

Diversitätsorientierte organische Synthese im Zeitalter der Genom- und Proteomforschung**

Prabhat Arya,* Doug T. H. Chou und Myung-Gi Baek

Dr. David Thomas gewidmet

Die organische Synthesechemie befand sich aufgrund ihres Einflusses auf die materialwissenschaftliche und biologische Forschung schon immer an der Schnittstelle zu anderen Wissenschaftszweigen. Die auf diesem Gebiet arbeitenden Wissenschaftler müssen sich ständig der Herausforderung stellen, effiziente Methoden, neuartige Reaktionen und Prozesse zu entwickeln, die für die Synthese der gewünschten Zielverbindungen und deren Derivate geeignet sind.^[1] Die organische Synthesechemie dient nicht nur zur Herstellung von Verbindungen, die sich für die Untersuchung von biologischen Funktionen oder von Materialeigenschaften eignen, sondern liefert uns auch neue Arzneimittel und Verbindungen mit interessanten Eigenschaften.

In den letzten Jahrzehnten wurden etliche neue Synthesemethoden entwickelt, die die Herstellung von komplexen Naturstoffen, Naturstoffabkömmlingen und einfacheren Analoga auf effiziente Art und Weise erlauben. In der asymmetrischen Synthese wurden bei der Entwicklung von stereo- und enantioselektiven Reaktionen enorme Fortschritte erzielt. Da die Identifizierung von Wirkstoffen und neuartigen Materialien viel Zeit in Anspruch nimmt, kam die kombinatorische Chemie erst im letzten Jahrzehnt richtig auf.^[2] Neue Wirkstoff-Leitstrukturen werden üblicherweise durch Extraktion von Naturstoffen aus höheren Pflanzen und Tieren, Insekten oder Mikroorganismen gewonnen. Liefern mehrere Fraktionen im biologischen Test ein positives Ergebnis, so ergibt sich als nächstes die Herausforderung, die für diese biologische Aktivität verantwortlichen chemischen Substanzen zu identifizieren. Die spezifischen Substanzen werden daraufhin in größerer Menge synthetisiert oder aber einfachere Analoga mit eventuell ähnlichem biologischem Verhalten zugänglich gemacht.

Insgesamt gestaltete sich somit das traditionelle medizinisch-chemische Vorgehen sehr zeitraubend und teuer. Die

kombinatorische Chemie hingegen erlaubt es, große Bibliotheken (bio)organischer Verbindungen in kurzer Zeit entweder durch parallele Hochdurchsatz-Synthese oder Misch- und Trenn-Techniken herzustellen. Wir gehen davon aus, dass die kombinatorische Chemie in den kommenden Jahren für das Verständnis biologischer Funktionen neuer Zielmoleküle oder bei der Identifizierung neuartiger Strukturen in der Genom- und Proteomforschung eine entscheidende Rolle spielen wird. In den letzten Jahren konnte man den Einfluss der kombinatorischen Chemie auf die Entwicklung der zielgerichteten Hochdurchsatz-Synthese von Substanzbibliotheken verfolgen. Man kann erwarten, dass die nächste Ära durch die divergierende Synthese naturstoffähnlicher Verbindungen geprägt sein wird, um deren Anwendung in der Genom- und Proteomforschung zu untersuchen. Diese neuesten Bemühungen finden unter Synthetikern, die sich mit kombinatorischer Chemie beschäftigen, bereits Beachtung und werden hier vorgestellt.

Schreiber hat kürzlich in eleganter Weise die Unterschiede zwischen der zielgerichteten und der diversitätsorientierten Synthese erklärt.^[3] Ihm zufolge wird die zielgerichtete Synthese kleiner Moleküle bei einer Arzneimittelentwicklung auf der Basis einer Retrosynthese durchgeführt. Im Allgemeinen erfordert diese Vorgehensweise eine Vorauswahl von Zielproteinen. Dann werden kleine Moleküle entwickelt, die an diese Proteine selektiv binden. Diese Moleküle werden daraufhin entweder mit herkömmlichen organisch-chemischen Methoden oder durch Festphasensynthesen hergestellt. Die Hochdurchsatz-Synthese kann dabei parallel oder mit der Misch- und Trenn-Technik durchgeführt werden. Bei letzterer kann ein großer Satz von Verbindungen synthetisiert werden, die dann als Mischungen geprüft werden. Die Identifizierungs-codes helfen dabei, aussichtsreiche Leitstrukturen in den Mischungen zu finden. Die Parallelsynthese liefert generell nicht mehr Substanzen, da nur eine Verbindung pro Mulde auf einer Platte erhalten wird.

Wie Schreiber erläutert, zielt die diversitätsorientierte organische Synthese dagegen nicht auf ein gegebenes Zielmolekül ab. Sie dient eher der Identifizierung neuer Zielstrukturen oder aber dazu, die biologischen Funktionen neuer Zielstrukturen zu verstehen. Außerdem wird dabei keine Retrosynthese benötigt; der Schwerpunkt liegt vielmehr

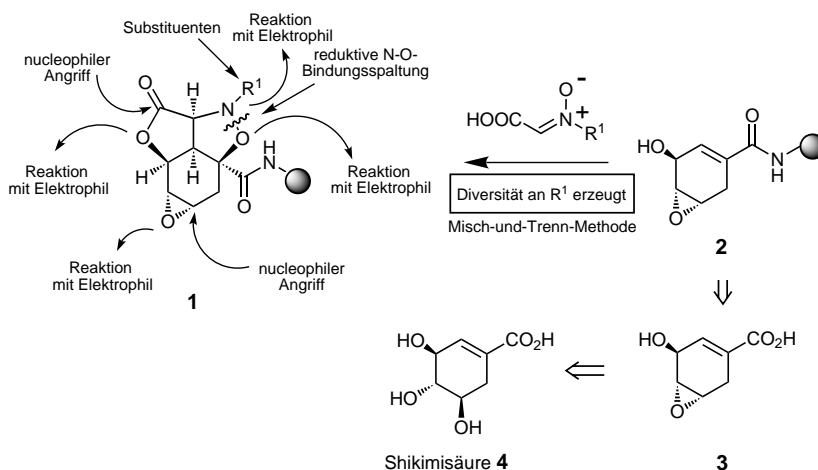
[*] Dr. P. Arya, Dr. D. T. H. Chou, Dr. M.-G. Baek
Chemical Biology Program
Stacie Institute for Molecular Sciences
National Research Council of Canada
100 Sussex Drive, Ottawa, ON, K1A 0R6 (Kanada)
Fax: (+1) 613-952-0068
E-mail: prabhat.arya@nrc.ca

