

Spongistatine, Cynachyrolide oder Altohyrtine? Marine Makrolide in der Krebsforschung

Jörg Pietruszka*

Isolierung und Strukturaufklärung

Marine Organismen haben sich in den letzten Jahrzehnten als wahre Fundgrube für neue Wirkstoffe erwiesen. Obwohl erst ein verschwindend kleiner Bruchteil aller Spezies marinen Ursprungs untersucht worden ist, konnten vielfältige Strukturen und Strukturelemente mit zum Teil faszinierenden physiologischen Eigenschaften isoliert werden.^[1, 2] Ein besonderes Interesse gilt cytotoxischen, antineoplastischen Verbindungen; dieses Forschungsgebiet wird, auch dank intensiver Anstrengungen des American National Cancer Institute (NCI), seit nunmehr über 30 Jahren mit großem Engagement und Erfolg systematisch untersucht.^[2] Vielversprechend sind hier vor allem auch die bioaktiven Makrolide.^[3]

1993 wurde erstmals von drei Forschergruppen über die Spongipyrene berichtet, eine neue Klasse äußerst cytotoxischer mariner Makrolide aus Meeresschwämmen (siehe Tabelle 1).^[4] Die Arbeiten wurden durch Bioassays angetrieben und führten zur Identifizierung und Strukturaufklärung der Spongistatine 1–9 (Pettit et al.^[4a, 5]) aus *Spongia* sp. und *Spirastrella spinispirulifera*, Cinachyrolid A (Fusetani et al.^[4b]) aus *Cinachyra* sp. und Altohyrtin A–C sowie 5-Desacetylaltohyrtin A (Kitagawa et al.^[4c, 6]) aus *Hyrtios altum* (Abb. 1). Die Leistung der Arbeitsgruppen ist um so bemerkenswerter, als nur geringste Mengen (0.5–13.8 mg) der extrem potenten, physiologisch aktiven Verbindungen für umfangreiche NMR-Experimente zur Verfügung standen, und zwar nach aufwendigen Extraktionen aus meist mehreren hundert Kilogramm Schwämmen nach vielfachen chromatographischen Reinigungen. Die enge Verwandtschaft aller Substanzen ist offensichtlich: Neben einem 42gliedrigen Makrolactonring (längste Kohlenstoffkette) treten als herausragende Struktureinheiten zwei Spiroketale (*AB*- und *CD*-Ringe) und ein Bis(tetrahydropyran)-Fragment (*EF*-Ringe) auf. Als Variante (Spongistatine 5, 7–9) kommt ein zusätzlicher Furanring (*G*-Ring) vor. Es fallen aber auch Unterschiede bei den Angaben der einzelnen Arbeitsgruppen auf: Die vorgeschlagenen relativen Konfigurationen der Spiroketaleinheiten (*AB/CD*), des *E*-Tetrahydropyranringes sowie

der stereogenen Zentren C14–C16 und C47 weichen voneinander ab. Die absoluten Konfigurationen wurden nur für die von Kitagawa et al. postulierten Strukturen der Altohyrtine bestimmt.^[6b,c] Der Verdacht lag nahe, daß sich die gefundenen Makrolide tatsächlich – abgesehen vom Substituenten an C50 (H, Cl, Br) – lediglich im Acetylierungsgrad voneinander unterscheiden. Erste Totalsynthesen von Evans et al. (Altohyrtin C)^[7] und Kishi et al. (Altohyrtin A)^[8] – beide von der Harvard University – konnten diesen Sachverhalt bestätigen. Nachfolgend sollen diese Synthesen sowie verschiedene Syntheseansätze der Arbeitsgruppen Heathcock,^[9] Paquette,^[10] Paterson^[11] und Smith^[12] vorgestellt werden.

Untersuchungen zur Synthese

Allen Synthesestrategien gemeinsam ist der Aufbau des Makrolactons durch eine spät durchgeführte intramolekulare Veresterung – in den beiden beschriebenen Fällen wurden Yamaguchi-Bedingungen (2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid, Trialkylamin, dann 4-Dimethylaminopyridin) verwendet – und eine vorgeschaltete Kupplung der „Nordhälfte“ **1** mit der „Südhälfte“ der Spongipyrene durch eine Wittig-Reaktion (C28-Aldehyd) zur Doppelbindung C28–C29 (Schema 1). Die Seitenkette (C44–C51) kann vor der Lactonisierung vollständig (Kishi et al.^[8b]), zum Teil (Smith et al.^[12a]) sowie Paterson et al.^[11b]) oder gar nicht (Evans et al.^[7c]) in der „Südhälfte“ eingebaut sein, wobei angesichts der unterschiedlichen Substituenten an C50 der verschiedenen Altohyrtine eine Einführung zu einem späten Zeitpunkt vorteilhaft erscheint. In beiden Totalsynthesen wurde sie über Allylstannane durch Ringöffnung eines Epoxypyran an das *EF*-Ringsystem angeknüpft. Die Strategie für die Bis(tetrahydropyran)-Einheit war ähnlich (die Kohlenstoffnumerierung der Synthesebausteine bezieht sich bereits auf die des Zielmoleküls): Nach getrennter Synthese des *E*- bzw. *F*-Ringes war jeweils die Kupplung eines an C37 lithiierten Bausteins an einen Aldehyd (C38) geplant. Evans et al. nutzten ein anomeres Sulfon (C37) als Carbanion-stabilisierende Gruppe, dagegen verwendeten Kishi et al. einen 1-Iodenoether. Für die „Nordhälfte“ wurden unterschiedliche Strategien gewählt: Während in der Arbeitsgruppe von Evans der Schlüsselschritt die Kupplung der Spiroketaleinheiten durch eine selektive Aldoladdition (C15-Aldehyd und (*E*)-Borenolat C16) war, führte die Arbeitsgruppe von Kishi die Knüpfung

[*] Dr. J. Pietruszka
Institut für Organische Chemie der Universität
Pfaffenwaldring 55, D-70569 Stuttgart
Fax: (+ 49) 711-685-4269
E-mail: joerg.pietruszka@po.uni-stuttgart.de

