brom-5-hydroxytryptophan sein. Zum Schutz der phenolischen OH-Gruppe wählten wir den schon beim Aufbau von 2-Brom-5-hydroxytryptophan bewährten Pivalylester. Er verhindert die 4- und 6-Substitution am Hydroxytryptophan bei der Bromierung, bleibt bei der Hydrolyse des Methylrestes **6** erhalten und läßt sich ohne Zerstörung des empfindlichen Tryptophanderivats aus **11** abspalten.

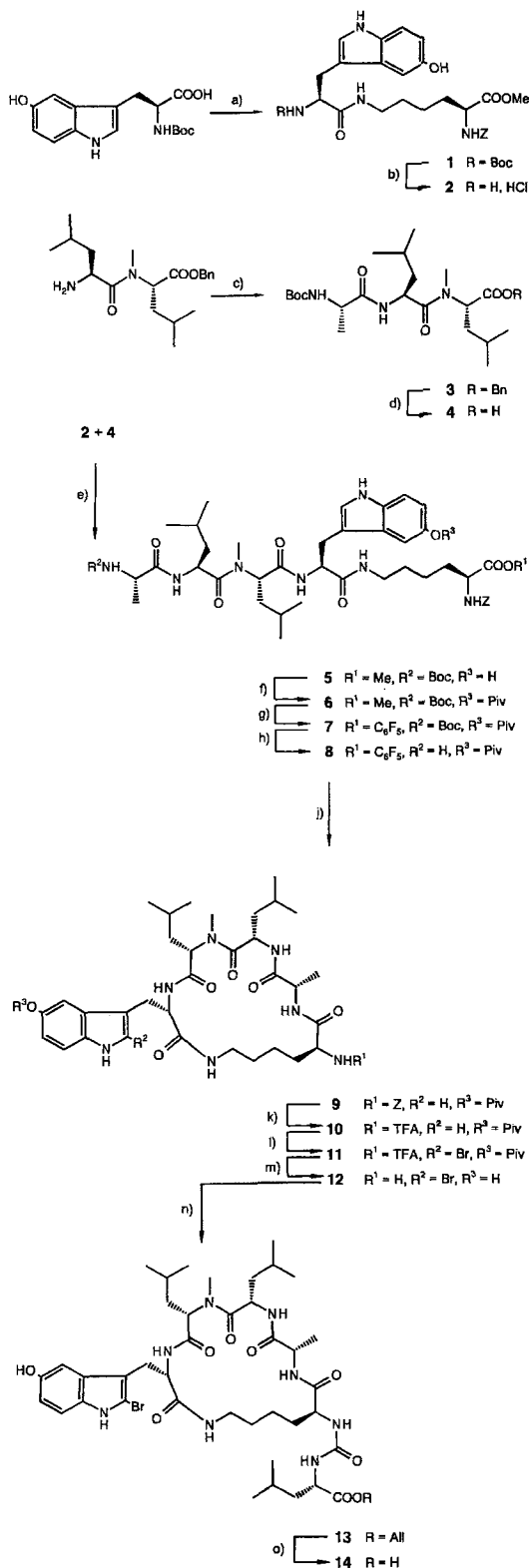
Der Ringschluß zu **9** wurde nach der von uns entwickelten Pentafluorphenyl(PFP)-Estermethode mit **8** an Position 1 im zweiphasigen System in 63% Ausbeute erreicht. Der entsprechende Ringschluß am Leucinstickstoffatom verlief mit 60% Ausbeute. Ein Ringschluß ohne Schutz der phenolischen OH-Gruppe ließ sich zwar auf dieselbe Weise realisieren, verlief aber nur mit einer Ausbeute von 30%. Tausch der Z-Schutzgruppe gegen die Trifluoracetyl(TFA)-Schutzgruppe lieferte das Substrat **10** für die Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid(NBS) ohne Radikalstarter oder Licht in glatter Reaktion. Aus dem resultierenden Bromid **11** wurden TFA- und Pivaloylschutzgruppen durch vorsichtige alkalische Hydrolyse zu **12** entfernt. Mit (*S*)-2-Isocyanato-4-methylpentansäureallylester^[10] (aus Leucin) wurde die Harnstoffseitenkette gebildet. Anschließend wurde der Allylester **13** mit $Pd^{0[11]}$ zur Säure **14** gespalten.