[**] NRC publication no. 43843.

darauf, neue Methoden zur Synthese kleiner Moleküle von komplexer Struktur zu entwickeln. Schreiber vergleicht diese Vorgehensweise mit der zufälligen Mutation, einer etablierten Technik bei der Modifizierung spezifischer Zellreaktionen. Er definiert diesen Ansatz weiterhin als eine „chemisch-genetische Vorgehensweise“, bei der Bibliotheken kleiner Moleküle zum Testen von Zellreaktionen eingesetzt werden, um damit „therapeutische Zielvalidierung“ und „chemische Zielvalidierung“ zu betreiben.^[4]

Wenn die Genom- und Proteomforschung schnell Informationen über die Entdeckung neuer Gene bzw. Proteine liefert, so sind wir mit der Herausforderung konfrontiert, ihre Funktionen rasch zu verstehen. Der diversitätsorientierte Aufbau von Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen wird dabei eine entscheidende Rolle spielen und wird wahrscheinlich bedeutender werden als die üblicherweise in biologischen Labors durchgeführten Mutations- oder Gen-Ausschluss-Experimente. Anstatt die arbeitsintensiven Ausschluss-Experimente durchzuführen, lassen sich ähnliche Ergebnisse deutlich einfacher mit Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen erzielen. Einen großen Bedarf wird es vor allem an Bibliotheken geben, die aus naturstoffähnlichen Verbindungen bestehen, denn diese ergänzen die vorhandenen Naturstoffe, mit denen Proteinfunktionen moduliert (aktiviert oder deaktiviert) werden. Es ist wohl bekannt, dass einige niedermolekulare, komplexe Naturstoffe einen Einfluss auf Protein-Protein-, Kohlenhydrat-Protein- und DNA-Protein-Wechselwirkungen haben. So nimmt man beispielsweise auf dem Gebiet der Protein-Protein-Wechselwirkungen an, dass Größe und Starrheit der Strukturelemente in einem kleinen Molekül bessere Bindungs-/Störstoffe hervorbringen. Dies ist größtenteils darauf zurückzuführen, dass flache Oberflächen in den meisten Protein-Protein-Wechselwirkungen eine Rolle spielen, obwohl dieser Sachverhalt für die aktiven Zentren individueller Enzyme unzutreffend sein mag. Im Folgenden werden die beiden von Schreiber et al. beschriebenen Wege zu diversitätsorientierten Hochdurchsatz-Synthesen zusammengefasst.

Unter Verwendung der Codierungstechnik synthetisierten Schreiber et al. durch Misch- und Trenn-Festphasenmethoden eine diversitätsorientierte Bibliothek niedermolekularer Verbindungen auf einem tetracyclischen Templat des Typs **1** (die verschiedenen diversitätsorientierten Reaktionen am Templat sind in Schema 1 dargestellt), welches an einem Tentagel-S-NH₂- oder einem Polyethylenglykol-Polystyrol-Copolymerharz verankert ist.^[5] Dieses auf dem festen Träger angebrachte Templat wurde aus dem Epoxidderivat **2** der Shikimisäure **4** durch Reaktion mit unterschiedlichen Carboxynitrondervaten erhalten. Die Konsekutivreaktion bestehend aus Acylierung und anschließender intramolekularer 1,3-dipolarer Cycloaddition lieferte das Produkt mit hoher Stereo- und Regioselektivität. 4,5-Epoxy-3-hydroxy-1-cyclohexencarbonsäure **3** wurde aus Shikimisäure **4** hergestellt.

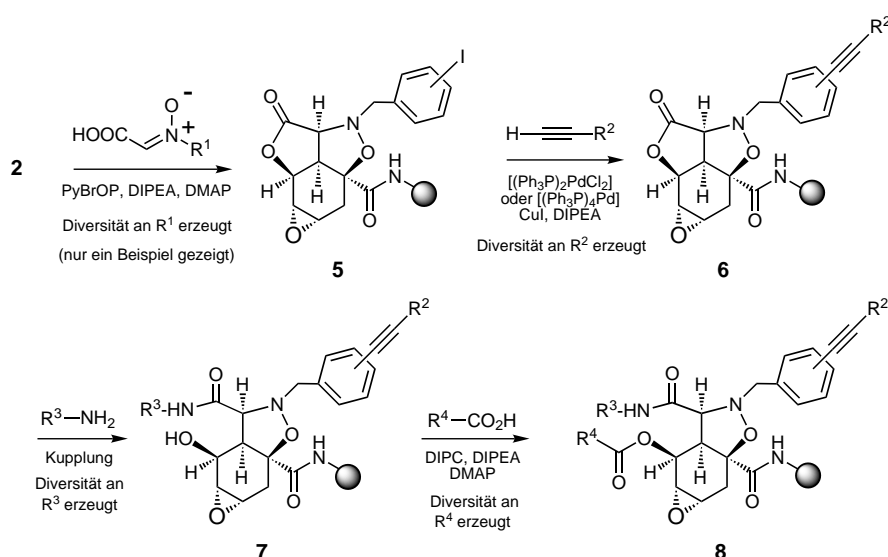


Schema 1. Von der Shikimisäure abgeleitetes tetracyclisches Templat zur Synthese von Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen.