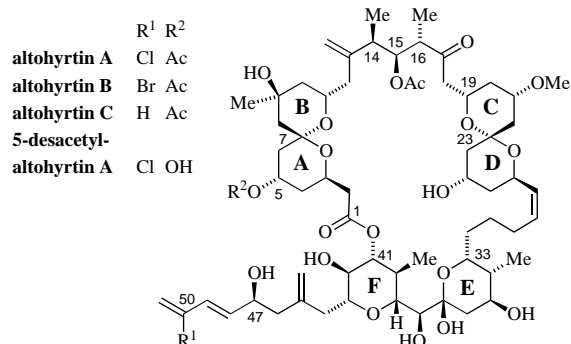
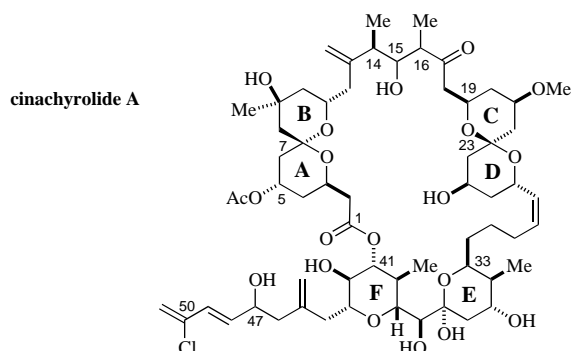
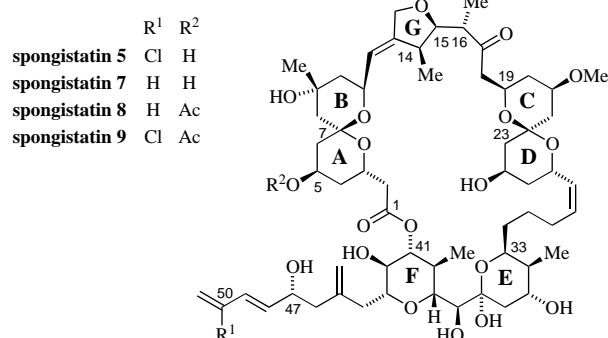
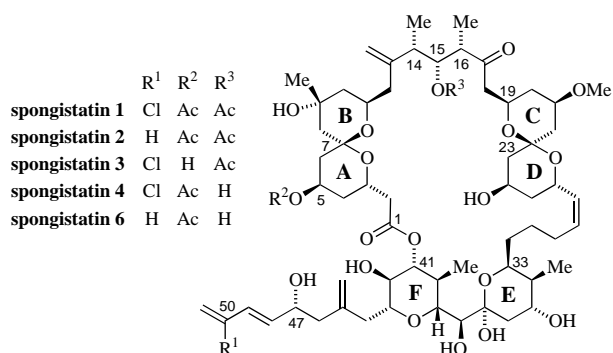
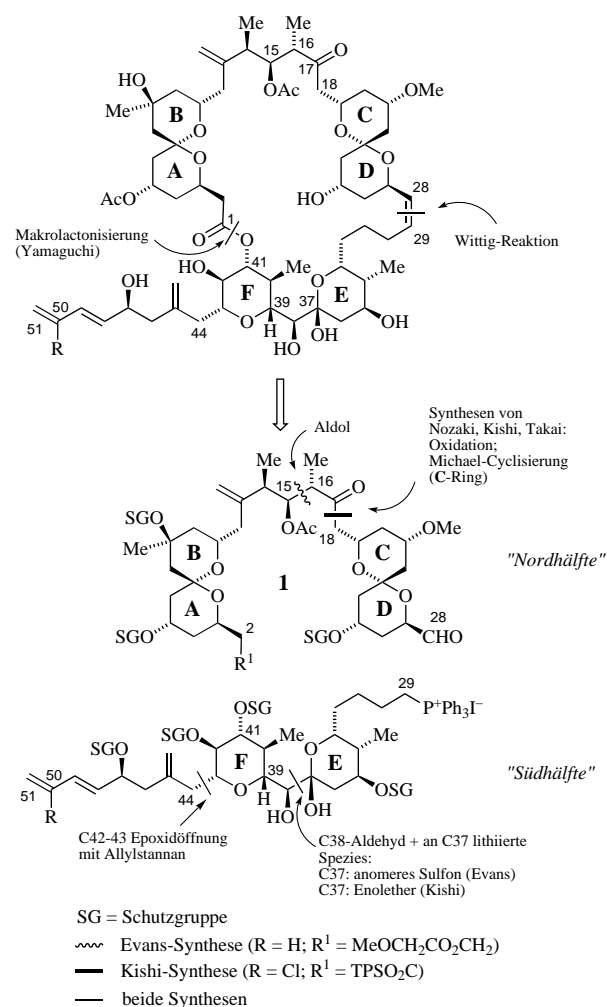


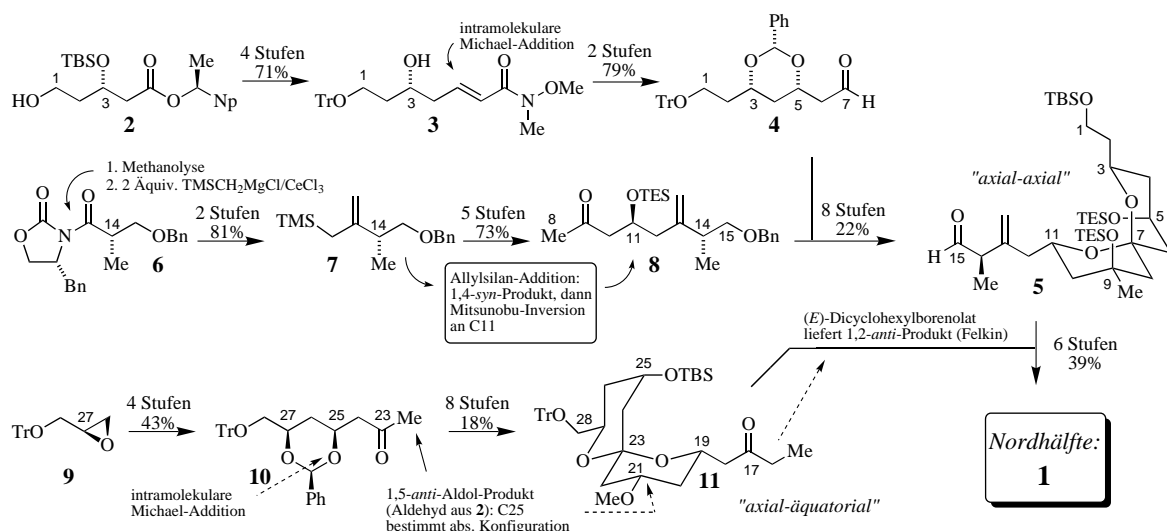
Abb. 1. Ursprünglich vorgeschlagene Strukturen der marinen Makrolide Spongistatin 1–9,^[4a, 5] Cinachyrolid A,^[4b] Altohyrtin A–C und 5-Desacetylaltohyrtin A.^[4c, 6]

zwischen C17 und C18 durch eine Ni²⁺/Cr²⁺-vermittelte Addition eines Vinylodids (C18) an einen Aldehyd (C17) durch. Nach Oxidation zum Keton (C17) wurde die Reaktionssequenz durch eine intramolekulare Hetero-Michael-Cyclisierung zum Aufbau des C-Ringes unter gleichzeitiger Bildung der CD-Spiroketaleinheit abgeschlossen.



Schema 1. Retrosyntheseschema für Altohyrtin A und C (TPS = *tert*-Butyldiphenylsilyl).

In Schema 2 ist die Synthese (Evans) der Spiroketale AB und CD bis zu deren Kupplung zu **1** skizziert. Ausgehend vom chiralen Baustein **2** – elegant zugänglich durch die selektive Öffnung des geschützten 3-Hydroxyglutarsäureanhydrids mit einem chiralen Alkohol (1-(2-Naphthyl)ethanol) – begann der konvergente Aufbau des Kohlenstoffgerüsts C1–C15. Durch Reduktion und Wittig-Reaktion wurde das Hydroxamsäurederivat **3** erhalten. Das neue stereogene Zentrum an C5 konnte anschließend durch eine hochdiastereoselektive, intramolekulare Michael-Addition (1,3-*syn*) eines Halbacetals (aus **3**, PhCHO, KO^tBu) an die α,β-ungesättigte Carbonylverbindung gebildet werden. Die Reduktion mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBALH) lieferte den Aldehyd **4** in sehr guter Gesamtausbeute. Der zweite Kupplungspartner (C8–C15) wurde aus dem Oxazolidinon **6** synthetisiert. Durch eine schöne Reaktionsfolge wird zunächst das Allylsilan **7** aufgebaut, das wiederum für die selektive 1,4-*syn*-Addition an einen geeignet geschützten Aldehyd verwendet wurde. Die richtige Konfiguration an C11 wurde durch Mitsunobu-Inversion erhalten. Die Aldoladdition eines aus dem Keton **8** erhaltenen Borenolats an den Aldehyd **4** lieferte das AB-Fragment in der offenkettigen Form. Nach Oxidation des erhaltenen Alkohols (C7) und saurer Freisetzung der