Das Syntheseprodukt wies jedoch im HPLC-Vergleich mit dem Naturstoff^[12] geringe Abweichungen auf. Ebenso stimmten die Drehwerte und die NMR-Spektren von Syntheseprodukt und Naturstoff nicht überein. Vor allem im Bereich der α -H- und NH-Signale waren deutliche Differenzen festzustellen (Tabelle 1). Die Massenspektren dagegen waren identisch^[13].

Es lag daher nahe, bei Naturstoff und Syntheseprodukt Diastereomere zu vermuten. Bei der Aufklärung des Naturstoffs durch 2D-NMR-Untersuchungen, FAB-MS-Analytik und Totalhydrolyse haben die japanischen Autoren die Konfiguration der Aminosäuren nach der Hydrolyse durch GC und HPLC an chiralen Phasen als **L** bestimmt. Bromhydroxytryptophan zer-

[*] Prof. Dr. U. Schmidt, Dr. S. Weinbrenner
Institut für Organische Chemie und Isotopenforschung der Universität
Pfaffenwaldring 55, D-70569 Stuttgart
Telefax: Int. + 711/685-4321

[**] Über Aminosäuren und Peptide, 101. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. – 100. Mitteilung: U. Schmidt, C. Braun, H. Sutoris, *Synthesis* **1996**, 223.



Schema 2. Synthese von "Konbamid" 14. a) THF, Z(H, HCl)-(S)-Lys-OMe, Bop-Cl, Hünig-Base, 0 °C, 16 h, 80%; b) HCl, Dioxan, Raumtemperatur (RT), 2 h; c) CH₂Cl₂, Boc-(S)-Ala-OH, TBTU, Hünig-Base, 0 °C, 3 h, 88%; d) MeOH, Pd/C/H₂, RT, 3 h, 98%; e) DMF, Diphenylphosphoryl azid (DPPA), -20 °C, 48 h, 86%; f) CH₂Cl₂, PivOCi, Et₃N, RT, 3 h, 97%; g) Dioxan, H₂O, NaOH, RT, 97%; h) CH₂Cl₂, 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC), PFP, -20 °C → RT, 16 h; i) HCl, Dioxan, RT, 2 h; j) CHCl₃, NaHCO₃, RT, 5 h; k) MeOH, Pd/C/H₂, RT, 16 h; l) THF, TFA-Anhydrid, RT, 16 h, 93%; m) CH₂Cl₂, NBS, RT, 30 min, 75%; n) MeOH, H₂O, NaOH, RT, 24 h; o) THF, (S)-2-Isocyanato-4-methylpentansäureallylester, RT, 24 h; m)–n): 40%; o) THF, [Pd(PPh₃)₄], RT, 5 h; 75%.

Tabelle 1. Vergleich von charakteristischen NMR-Daten von natürlichem Konbamid [5] und 14.

14	Konbamid	Zuordnung [5]
4.01–4.08 (m, 1 H)	3.93 (m, 1 H)	Lys-α-NH
4.10–4.18 (m, 1 H)	4.03 (dd, <i>J</i> = 9.0, 5.0 Hz, 1 H)	Leu ² -α-H
4.28–4.30 (m, 1 H)	4.18 (m, 1 H)	Ala-α-H
4.61–4.65 (m, 1 H)	4.61 (ddd, <i>J</i> = 11.3, 9.0, 3.5 Hz, 1 H)	BhTrp-α-H
4.71–4.78 (m, 2 H)	4.72 (m, 2 H)	Leu ¹ -αH, MeLeu-α-H
6.20 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1 H)	6.26 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1 H)	Leu ² -NH
6.33 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1 H)	6.42 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1 H)	Lys-α-NH
7.41 (d, br., 1 H)	7.44 (dd, <i>J</i> = 7.8, 3.3 Hz, 1 H)	Lys-ε-NH
8.26 (d, <i>J</i> = 5.6 Hz, 1 H)	6.99 (d, <i>J</i> = 5.7 Hz, 1 H)	Ala-NH
8.43 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1 H)	8.29 (d, <i>J</i> = 9.0 Hz, 1 H)	BhTrp-NH
8.84 (d, <i>J</i> = 5.9 Hz, 1 H)	8.74 (d, <i>J</i> = 6.2 Hz, 1 H)	Leu ¹ -NH