Das Templat **1** zeichnet sich durch ein hohes Maß an Starrheit aus und ist mit den Isoxazolidin-, Lacton- und Epoxidresten hoch funktionalisiert; es ist also zur Herstellung niedermolekularer Bibliotheken einer Vielzahl organischer und metallorganischer Reaktionen zugänglich. Bemerkenswerterweise kommt Schreibers Syntheseroute ohne Schutzgruppen aus. Mehrere Reaktionen wurden sorgfältig ausgewählt, bevor mit der Synthese der Gesamtbibliothek mittels Misch- und Trenn-Codierttechnik begonnen wurde. Bei der Validierung der einzelnen Stufen wurden die Sequenz und auch potentielle molekulare Bausteine bei jedem Schritt auf ihre Eignung überprüft und jeweils eine kleine Substanzbibliothek hergestellt, um unvorhergesehene Komplikationen zu vermeiden.

So reagierten die Lacton- und Epoxidgruppen der Template **1** z.B. glatt mit Nucleophilen wie BuNH₂, PhNCO, Et₂NH und PhCN in üblichen organischen Lösungsmitteln unter Bildung von Hydroxyderivaten. Diese wurden daraufhin mit Carbonsäuren oder Säurechloriden verestert. Durch Umsetzung des Epoxids mit Thioessigsäure konnte ein weiteres Hydroxyderivat erhalten werden. Da das Isoxazolidin-Stickstoffatom in verschiedenster Weise substituiert werden kann, wurden einige Carboxynitrone mit reaktiven funktionellen Gruppen synthetisiert. So wurden z.B. einige Iodarylcarboxynitrone zur Synthese der tetracyclischen Iodaryl-Template des Typs **5** (Schema 2) ausgewählt. Mit den Iodderivaten konnten auch Palladium-katalysierte Kreuzkupplungen durchgeführt werden, wodurch die Verbindungen **6** erhalten wurden, ebenso Aminierungen, Veretherungen oder Carbonylierungen. Darüber hinaus wurden die Iodatome zur Herstellung höchst unterschiedlicher Template genutzt, indem sie zur Überführung in Alkene, Alkine oder Chlorformiate dienten. Nach Optimierung einiger Reaktionen lieferte die Aminolyse des Lactons (unter Bildung von **7**) und die Veresterung (zu **8**) eine ca. 2.18 Millionen Verbindungen umfassende Bibliothek mit einem hohen Maß an Komplexität und Diversität.

Die Bibliothek wurde in verschiedenen Assays untersucht (Inhibitionsaktivität gegenüber Oocyten aus *Xenopus laevis*, der Vermehrung von Nerzlungenzellen und der Rapamycin-



Schema 2. Synthese von Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen ausgehend vom tetracyclischen Templat **1**. DIPEA = Diisopropylethylamin, DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, DIPC = Diisopropylcarbodiimid.

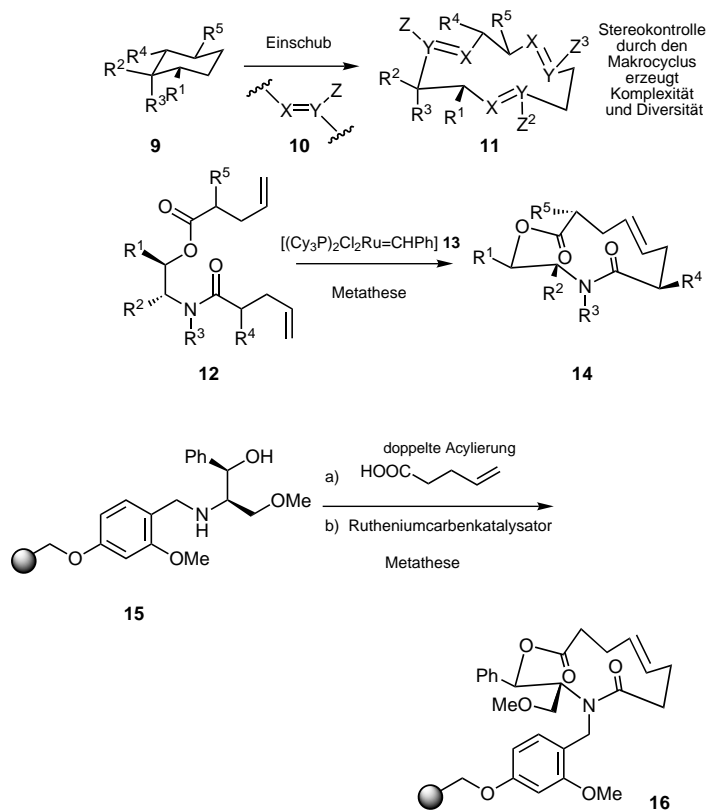
vermittelten Wachstumshemmung in *Saccharomyces cerevisiae*).^[6] Verschiedene Verbindungen aus der Bibliothek aktivierten interessanterweise das Reportergen der Nervenzellen. Bei der Strategie zur Herstellung dieser Bibliothek verließ man sich auf äußerst milde Reagentien und effiziente stereoselektive Synthesemethoden – eine wahrhaft lehrreiche Lektion für die kombinatorische Chemie! Wahrscheinlich wird sich die Literatur der kommenden Jahre weiterer Beispiele von Bibliothekssynthesen erfreuen, bei denen aus einfachen chiralen Edukten strukturell komplexe und höchst unterschiedliche Templatbausteine erhalten werden.

1999 berichteten Schreiber et al. über ein weiteres interessantes Beispiel, bei dem auf ähnliche Weise vorgegangen wurde und ein effizienter Zugang zu Bibliotheken von Makrocyclen geschaffen wurde.^[7] Eine Ringschlussmetathese^[8] war der Schlüsselschritt der Strategie, es schlossen sich Reaktionen an, bei denen die Stereokontrolle vom Makrocyclen ausgeht. Bekannterweise enthalten etliche biologisch aktive Naturstoffe mittlere bis große Ringsysteme. So gehören einige Antibiotika (z.B. Erythromycin) zu dieser Kategorie von makrocyclischen, hoch funktionalisierten Verbindungen. Komplexe Bibliotheken aus kleinen Molekülen mit mittleren bis großen Ringen können biologisch sehr wertvoll sein. Dabei werden erfolgreiche Strategien hauptsächlich von der Struktur der offenkettigen Ausgangsverbindungen abhängen, die für einen Ringschluss optimierte Konformationen aufweisen. Reaktionen, die zu Sechsringen führen, verlaufen im Allgemeinen besonders effizient. Auch der Ringschluss zum Makrocyclen könnte auf struktureller Ebene und im Hinblick auf funktionelle Gruppen optimiert werden.