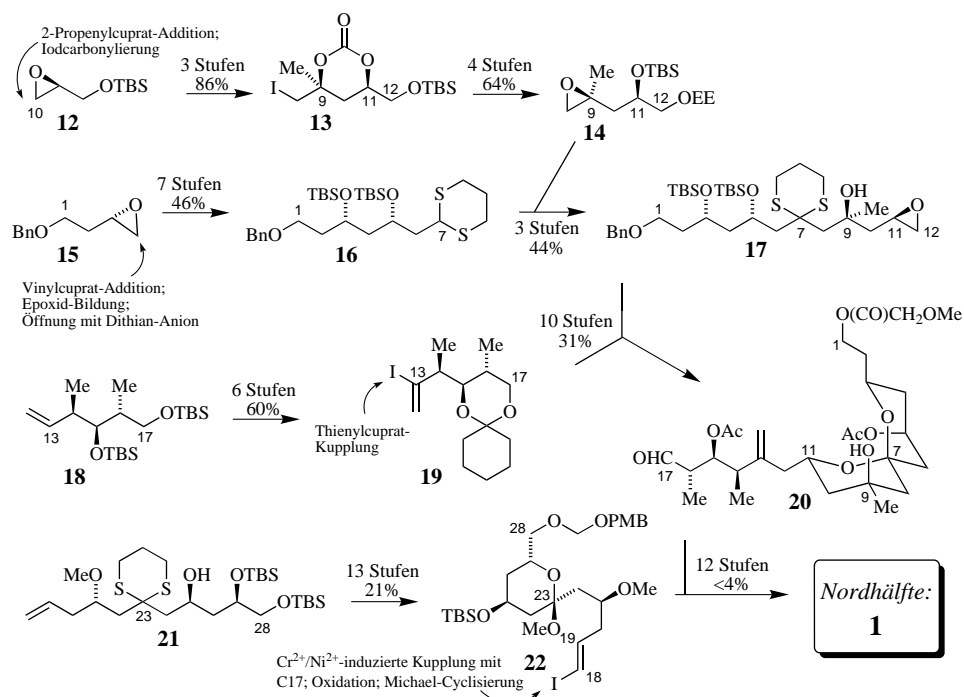
Schema 2. Synthese der „Nordhälfte“ von Althohyrtin C nach Evans et al.^[7a,c] (Bn = Benzyl, Np = 2-Naphthyl, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, TES = Triethylsilyl, TMS = Trimethylsilyl, Tr = Trityl = Triphenylmethyl).

Hydroxygruppen an C1, C3, C5 und C11 erfolgte die spontane Spiroketalisierung. Hier wurde das thermodynamisch begünstigte „axial-axial“-Anomer isoliert (anomere Stabilisierung; äquatoriale Substituenten an C3 und C11; die axiale Hydroxygruppe an C5 kann einen Beitrag zur Stabilisierung durch Wasserstoffbrückenbildung zum Ringsauerstoffatom liefern).

Erst zu diesem Zeitpunkt wurde das tertiäre Zentrum C9 aufgebaut, wobei der Angriff des Nucleophils (aus Methylthium/Certrichlorid) diastereoselektiv von der Unterseite erfolgte. Für das *CD*-Spiroketal wurden sehr ähnliche Bausteine und Konzepte verwendet. Schlüsselschritte waren auch hier die bewährte intramolekulare Michael-Addition (Kettenverlängerung des Epoxids **9**, dann 1,3-*syn*-Addition des Halbacetals an die α,β -ungesättigte Verbindung) und eine 1,5-*anti*-Aldoladdition des Ketons **10** an einen Aldehyd, der z. B. aus **2** durch Oxidation zugänglich ist. Die Konfiguration an C21 wird ausschließlich durch die Konfiguration an C25 bestimmt, die an C19 hat keinen Einfluß. Schwierigkeiten bereitete die Spiroketalisierung, denn hier wurde das axial-äquatoriale Produkt **11** benötigt. Nach Äquilibrierung mit $\text{Mg}(\text{O}_2\text{CCF}_3)_2$ in $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ konnte die gewünschte Spiroverbindung im Verhältnis 2.2:1 erhalten werden. Die Synthese der „Nordhälfte“ **1** wurde abgeschlossen durch eine selektive Aldol-Addition des aus **11** erhaltenen (*E*)-Dicyclohexylborenolats an das C1–C15-Fragment **5**. Geschickte

Schutzgruppen-Manipulationen ermöglichen unter anderem auch die Acetylierung der Hydroxygruppe an C5.

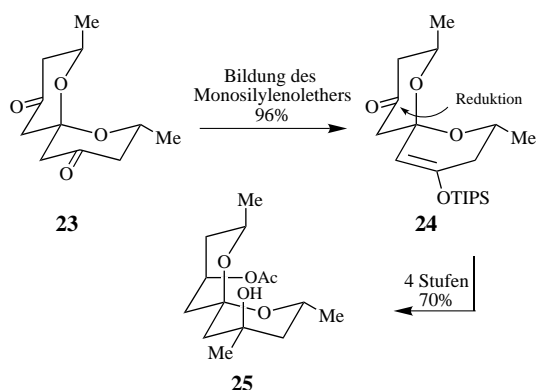
Die Arbeitsgruppe von Kishi ist einen anderen Weg gegangen (Schema 3): Ausgehend von den Epoxiden **12** und **15** wurde das Kohlenstoffgerüst C1–C12 durch wiederholte Dithiankupplung aufgebaut. Im zweiten Schritt wurde das Dithianaddukt **16** an das Epoxid **14** addiert. Hieraus wurde erneut ein Oxiran (**17**) hergestellt, das über eine Cupratkuppelung mit dem Vinylidiod **19** zum C1–C17 Gerüst führte. Auch hier verliefen die sich anschließenden Schutzgruppen-Manipulationen und die Spiroketalisierung (*N*-Iodosuccinimid-induzierte Dithianspaltung) zum *AB*-Spiroketal glatt. Abschlie-



Schema 3. Synthese der „Nordhälfte“ von Althohyrtin A nach Kishi et al.^[8a] (EE = Ethoxyethyl, PMB = *p*-Methoxybenzyl).

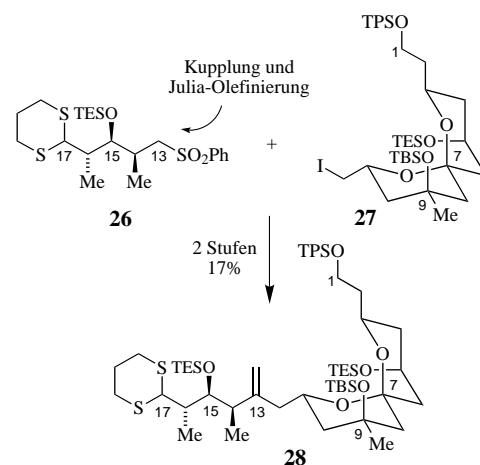
Bende Dess-Martin-Periodinan-Oxidation lieferte den Aldehyd **20**. Für das C18–C28 Fragment wurde erneut auf die Dithianmethode zurückgegriffen. Verbindung **21** ist aus den entsprechenden enantiomerenreinen Epoxiden leicht zugänglich. Hieraus wurde jedoch nicht direkt das Spiroketal synthetisiert, sondern lediglich der *D*-Ring von Altohyrtin A mit einer geeigneten Vinylidiod-Gruppierung in der Seitenkette (**22**). Wie bereits oben beschrieben, folgte jetzt die interessante Synthesesequenz, die durch die Übergangsmetall-vermittelte Knüpfung des Vinylidiods **22** an den Aldehyd **20** eingeleitet wurde. Die Oxidation zum Keton (C17) und intramolekulare Michael-Cyclisierung lieferten nur eines der vier Diastereomere. Es stellte sich heraus, daß die Konfiguration an C19 der des erhofften Produktes entsprach, während das Spirozentrum C23 falsch konfiguriert war. Durch Epimerisierung wurde letztlich das richtige Spiroketal in 50% Ausbeute erhalten. Weitere Manipulationen der Schutzgruppen sowie gezielte Oxidationen der Seitenketten ergaben die geeignet geschützte „Nordhälfte“ **1**.