setzt sich beim Abbau, und seine Konfiguration wurde infolgedessen offen gelassen.

Auch die Aminosäuren aus der Hydrolyse des Syntheseprodukts erwiesen sich als L. Um als Ursache für den Unterschied zwischen Syntheseprodukt und Naturstoff eventuell unterschiedliche Konfigurationen am Bromhydroxytryptophan auszuschließen, haben wir auch das Diastereomer von 14 mit D-Bromhydroxytryptophan aufgebaut. Aber auch dieses Produkt zeigte im HPLC eine vom Naturstoff abweichende Retentionszeit. Der Strukturvorschlag für Konbamid kann somit nicht richtig sein.

Eingegangen am 21. Februar 1996 [Z 8844]

Stichworte: Konbamid • Naturstoffe • Peptide • Strukturaufklärung

- [1] W. R. Chan, W. F. Tinto, P. S. Mauchaud, L. J. Todaro, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 3091; N. K. Gulavita, A. E. Wright, P. J. McCarthy, S. A. Pomponi, M. Kelly-Borges, *J. Nat. Prod.* **1993**, 56, 1613.
- [2] Isolierung und Struktur: R. J. Andersen, R. J. Stonard, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 2325; Synthese: U. Schmidt, A. Lieberknecht, H. Griesser, H. Bökens, *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 4911.
- [3] Isolierung und Struktur: R. J. Andersen, R. J. Stonard, *Can. J. Chem.* **1980**, 58, 2121; Synthese: U. Schmidt, J. Wild, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 996; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, 23, 991.
- [4] Isolierung und Struktur: T. M. Zabriskey, J. A. Klocke, C. M. Ireland, A. H. Marens, T. F. Molinsky, D. J. Faulkner, C. Xu, J. C. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3123; P. Crews, L. V. Manes, M. Boehler, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 2797; Synthese: P. A. Grieco, Y. S. Hon, A. J. Perez-Medrano, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1630; K. S. Chu, G. R. Negrete, J. P. Konopelsky, *ibid.* **1991**, 113, 5196; R. Rao, M. K. Gujar, B. R. Nallagandu, A. Bhandari, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 7085.
- [5] J. Kobayashi, M. Sato, T. Murayama, M. Ishibashi, M. R. Wälchi, M. Kanai, J. Shoji, Y. Ohizumi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1050.
- [6] N. Fusetani, T. Sugawara, S. Matsunaga, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7811.
- [7] J. Kobayashi, F. Itagaki, H. Shigemori, M. Ishibashi, K. Takahashi, M. Ogura, S. Nagasawa, T. Nakamura, H. Hirota, T. Ohta, S. Nozoe, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7812.
- [8] U. Schmidt, S. Weinbrenner, *Synthesis* **1996**, 28.
- [9] U. Schmidt, A. Kleefeldt, R. Mangold, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1687.
- [10] Synthese analog zu der des Methylesters: J. S. Nowick, N. A. Powell, T. M. Nguyen, G. Noronha, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 7364.
- [11] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 49; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, 23, 71.
- [12] Wir danken Prof. J. Kobayashi für die Überlassung einer Probe des Naturstoffs.
- [13] Die Messungen wurden freundlicherweise von Dr. K. Eckart am Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin in Göttingen durchgeführt.