Schreiber et al. hatten die Idee, die *trans*-Doppelbindungseinheit **10** alternierend zwischen den gesättigten Bindungen des Sechsrings **9** einzubauen. Dies sollte die Bildung des makrocyclischen Derivats **11** aufgrund der wegfallenden transannularen Wechselwirkungen und Konformationsspannung begünstigen (Schema 3). Damit die Ringschlussmeta-

these erfolgreich ist, müssen sich die beiden reagierenden Enden der acyclischen Vorstufe in unmittelbarer Nachbarschaft befinden. Doppelbindungen und Carbonylgruppen im Makrocyclen können dann für verschiedene Reaktionen genutzt werden, bei denen der Makrocyclen den stereochemischen Verlauf kontrolliert.

Vor der Bibliothekssynthese wurde die Ringschlussmetathese anhand der Modellverbindung in der flüssigen Phase getestet. Die schrittweise Acylierung eines 1,2-Aminoalkolderivats lieferte **12**. Bei der Ringschlussmetathese mit dem Grubbs-Katalysator **13** (5–15 Mol-%) wurde das gewünschte Produkt **14** in mittleren bis sehr guten Ausbeuten erhalten. Epoxidierung und Alkylierung eines entsprechenden Enoleters lieferten das jeweilige Produkt mit vollständiger

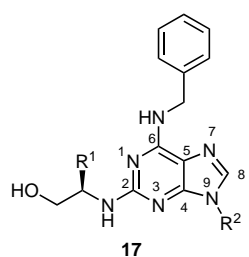


Schema 3. Der Makrocyclisierungs-Ansatz von Schreiber et al. zur potentiellen Synthese von Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen. Oben: Konzept für die Reaktion, Mitte: Modellsystem für die Flüssigphase, unten: Festphasenreaktion.

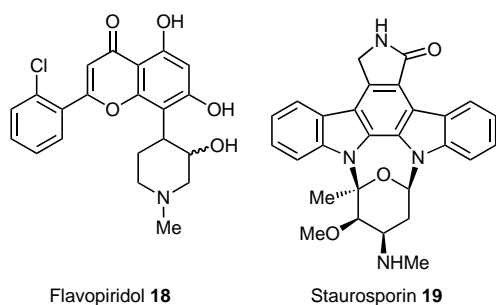
Stereokontrolle. Nun wurde die Makrocyclisierung durch Ringschlussmetathese auch an der festen Phase durchgeführt. Ein chirales Aminopropanolderivat wurde mit einem spurlosen Anker an der festen Phase angebracht. Die so erhaltene

Verbindung **15** wurde zunächst zweifach acyliert, woran sich eine Ringschlussmetathese zum chiralen Makrocyclus **16** anschloss. Damit waren die Voraussetzungen geschaffen, einen Misch-und-Trenn-Codierprozess zur Synthese von Bibliotheken bestehend aus stereochemisch anspruchsvollen chiralen Makrocyclen durchzuführen. Die nächsten Jahre werden zeigen, welche Bedeutung solche Bibliotheken für biologische Untersuchungen haben werden.

Auch die Arbeitsgruppe um Schultz nutzt Bibliotheken kleiner Moleküle in der Genom- und Proteomforschung, und zwar Substanzbibliotheken auf Purinbasis. Diese sollen zur Identifizierung von Kinase-Inhibitoren herangezogen werden, indem die strukturellen Gegebenheiten verschiedener Kinasen mit der Proteomforschung in Einklang gebracht werden. Das Puringerüst ist ein verbreitetes Strukturelement in Molekülen mit lebenswichtigen Funktionen in vielen biologischen Prozessen. So kommt es z. B. in Proteinen wie den Kinasen vor, vor allem in Cyclin-abhängigen Kinasen (cyclin-dependent kinases, CDKs).^[9, 10] Diese Enzyme regulieren viele biologische Vorgänge, unter anderem das Zellwachstum, die DNA-Replikation und die Zellteilung.^[9] Gerade die Synthese von Kinase-Inhibitoren erfreute sich in den letzten Jahren einer großen Beliebtheit. Einige der früh entwickelten CDK-Inhibitoren sind in Schema 4 zusammen-

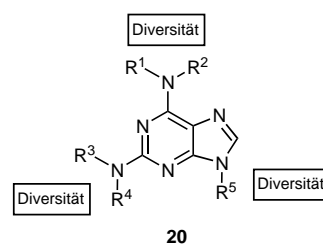


Olomoucine: R¹ = H, R² = Me
(R)-Roscovitine: R¹ = Et, R² = *i*Pr



Schema 4. CDK-Inhibitoren auf Naturstoffbasis.

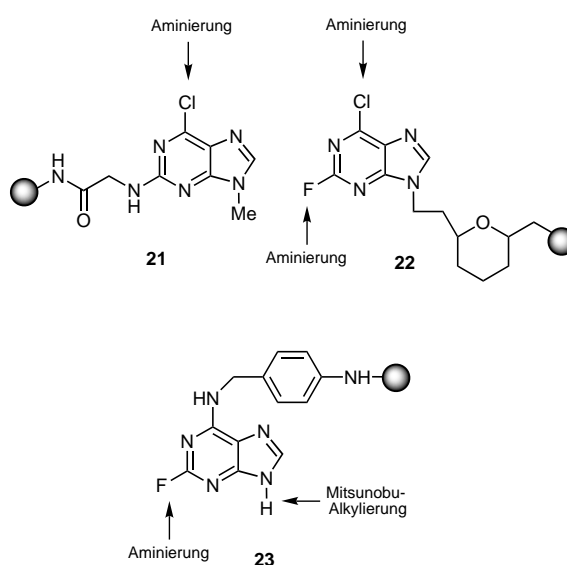
gestellt (**17–19**).^[11] Diese Verbindungen zeigten brauchbare Inhibitionseigenschaften, banden aber nicht stark und selektiv genug, um als Arzneimittel-Leitstrukturen in Frage zu kommen. Zur Vereinfachung der Synthese von Purinderivaten mit erhöhter Affinität für CDKs wurde auf der Basis mehrerer Kristallstrukturanalysen postuliert, dass die Synthese strukturell unterschiedlicher Purin-Analoga (mit Funktionalisierungsvielfalt an C2, C6 und N9) zu stärkeren CDK-Inhibitoren führen könnte (**20**; Schema 5).^[12]



Schema 5. Allgemeine Struktur der Purinderivate, die für Tests bezüglich CDK-Inhibierung in Bibliotheken synthetisiert wurden.