Ähnliche Strategien zum Aufbau der Spiroketales wurden auch von anderen Arbeitsgruppen verfolgt.^[9, 10, 11a,c,d, 12b,c] Heathcock und Mitarbeiter^[9a] haben in einer Modellstudie einen effizienten Zugang zum *AB*-Ringsystem eröffnet (Schema 4): Ausgehend vom leicht zugänglichen *C*₂-symmetrischen Spirodiketon **23** gelang ihnen die diastereoselektive

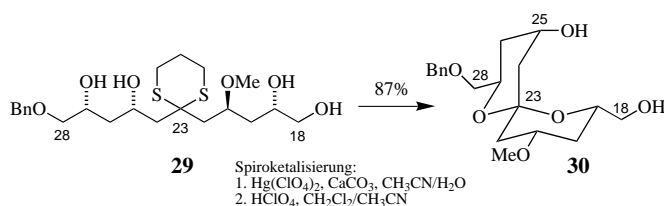


Schema 4. Synthese des *AB*-Modellspiroketales **25** nach Heathcock et al. (TIPS = Triisopropyl).^[9a]

Funktionalisierung über den Monosilylenolether **24** zum Produkt **25**. Die Eintopf-Dithianmethode zur Synthese der acyclischen chiralen Vorstufen der Spiroketales wurde von der Arbeitsgruppe von Smith intensiv genutzt. Zur Einführung der C13–C17-Seitenkette bietet diese Arbeitsgruppe eine schöne Variante an, die leider nur mit relativ schlechter Ausbeute gelang;^[12c] nach Alkylierung des Sulfons (C13) mit dem Iodid **27** erfolgte eine Julia-Olefinierung und somit die Bildung der exocyclischen Doppelbindung an C13 (**28**, Schema 5). Ein Problem bei beiden beschriebenen Totalsynthesen ist die ungewöhnliche Konfiguration an C23 des *CD*-Spiroketales. Aus den Arbeiten von Smith und Mitarbeitern geht hervor, daß Calciumionen eine wichtige, konstruktive Rolle spielen können. Sie begünstigen vermutlich die selektive, säurekatalysierte Spiroketalisierung des Dithians **29** zum gewünschten Produkt **30** (Schema 6).^[12b] Überraschenderwei-

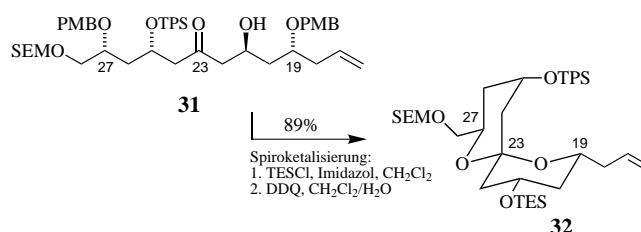


Schema 5. Sulfon-Strategie zur Kupplung der Seitenkette an das *AB*-Ringsystem nach Smith et al.^[12c]



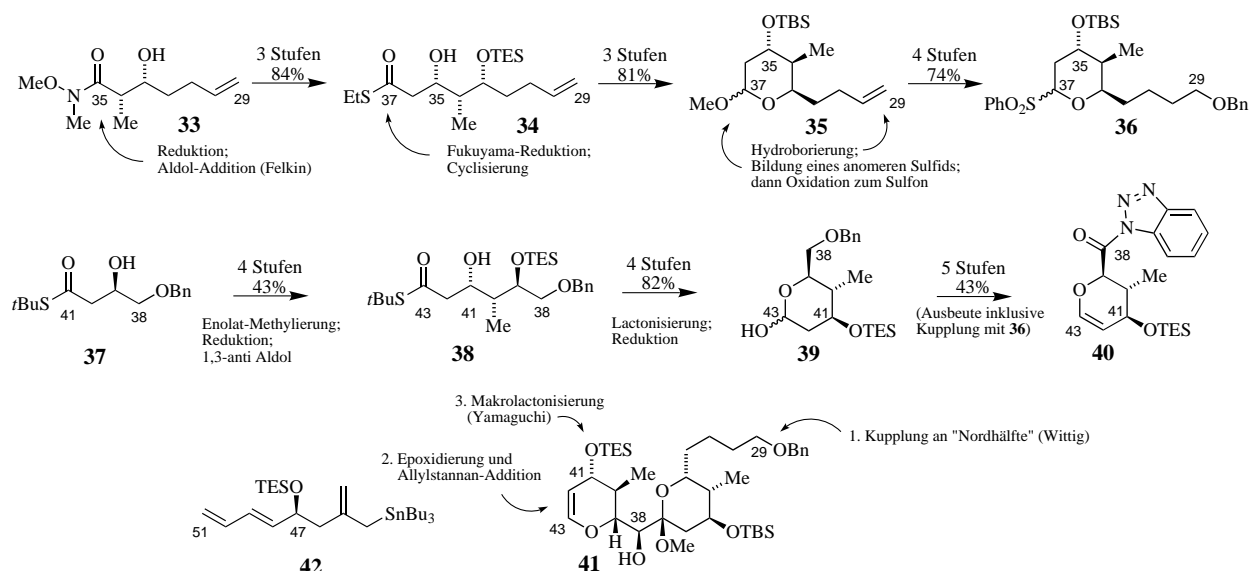
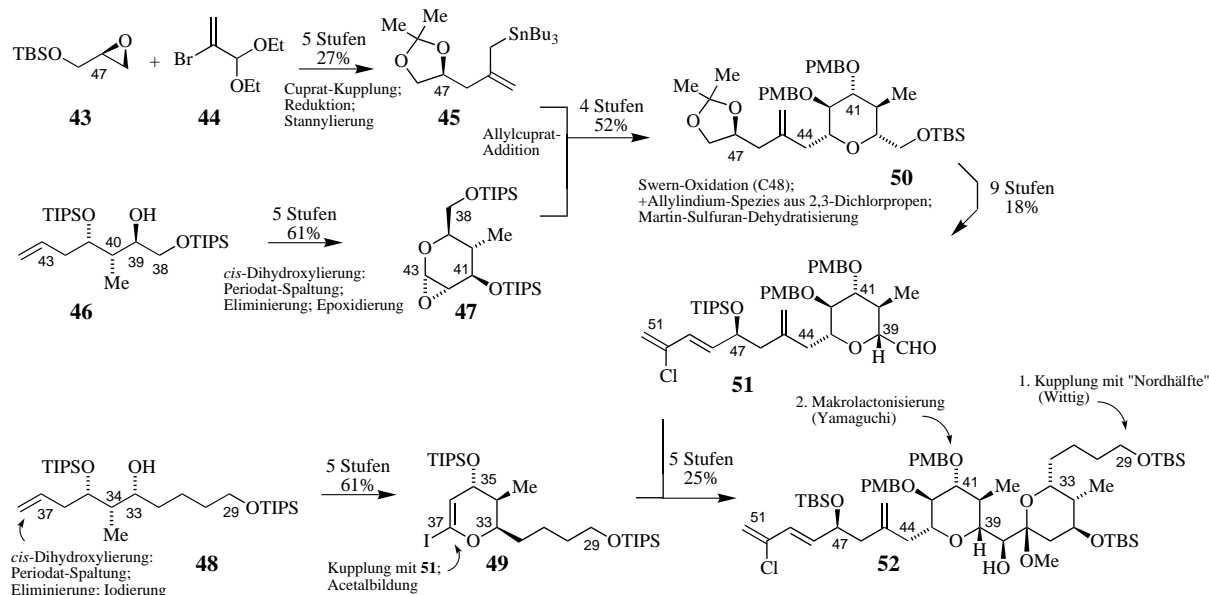
Schema 6. Durch Calciumionen induzierte selektive Spiroketalisierung nach Smith et al.^[12b]