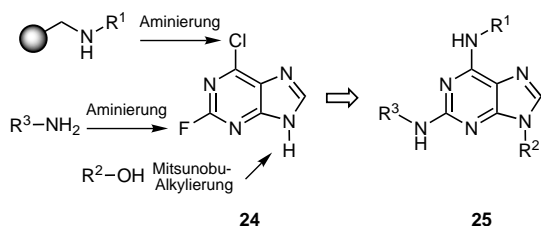
Herkömmliche Methoden für Synthesen in der flüssigen Phase erweisen sich für die Herstellung einer großen Menge sehr unterschiedlich funktionalisierter Verbindungen oft als zu aufwändig und zeitraubend. Demgegenüber ist es mit Hilfe der kombinatorischen Chemie leichter möglich, Substanzbibliotheken auf ihre biologischen Wirkungen hin zu überprüfen. Bibliotheken von Naturstoffen oder anderen niedermolekularen Verbindungen werden im Hinblick auf ihre Wirkung auf spezielle Vorgänge in Zellen oder Organismen untersucht. Diese Bibliotheken werden es erlauben, die Effektivität neuer Zielstrukturen zu erkennen. Man hofft, so neue Arzneistoffe zu entdecken. Moderne Hochdurchsatz-Methoden erlauben heute das schnelle Durchmischen dieser Bibliotheken. Schultz et al. verwendeten verschiedene Strategien zur Synthese von Purinderivaten, sowohl in Lösung als auch an der festen Phase.^[11] Anhand dieser Zielverbindungen können grundlegende Struktur-Wirkungs-Beziehungen gegenüber CDKs abgeleitet werden.

Bei der von Schultz et al. entwickelten Festphasensynthese wurden die Purine an der C2-, N9- oder C6-Stellung über Glycinamido-, Ethyltetrahydropyranylether- oder 4-Aminobenzylamino-Gruppen an den festen Träger gebunden (Schema 6).^[11b,c,e] Der wesentliche Nachteil dieser Strategie besteht darin, dass auf diese Weise eine für strukturelle Variationen möglicherweise nützliche Stelle im Molekül verloren geht. Dieses Problem wurde aber durch eine geeignete Kombination von Fest- und Flüssigphasenchemie beseitigt, und zwar



Schema 6. Festphasen-Ansätze von Schultz et al. zur Synthese von Bibliotheken auf Purinbasis.

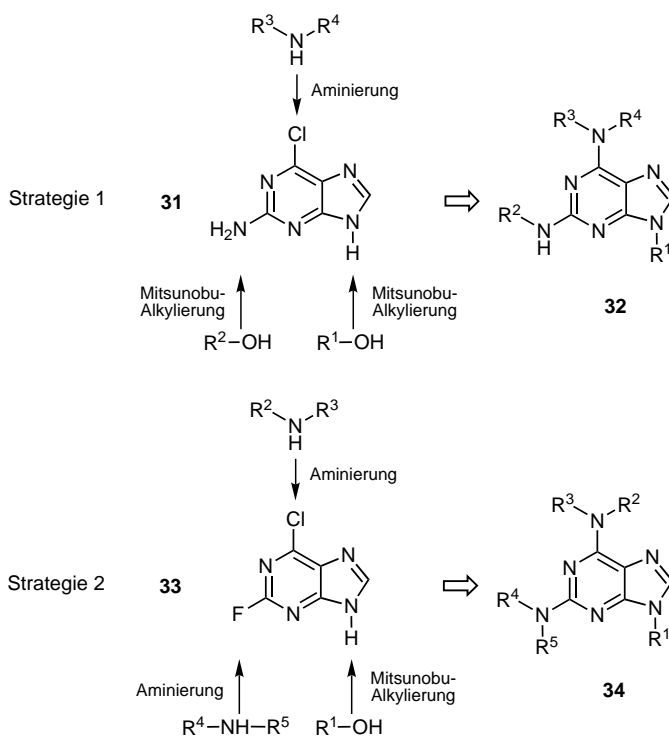
indem das Puringerüst in der in Schema 7 gezeigten Weise an der C6-Position immobilisiert wurde. Dadurch wurden verschiedenste Substitutionsmuster an den Positionen C2, C6 und N9 ermöglicht.



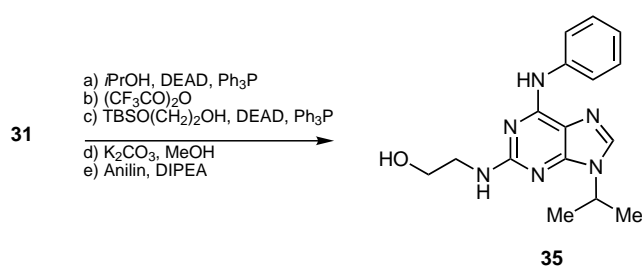
Schema 7. Kombination von Fest- und Flüssigphasenreaktionen zur Purinsynthese nach Schultz et al.

Zu Beginn der Festphasensynthese wird das 2,3-Disulfanyl-1-propanol-derivatisierte 4-Methylbenzhydrylamin (MBHA) mit verschiedenen primären Aminen reaktiv aminierte und dabei ans Harz gebunden.^[11c] Die Umsetzung der so erhaltenen Amine mit **26** erzeugt kombinatorische Vielfalt in C6-Stellung, wonach die N9- und C2-Funktionen durch Mitsunobu-Reaktionen und Aminierungen weiter funktionalisiert werden. In Schema 8 ist ein Beispiel für dieses Vorgehen dargestellt. Auch diese Strategie weist zwei grundsätzliche Mängel auf: 1) Ein sekundäres Amin kann in der C6-Position nicht direkt eingeführt werden, und 2) die Aminierung mit sperrigen Gruppen in der C2-Stellung verläuft nur langsam und in geringen Ausbeuten. Schultz et al. gelang es, diese Schwierigkeiten mit zwei neuen Lösungsphasen-Strategien zu beseitigen, die die Funktionalisierungsvielfalt der Bibliotheken dreifach substituierter Purinderivate ermöglichen (Schema 9).^[13]

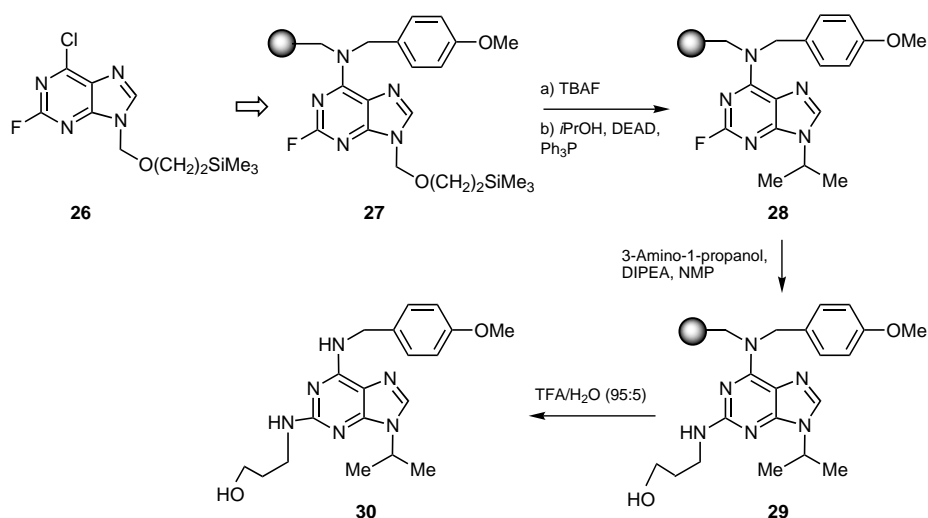
Für diese Strategien wurde 2-Amino-6-chlorpurin **31** bzw. 2-Fluor-6-chlorpurin **33** verwendet; letzteres ist aus dem käuflich erhältlichen **31** leicht zugänglich.^[11b] Bei der ersten Vorgehensweise (Schema 10) wird **31** stufenweise an den Positionen N9, C2 und C6 funktionalisiert. Die Einführung



Schema 9. Flüssigphasensynthese von Bibliotheken auf Purinbasis.



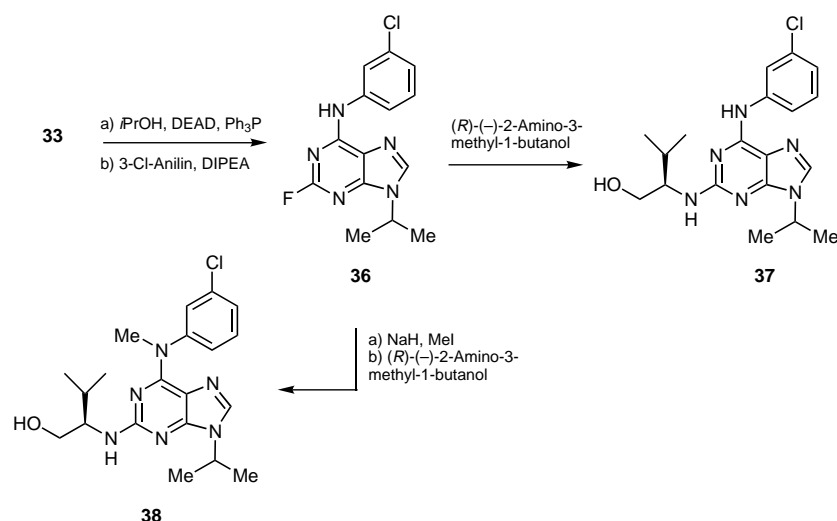
Schema 10. Beispiel einer Flüssigphasensynthese zur Herstellung von Bibliotheken auf Purinbasis (Strategie 1 aus Schema 9). TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl.



Schema 8. Die von Schultz et al. entwickelte Festphasen-Mehrstufigensynthese von Purinbibliotheken. TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid, DEAD = Diethylazodicarboxylat, NMP = *N*-Methylpyrrolidon, TFA = Trifluoressigsäure.

unterschiedlicher Substituenten an N9 gelang durch Mitsunobu-Reaktionen mit primären und sekundären Alkoholen. Um diese Reaktionen effizient durchführen zu können, wurde die Aminogruppe an C2 zuvor mit Trifluoressigsäureanhydrid acyliert. Schließlich erreichten die Autoren die Einführung verschiedener Aminoreste in der C6-Position bei erhöhten Temperaturen in Anwesenheit von *n*-Butanol (siehe z. B. **35**).

Die zweite Strategie unterscheidet sich von der eben beschriebenen durch die Reihenfolge, in der die verschiedenen Molekülpositionen substituiert werden, beruht aber im Wesentlichen auf denselben Reaktionen. Schema 11 zeigt ein Beispiel für diese Vorgehensweise in der Lösungsphase.



Schema 11. Beispiel einer Flüssigphasensynthese zur Herstellung von Bibliotheken auf Purinbasis (Strategie 2 aus Schema 9).