se waren von Paquette et al. bei dieser Reaktion, hier die Silylierung des Alkohols **31** und die abschließende Deblockierung der Hydroxygruppen an C19 und C27 unter spontaner Bildung des Spiroketales **32**, keine Schwierigkeiten beobachtet worden (Schema 7).^[10b]



Schema 7. Selektive Bildung des *CD*-Spiroketales **32** nach Paquette et al.^[10b] (SEM = 2-(Trimethylsilyl)ethoxymethyl).

Die Synthese der „Südhälfte“ durch Evans et al. ist in Schema 8 zusammengefaßt.^[7b] Der *E*-Ring wurde ausgehend vom leicht zugänglichen Hydroxamsäurederivat **33** beschrieben. Das stereogene Zentrum an C35 im Thioester **34** wird durch eine Felkin-selektive Aldoladdition eines Thioesteracetals an einen Aldehyd erhalten, der aus **33** durch DIBALH-Reduktion zugänglich ist. Milde Reduktion unter Fukuyama-Bedingungen (Lindlar-Katalysator, Et₃SiH, 1-Hexen, Aceton) und anschließende saure Hydrolyse der Silylschutzgruppe unter Cyclisierung lieferte nach Silylierung das Methylpyranosid **35**. Hieraus ließ sich das an C37 anomere Sulfon **36** in vier Stufen synthetisieren. Für den *F*-Ring wurde zunächst ein ähnlicher Weg eingeschlagen (**37**→**38**). Das

Schema 8. Erste Totalsynthese von Althohyrtin C nach Evans et al.^[7b,c]Schema 9. Erste Totalsynthese von Althohyrtin A nach Kishi et al.^[8b]

Halbacetal **39** wurde nach Desilylierung, Ag^1 -vermittelter Lactonisierung, DIBALH-Reduktion und anschließender Silylierung erhalten. Eliminierung zum Enolether und Oxidation an C38 lieferten nach Debenzylierung zunächst einen Aldehyd, der selbst ein geeigneter Kupplungspartner für das Sulfon **36** hätte sein können; hier schlugen aber alle Versuche fehl. Erst der Einsatz des aktivierten Benzotriazolamids **40** führte zum gewünschten Erfolg. Nach der Kupplung wurde die Sulfongruppe zum Methylpyranosid umgesetzt. Reduktion (KBHET_3) zum C38-Alkohol lieferte den Baustein **41**. Dieser wurde erfolgreich mit der „Nordhälfte“ über eine Wittig-Reaktion (C29) verknüpft und mit Dimethyldioxiran diastereoselektiv epoxidiert (C42–C43), wobei anschließend das Epoxid Lewis-Säure-katalysiert mit dem Allylstannan **42** geöffnet wurde. Die abschließende Yamaguchi-Makrolactonisierung verläuft mit erstaunlicher Selektivität: Obwohl die

Hydroxygruppen an C41 und C42 beide ungeschützt eingesetzt wurden, wurde nur ein Produkt in sehr guter Ausbeute (86 %) erhalten. Nach letzten Schutzgruppen-Manipulationen wurde Althohyrtin C isoliert, eine Verbindung, die sich nach Vergleich aller spektroskopischen Daten als mit Spongistatin 2 identisch erwies.^[7c]

In Schema 9 ist der alternative Zugang zur „Südhälfte“ durch Kishi und Mitarbeiter beschrieben.^[8b] Wie erwähnt, wurde hier die Seitenkette C44–C51 frühzeitig eingebaut, wobei das stereogene Zentrum C47 durch das Oxiran **43** eingebracht wurde, das durch Sharpless-Epoxidierung hergestellt wurde. Cupratkupplung mit dem Vinylbromid **44** und Einführung einer Tributylstannylgruppe lieferten das Intermediat **45**. Der F-Ring wurde aus dem geschützten Triol **46** aufgebaut. Die typische Sequenz besteht aus einer *cis*-Dihydroxylierung des Olefins und Periodatspaltung zum

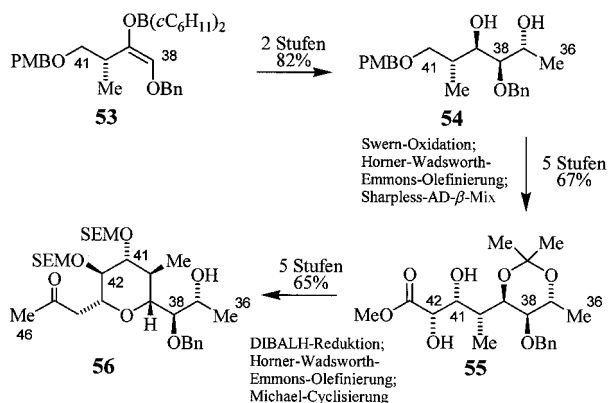
Aldehyd unter Bildung des Halbacetals, das in abschließenden Schritten durch Eliminierung zunächst zum Enoether und weiter mit Dimethyldioxiran zum Epoxid **47** umgesetzt wurde. Eine ähnliche Reaktionsfolge wurde auch für das *E*-Ring-Fragment (**48**→**49**) genutzt. Die Edukte **46** und **48** wurden ebenfalls durch bewährte Methoden erhalten: Aus den entsprechenden achiralen Aldehyden (C39 oder C33) wurden durch Addition mit Brown-Crotylboranen jeweils zwei neue Chiralitätszentren (C39, C40 bzw. C33, C34) aufgebaut und die entsprechenden Olefine in enantiomerenreiner Form erhalten. Abbau der Doppelbindung zum Aldehyd und erneute Allylboranaddition lieferten die Ausgangsverbindungen **46** und **48**. Nach Kupplung der Allylverbindung **45** (Transmetallierung zum Cuprat) an das Epoxid **47** wurde die Synthese der Seitenkette in neun Stufen (**50**→**51**) abgeschlossen und ein Aldehyd erhalten, der direkt für die abschließende Synthese der „Südhälfte“ zur Verfügung stand. Es sei darauf hingewiesen, daß an dieser Stelle mit der Addition der Allyllithium-Spezies aus 2,3-Dichlorpropen die Entscheidung für die Synthese von entweder Altohyrtin A, B oder C gefallen war. Die abschließenden Schritte zur Synthese des C29–C51-Bausteins **52** wurden durch eine direkte Reaktion der C37-lithiierten Form von **49** unter MgBr₂-Zusatz mit dem Aldehyd **51** eingeleitet. Hier mußte nicht der Umweg über den entsprechenden aktivierten Ester gegangen werden. Die Bildung des Methylpyranosids (C37) erfolgte durch eine Iodmethanololyse und die reduktive Dehalogenierung in Gegenwart von Brombenzol (zur Verhinderung der Reaktion des Vinylchlorids). Nach Herstellung des Wittig-Salzes (C29) und Kupplung mit der „Nordhälfte“ konnte auch diese Synthese durch Makrolactonisierung erfolgreich zum Abschluß gebracht werden. Spektroskopisch konnte gezeigt werden, daß die erhaltene Verbindung mit Altohyrtin A und Spongistatin 1 identisch war.