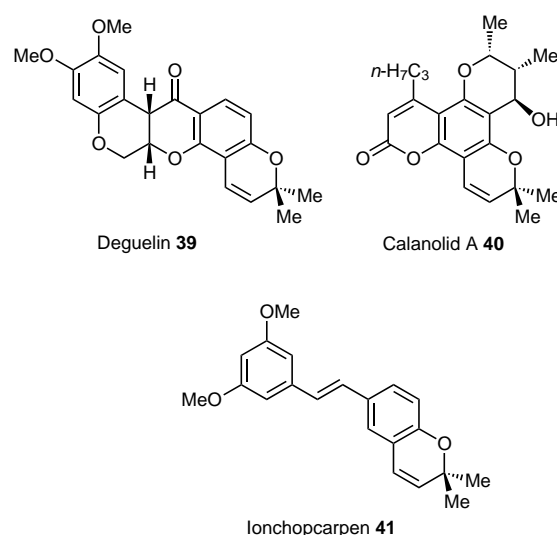
Hunderte, wenn nicht gar tausende an den Positionen C2, C6 und N9 vielfältig funktionalisierte Purin-Analoga wurden in mehreren Bibliotheken mit einer Kombination von Reaktionen in der Lösungsphase sowie an der Festphase synthetisiert. Zur Erhöhung der Affinität der Leitstrukturen und damit ihrer CDK-Inhibitionsaktivität können später iterative Synthesen angewandt werden. Es konnten bereits einige wirksame CDK-Inhibitoren mit Hilfe von Bioassays identifiziert werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass andere Purinderivate das Zellwachstum in bestimmten Phasen des Zellzyklus inhibieren, ebenso wie das Wachstum von Zellen, die mit bestimmten Tumoren in Verbindung gebracht werden.^[13] Schultz et al. konnten kürzlich die Myoseverin genannte Verbindung in Purinbibliotheken entdecken. Diese Substanz ist in der Lage, die reversible Spaltung von Muskelzellen in einkernige Fragmente zu induzieren,^[14] ein bedeutender Befund für die Regeneration von Geweben und die Wundheilung.

Erst kürzlich nutzten Bertozzi et al.^[15] auf Kinasen ausgegerichtete Bibliotheken zur Auswahl von Inhibitoren der Kohlenhydrat-Sulfotransferasen, wobei sie davon ausgingen, dass beide Enzymklassen auf ein ähnliches Substrat ansprechen. Überraschenderweise konnten sie mehrere Purinderivate als Leitstrukturen mit IC₅₀-Werten von 20 bis 40 μM ausfindig machen. Die so identifizierten Verbindungen werden als Template für das Design zukünftiger Bibliotheken mit erhöhter Affinität zu Kohlenhydrat-Sulfotransferasen dienen.

Auch Nicolaou et al. engagieren sich auf dem Gebiet der Festphasensynthese von Bibliotheken naturstoffähnlicher, niedermolekularer Verbindungen. Kürzlich berichteten sie über einen Linker auf Selenbasis und dessen Anwendung bei der Synthese von Benzopyranderivaten.^[16] Die Dimethylbenzopyraneinheit kommt in vielen Naturstoffen wie den Flavonoiden, Cumarinen, Rotenoiden, Stilbenoiden und den Chromenglykosiden als zentrales Strukturelement vor. Repräsentative Beispiele sind in Schema 12 gezeigt. Eine Hochdurchsatz-Synthese von solchen Derivaten könnte interessante Leitstrukturen mit vielfältigen biologischen Eigenschaften verfügbar machen. Die Synthese des Bromselanylharzes

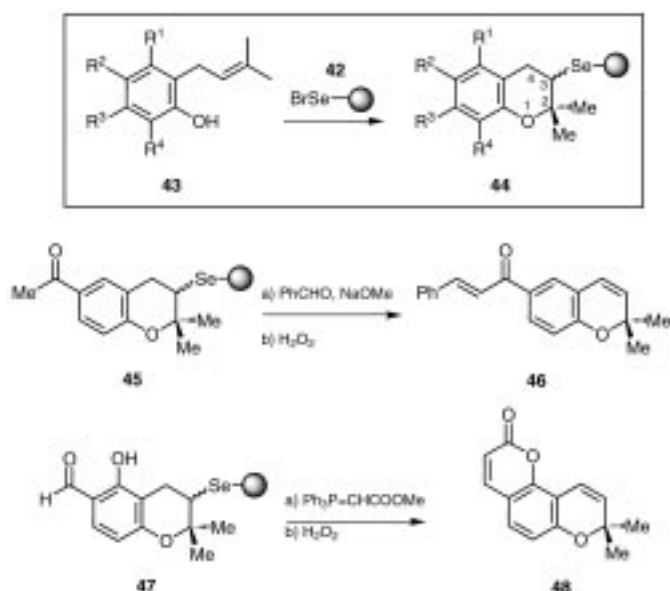
42 (Schema 13) ausgehend von kommerziell erhältlichem Polystyrolharz ist ein Schlüsselschritt dieses Konzepts. Lithiierung und anschließende Umsetzung mit Dimethylselenid lieferten das Methylselanylharz, welches durch Umsetzung mit elementarem Brom in **42** überführt wurde. Das Selanylbenzopyranderivat **44** schließlich wird erhalten, wenn das Harz **42** mit **43** zur Reaktion gebracht wird. Der Benzopyranrest konnte bei der oxidativen Aufarbeitung mit 33-proz. H₂O₂ vom Harz abgespalten werden, wobei zwischen C3 und C4 eine Doppelbindung eingeführt wird.

Diese äußerst vielseitige Methode konnte bereits auf eine Vielzahl von Substraten angewandt werden, die verschiedene funktionelle Gruppen am aromatischen Ring der Benzopyraneinheit enthalten. Mit **45** ließ

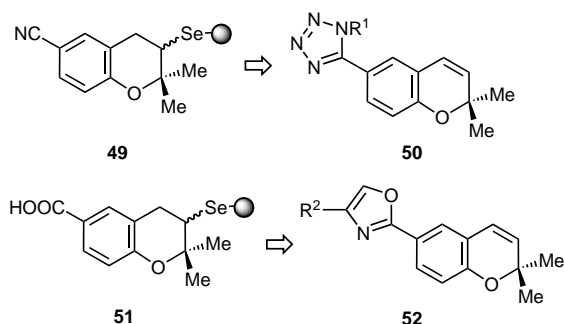


Schema 12. Von Dimethylbenzopyran abgeleitete Naturstoffe.