Von weiteren präparativen Arbeiten zur „Südhälfte“ berichteten Smith und Mitarbeiter,^[12a] die erneut durch den effektiven Einsatz der Dithianmethode und der Julia-Olefinierung (Methylenierung von C45) einen kompletten, kupplungsfähigen Baustein zur Verfügung stellten, und Paterson et al. (Schema 10).^[11b] Diese Arbeitsgruppe verfolgte eine ganz andere Strategie zum Aufbau der *EF*-Ringe. Hatten alle anderen Arbeitsgruppen die Kupplung der Ringe durch Bildung der C37–C38-Bindung durchgeführt, wurde von

Paterson und Mitarbeitern das Kohlenstoffgerüst C36–C41 frühzeitig durch Aldoladdition des Borenolats **53** an Acetaldehyd aufgebaut (→**54**). Zwei weitere stereogene Zentren (C41 und C42) wurden selektiv durch asymmetrische Sharpless-Dihydroxylierung nach Kettenverlängerung (Swern-Oxidation, Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung) erhalten. Der Ester **55** wurde anschließend zum substituierten *F*-Ring **56** umgesetzt. Als Vorteil dieser Synthese könnte sich erweisen, daß die Konfiguration an C38 in einem frühen Schritt festgelegt und die Seitenkette C47–C51 gegebenenfalls spät und somit flexibel eingebaut werden kann. Es bleibt abzuwarten, ob sich dieser Ansatz bewährt.

Biologische Aspekte

Nach den erfolgreichen Totalsynthesen der beiden Arbeitsgruppen von Kishi und Evans bleibt anzumerken, daß sich die Synthese von Evans et al. nicht nur durch den effektiven Einsatz von Methoden auszeichnet, die in der eigenen Arbeitsgruppe entwickelt wurden, sondern auch durch ihre Konvergenz und Flexibilität (längste lineare Kette: 32 Stufen ausgehend von **6**, ca. 0.7% Gesamtausbeute; Synthese von Kishi et al.: 37 Stufen, ca. 0.01% Gesamtausbeute ausgehend von **12**). In der Zukunft werden jetzt sicherlich die physiologische Wirkung und die potentielle Anwendung in der Krebstherapie im Mittelpunkt des Interesses stehen. Beeindruckend und nützlich sind sicherlich die herausragenden GI-Werte (Tabelle 1), aber noch fehlen Aussagen über die Selektivität für Tumorzellen gegenüber anderen Zellen. Aus In-vitro-Tests konnte bislang abgelesen werden, daß die Spongistatine unter anderem wirksame Mitosehemmstoffe sind, die den Aufbau der Kernspindeln hemmen, wobei auf mindestens drei unterschiedliche, charakteristische Bindungsstellen für das Tubulindimer geschlossen wurde.^[5f] Erste Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen von Hamel et al. mit den unterschiedlichen Spongistatinen lassen keine Aussagen über entscheidende Funktionalitäten zu,^[5f] ein Ergebnis, das auch sehr gut mit der Beobachtung von Kishi et al. übereinstimmt – C23-*epi*-Altohyrtin A wirkt ebenfalls stark cytotoxisch.^[8b] Um detailliertere Aussagen, auch in Hinblick auf In-vivo-Tests und mögliche medizinische Anwendungen, machen zu können, müssen größere Mengen der Substanzen bereitgestellt werden. Das ist sicherlich das Dilemma mit Wirkstoffen marinen Ursprungs; die Isolierung aus Tonnen von Schwämmen ist ökologisch sicherlich nur begrenzt vertretbar, eine Kultivierung im großen Umfang erscheint zur Zeit nicht möglich. Solange die Isolierung der Gene noch eine Wunschvorstellung ist, bleibt die Synthese die einzige Möglichkeit, um hinlängliche Mengen für systematische Untersuchungen zu erhalten – hier sollten wenige Gramm bei den beschriebenen Cytotoxizitäten vollkommen ausreichen. Dies bleibt weiterhin das erklärte Ziel mehrerer Forschergruppen. Der Vergleich der Altohyrtine und Spongistatine mit anderen natürlichen Antineoplastika zeigt, daß hier eine starke Konkurrenz wartet. Handelspräparate wie Taxol oder Taxotere haben sich bereits etabliert;^[13] andere Verbindungen, z. B. die Epothilone, bestechen nicht nur durch hervorragende Testergebnisse, sondern zeichnen sich auch durch ihre ökonomische Gewinnung nach Kultivierung von Myxobakterien aus.^[14] Auch die



Schema 10. Synthese des *F*-Ringes der „Südhälfte“ nach Paterson et al.^[11b]

Tabelle 1. Daten zu den Makroliden Spongistatin 1–9,^[a] Cinachyrolid A, Altohyrtin A–C und 5-Desacetylaltohyrtin A

Verbindung	Ausbeute (isoliert)	Bioassay (Zelllinie)	Cytotoxizität
Spongistatin 1 ^[a]	3.5 × 10 ⁻⁶ % 13.8 mg ^[b]	P388	GI ₅₀ 2.5–3.5 × 10 ⁻¹¹ M ^[f] GI ₅₀ 1.3 × 10 ⁻¹⁰ M ^[g] IC ₅₀ 5.3 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 3 × 10 ⁻¹¹ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 2 ^[a]	1 × 10 ⁻⁶ % 4.34 mg ^[b]	P388	GI ₅₀ 8.51 × 10 ⁻¹⁰ M ^[g] IC ₅₀ 4.6 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 2 × 10 ⁻⁹ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 3	6.7 × 10 ⁻⁷ % 2.69 mg ^[b]	P388	GI ₅₀ 8.32 × 10 ⁻¹⁰ M ^[g] IC ₅₀ 1.3 × 10 ⁻⁵ M ^[h] IC ₅₀ 1 × 10 ⁻⁹ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 4	4.4 × 10 ⁻⁷ % 10.7 mg ^[c]	P388	GI ₅₀ 1.0 × 10 ⁻¹⁰ M ^[g] IC ₅₀ 5.1 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 1 × 10 ⁻¹⁰ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 5	5.4 × 10 ⁻⁷ % 12.9 mg ^[c]	P388	GI ₅₀ 1.2 × 10 ⁻¹⁰ M ^[g] IC ₅₀ 6.7 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 2 × 10 ⁻¹⁰ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 6	3.5 × 10 ⁻⁷ % 8.4 mg ^[c]	P388	GI ₅₀ 1.1 × 10 ⁻⁹ M ^[g] IC ₅₀ 4.4 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 8 × 10 ⁻¹⁰ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 7	2.2 × 10 ⁻⁷ % 5.4 mg ^[c]	P388	GI ₅₀ 1.0 × 10 ⁻⁹ M ^[g] IC ₅₀ 5.3 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 2 × 10 ⁻⁹ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 8	7.5 × 10 ⁻⁸ % 1.8 mg ^[c]	P388	GI ₅₀ 2.3 × 10 ⁻¹⁰ M ^[g] IC ₅₀ 5.5 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 3 × 10 ⁻⁹ M ^{[i],[5f]}
Spongistatin 9	2.2 × 10 ⁻⁷ % 5.4 mg ^[c]	P388	GI ₅₀ 4.0 × 10 ⁻¹¹ M ^[g] IC ₅₀ 4.2 × 10 ⁻⁶ M ^[h] IC ₅₀ 3 × 10 ⁻¹⁰ M ^{[i],[5f]}
Cinachyrolid A	1.7 × 10 ⁻⁵ % 1.1 mg ^[d]	L1210	IC ₅₀ < 6 × 10 ⁻¹⁰ g mL ⁻¹ ^{[i],[4b]}
Altohyrtin A ^[a]	6.9 × 10 ⁻⁶ % 7.6 mg ^[e]	L1210 KB	IC ₅₀ 3 × 10 ⁻¹¹ g mL ⁻¹ ^[i] IC ₅₀ 1 × 10 ⁻¹¹ g mL ⁻¹ ^{[j],[4c]}
Altohyrtin B	4 × 10 ⁻⁷ % 0.5 mg ^[e]	L1210 KB	IC ₅₀ 3 × 10 ⁻¹¹ g mL ⁻¹ ^[i] IC ₅₀ 2 × 10 ⁻¹¹ g mL ⁻¹ ^{[j],[6a]}
Altohyrtin C ^[a]	4 × 10 ⁻⁷ % 0.5 mg ^[e]	L1210 KB	IC ₅₀ 1.3 × 10 ⁻⁹ g mL ⁻¹ ^[i] IC ₅₀ 4 × 10 ⁻¹⁰ g mL ⁻¹ ^{[j],[6a]}
5-Desacetyl- altohyrtin A	4.2 × 10 ⁻⁶ % 4.7 mg ^[e]	L1210 KB	IC ₅₀ 3.3 × 10 ⁻⁹ g mL ⁻¹ ^[i] IC ₅₀ 3 × 10 ⁻¹⁰ g mL ⁻¹ ^{[j],[6a]}

[a] An dieser Stelle sei auf die Identität von Spongistatin 1 und Altohyrtin A sowie von Spongistatin 2 und Altohyrtin C hingewiesen.^[5b, 7c] [b] Aus 400 kg (Naßgewicht) *Spongia* sp.^[5a] [c] Aus 2409 kg (Naßgewicht) *Spirastrella spinispirulifera*.^[5b–d] [d] Aus 6.6 kg (Naßgewicht) *Cinachyra* sp.^[4b] [e] Aus 112 kg (Naßgewicht) *Hyrtios altum*.^[4c, 6] [f] Typische Werte bei einer Auswahl besonders chemoresistenter Tumortypen im NCI-Test.^[4a] [g] Alle 60 Krebszelllinien des NCI-Standardassays wurden berücksichtigt.^[5f] [h] Hemmung der Glutamat-induzierten Polymerisation von Tubulin.^[5f] [i] Hemmung des L1210-Zellwachstums. [j] Hemmung des KB-Zellwachstums.

Bryostatine, ebenfalls eine relativ neue Klasse mariner Makrolide, sind quasi die Konkurrenz im eigenen Hause, denn diese Substanzen wurden bereits in ersten klinischen Tests untersucht.^[2, 15] Eine lange Liste weiterer potentieller Kandidaten ließe sich leicht erstellen (siehe auch Lit. [2, 3]).

Fassen wir zusammen: Durch die beiden Totalsynthesen – und nur diese konnten es zu diesem Zeitpunkt beweisen – wurden die Strukturen der Spongipyrene eindeutig aufgeklärt. In Abbildung 2 sind die neuen Strukturvorschläge zusammengefaßt. Die von Kitagawa et al. publizierten Strukturen wurden offensichtlich bestätigt und die Beziehung zu den Spongistatinen 1 und 2 konnte eindeutig hergestellt werden. Hieraus ergeben sich zwangsläufig auch die korri-

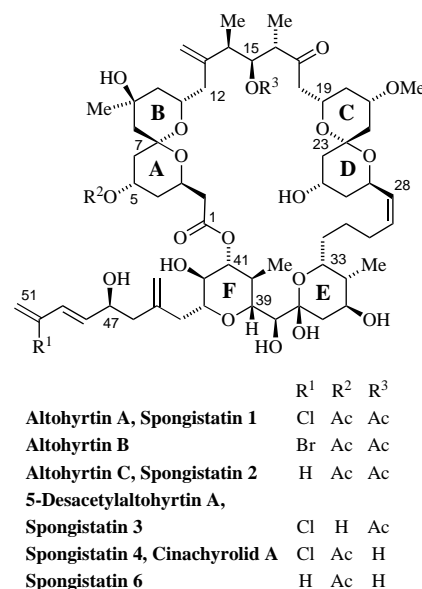


Abb. 2. Aktueller Vorschlag zur Strukturzuordnung der marinen Makrolide Spongistatin 1–4 und 6, Cinachyrolid A, Altohyrtin A–C und 5-Desacetylaltohyrtin A.

gierten Strukturen für die Spongistatine 3, 4 und 6 und vermutlich entsprechend nicht nur für das Cinachyrolid A, sondern auch für die Spongistatine 5 und 7–9. Weitere Synthesen müssen und werden jetzt folgen, um größere Mengen dieser faszinierenden Substanzen zur Verfügung zu stellen, damit weitere Einblicke in das klinische Potential dieser Makrolide gewonnen werden können. Erst dann wird endgültig zu klären sein, auf welchem Wege ausreichende Mengen eines möglichen Therapeutikums erhältlich sind.

Stichwörter: Altohyrtin • Cytostatica • Naturstoffe • Spongistatine • Totalsynthesen

- [1] Eine Reihe von Übersichtartikeln ist den marinen Naturstoffen gewidmet: *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1671–1944; D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1997**, 14, 259–302 (jährlicher Überblick), zit. Lit.
- [2] G. R. Pettit, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 66, 2271–2281.
- [3] R. D. Norcross, I. Paterson, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2041–2114.
- [4] a) G. R. Pettit, Z. A. Cichacz, F. Gao, C. L. Herald, M. R. Boyd, J. M. Schmidt, J. N. A. Hooper, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 1302–1304; b) N. Fusetani, K. Shinoda, S. Matsunaga, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3977–3981; c) M. Kobayashi, S. Aoki, H. Sakai, K. Kawazoe, N. Kihara, T. Sasaki, I. Kitagawa, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 2795–2798.
- [5] a) G. R. Pettit, Z. A. Cichacz, F. Gao, C. L. Herald, M. R. Boyd, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1166–1168; b) G. R. Pettit, C. L. Herald, Z. A. Cichacz, F. Gao, J. M. Schmidt, M. R. Boyd, N. D. Christie, F. E. Boettner, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1805–1807; c) G. R. Pettit, C. L. Herald, Z. A. Cichacz, F. Gao, M. R. Boyd, N. D. Christie, J. M. Schmidt, *Nat. Prod. Lett.* **1993**, 3, 239–244; d) G. R. Pettit, Z. A. Cichacz, C. L. Herald, F. Gao, M. R. Boyd, J. M. Schmidt, E. Hamel, R. Bai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1605–1606; e) R. Bai, Z. A. Cichacz, C. L. Herald, G. R. Pettit, E. Hamel, *Mol. Pharmacol.* **1993**, 44, 757–766; f) R. Bai, G. F. Taylor, Z. A. Cichacz, C. L. Herald, J. A. Kepler, G. R. Pettit, E. Hamel, *Biochemistry* **1995**, 34, 9714–9721.
- [6] a) M. Kobayashi, S. Aoki, H. Sakai, N. Kihara, T. Sasaki, I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, 41, 989–991; b) M. Kobayashi, S. Aoki, I. Kitagawa, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 1243–1246; c) M. Kobayashi, S. Aoki, K. Gato, I. Kitagawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, 44, 2142–2149.
- [7] a) D. A. Evans, P. J. Coleman, L. C. Diaz, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 2951–2954; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2737–2741; b) D. A.

- Evans, B. W. Trotter, B. Côté, P. J. Coleman, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2954–2957; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2741–2744; c) D. A. Evans, B. W. Trotter, B. Côté, P. J. Coleman, L. C. Dias, A. N. Tyler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2957–2961; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2744–2747.
- [8] a) J. Guo, K. J. Duffy, K. L. Stevens, P. I. Dalko, R. M. Roth, M. M. Hayward, Y. Kishi, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 198–202; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 187–190; b) M. M. Hayward, R. M. Roth, K. J. Duffy, P. I. Dalko, K. L. Stevens, J. Guo, Y. Kishi, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 202–206; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 190–196.
- [9] a) M. M. Claffey, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7646–7647; b) C. J. Hayes, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2678–2679.
- [10] a) L. A. Paquette, D. Zuev, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5115–5118; b) L. A. Paquette, A. Braun, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5119–5122.
- [11] a) I. Paterson, R. M. Oballa, R. D. Norcross, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8581–8584; b) I. Paterson, L. E. Keown, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5727–5730; c) I. Paterson, R. M. Oballa, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8241–8244; d) I. Paterson, D. J. Wallace, K. R. Gibson, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8911–8914; e) Eine Synthese des C1–28-Segmentes wurde kürzlich beendet: I. Paterson, persönliche Mitteilung.
- [12] a) A. B. Smith III, L. Zhuang, C. S. Brook, A. M. Boldi, M. D. McBriar, W. H. Moser, N. Murase, K. Nakayama, P. R. Verhoest, Q. Lin, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8667–8670; b) A. B. Smith III, L. Zhuang, C. S. Brook, Q. Lin, W. H. Moser, R. E. Lee Trout, A. M. Boldi, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8671–8674; c) A. B. Smith III, Q. Lin, K. Nakayama, A. M. Boldi, C. S. Brook, M. D. McBriar, W. H. Moser, M. Sobukawa, L. Zhuang, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8675–8678; d) über die Synthese einer C39–C51-Modellverbindung und die dazugehörigen Cytotoxizitätswerte wurde kürzlich berichtet: A. B. Smith III, Q. Lin, G. R. Pettit, J.-C. Chapuis, J. M. Schmidt, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 567–568.
- [13] K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, R. K. Guy, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 38–69; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 15–44, zit. Lit.
- [14] a) G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schomburg, K. Gerth, H. Reichenbach, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1671–1673; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1567–1569; b) L. Wessjohann, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 739–742; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 739–742, zit. Lit.
- [15] G. R. Pettit, *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1991**, *57*, 153–195, zit. Lit.

Neue Entwicklungen in der Stickstoff-Fixierung

Felix Tuczek* und Nicolai Lehnert

Die Aussicht, in Analogie zur Natur aus atmosphärischem Distickstoff bei Raumtemperatur und Normaldruck Ammoniak herzustellen, fasziniert Koordinationschemiker seit langem. Die Modellierung der Bedingungen des biologischen Systems mit niedermolekularen Verbindungen ist allerdings außergewöhnlich schwierig. So konnte der Eisen-Molybdän-Cofaktor (FeMoco), an dem N₂ im Enzym Nitrogenase gebunden und reduziert wird,^[1] bisher nicht synthetisiert werden.^[2] Außerdem bindet der Cofaktor in isolierter Form kein N₂. Für die Realisierung eines Katalysezyklus erscheint es daher erfolgversprechender, von den ein- und zweikernigen N₂-haltigen Übergangsmetallverbindungen auszugehen, die bei der Protonierung NH₃ oder N₂H₄ liefern. Andererseits ist ein biomimetischer Ansatz wichtig, um Aspekte der Funktion des Enzyms auf molekularer Ebene zu verstehen.^[3] Die Ergebnisse dieser beiden unterschiedlichen Forschungsrichtungen sind immer in engem Zusammenhang gesehen worden.

Durch Koordination an ein oder mehrere Metallzentren wird der in freier Form extrem reaktionsträge Distickstoffligand unterschiedlich stark aktiviert (Abb. 1).^[4] Für Protonierungen sind prinzipiell Verbindungen geeignet, die mäßig bis stark aktivieren, und solche, die das N₂-Molekül bei Koordination spalten. Strebt man eine große Ähnlichkeit mit der biologischen Reaktion an, sind allerdings möglichst milde Bedingungen wichtig. Obwohl Verbindungen, die nicht

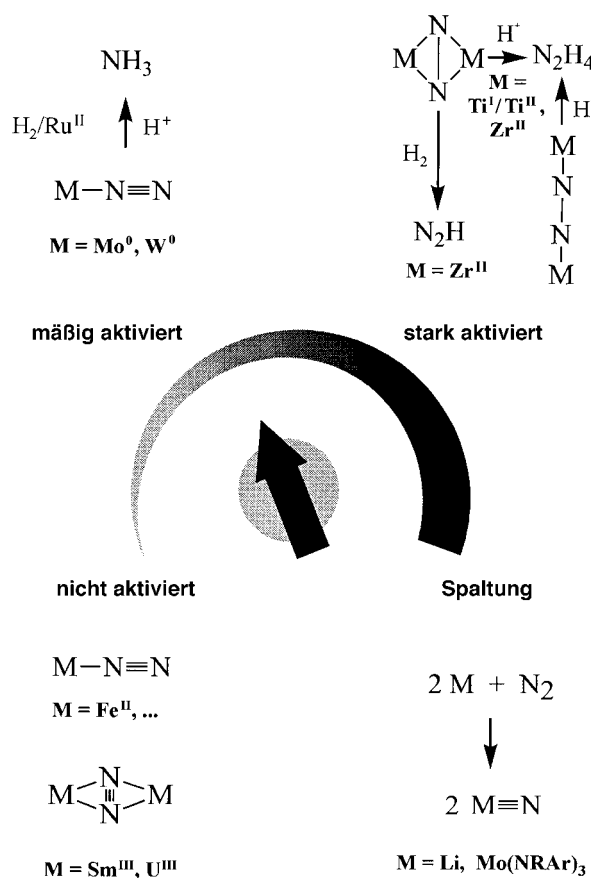


Abb. 1. Die Aktivierung des N₂-Liganden läßt sich durch die Wahl des koordinierenden Metallzentrums beeinflussen. Die Aktivierungsskala reicht von nicht aktiviert bis Spaltung. Der Pfeil weist auf den minimalen Aktivierungsgrad, der für Protonierung notwendig ist.

[*] Dr. habil. F. Tuczek, Dipl.-Chem. N. Lehnert
 Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Universität
 Staudingerweg 9, D-55099 Mainz
 Fax: (+49) 6131-39-2990
 E-mail: Tuczek@iacgu7.chemie.uni-mainz.de