sich z. B. eine Aldolreaktion durchführen, die nach oxidativer Aufarbeitung **46** in hoher Ausbeute lieferte; aus **47** wurde durch Wittig-Reaktion nach oxidativer Aufarbeitung das Cumarinderivat **48** erhalten. Des Weiteren konnten Nicolaou et al. zeigen, dass funktionelle Gruppen der Festphasengebundenen Selanylbenzopyraneinheit nützliche Substanzen zugänglich machten. So wurde z. B. die Cyanverbindung **49** in wenigen Schritten (Umsetzung mit Trimethylzinnazid, dann Spaltung der N-Sn-Bindung durch Trifluoressigsäure) in das entsprechende Tetrazolderivat überführt (Schema 14). Auch das Oxazolderivat **52** wurde aus **50** in wenigen Stufen hergestellt. All diese Umsetzungen verlaufen im Allgemeinen in hohen Ausbeuten und sind somit nützlich für die Synthese biologisch relevanter naturstoffähnlicher Verbindungen. Nach den Erfolgen bei der Herstellung von Dimethylbenzopyranen mit dem Selen-funktionalisierten Harz gelang auch die Festphasensynthese von indolinartigen Substanzen auf dieser Basis.^[16c] Die von Nicolaou et al. entwickelten Ansätze sind einfach, äußerst effizient und konnten zur Herstellung



Schema 13. Selenharz-Ansatz von Nicolaou et al. zur Synthese von Dimethylbenzopyranen.



Schema 14. Umwandlung funktioneller Gruppen in Selenharz-gebundenen Dimethylbenzopyranen.

einer Vielzahl von Dimethylbenzopyran- und Indolbibliotheken eingesetzt werden.

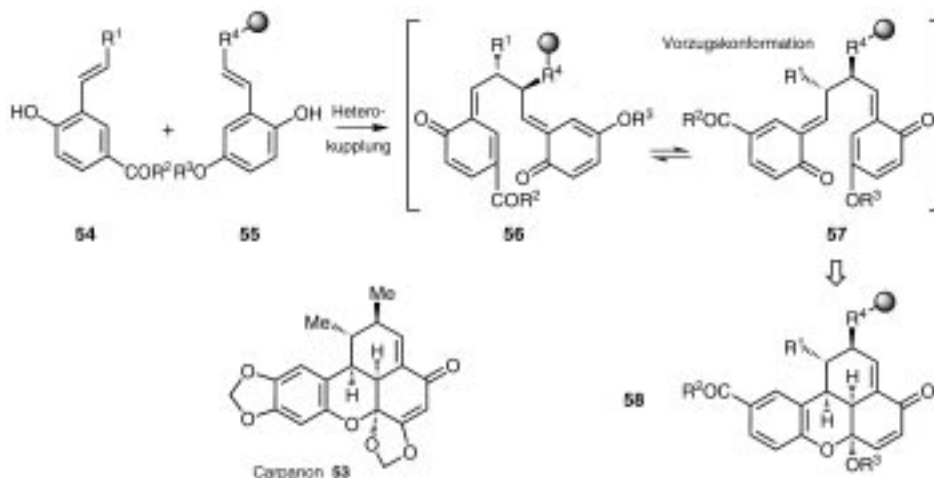
Shair et al. entwickeln Festphasenverfahren zur biomimetischen Synthese naturstoffähnlicher Verbindungen.^[17] Die biomimetische Synthese zwingt oft zur Verwendung von einfachen organischen Vorstufen und milden Reaktionsbedingungen. Die Idee von Shair et al. war, biomimetische Reaktionen an der festen Phase durchzuführen und zum Aufbau von Bibliotheken mit der Misch-und-Trenn-Technik zu verbinden. Als Testverbindung für diese Untersuchung wählten sie Carpanon **53** (Schema 15), einen Naturstoff aus der Gruppe der Benzoxanthenone. Die biomimetische Synthese von **53** gelang Chapman et al. 1971 mit einer stereoselektiven oxidativen Kupplung und anschließender intramolekularer Diels-Alder-Reaktion.^[18]

In Anlehnung an diese biomimetische Carpanon-Synthese führten

Shair et al. am festen Träger eine Kreuzkupplung mit anschließender intramolekularer Diels-Alder-Reaktion durch.^[17] Ihre Strategie sah vor, zwei unterschiedliche Hydroxystyrolerivate, **54** und **55**, einzusetzen. Das elektronenreichere Derivat **55** brachten sie dabei zur Vermeidung von Homo-Dimerisierung am festen Träger an. Zur Untersuchung der Kreuzkupplung wurden dann mehrere Oxidationsmittel ausprobiert, wobei mit $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ das gewünschte Kreuzkupplungsprodukt **58** am festen Träger gewonnen werden konnte. Interessanterweise konnte nach der Abspaltung vom Träger nur ein einziges Isomer des Produkts nachgewiesen werden, und die Cycloaddition verlief mit bemerkenswerter Stereoselektivität. Diese Methode wurde an mehreren Verbindungen getestet und lieferte nach Abspaltung tetracyclische Benzoxanthenonderivate in recht guten Ausbeuten. Zum ersten Mal konnte damit eine biomimetische Synthese erfolgreich auf die feste Phase übertragen werden. Der von Shair et al. vorgestellte Ansatz ist absolut einzigartig. Würde man ihn zum Aufbau von Bibliotheken aus strukturell komplexen und vielfältigen naturstoffähnlichen Verbindungen einsetzen, könnte deren Einsatz in der Genom- und Proteomforschung möglich werden.

Die hier beschriebenen Methoden ermöglichen es, eine Vielfalt von naturstoffähnlichen Substanzen durch Hochdurchsatz-Synthesen herzustellen. Wenn wir das letzte Jahrhundert einmal als Ära der stereoselektiven organischen Synthese bezeichnen, so wird die organische Synthese mit Zielrichtung funktionelle Vielfalt in den kommenden Jahren sicherlich wesentlich zum Verständnis der biologischen Funktionen von Zielstrukturen der Genom- und der Proteomforschung beitragen.

- [1] Ein exzellenter, umfassender Aufsatz über „den Stand der Totalsynthese zu Beginn des 21. Jahrhunderts“: K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, N. Winssinger, P. S. Baran, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 46; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 44.
- [2] Die verschiedenen Aspekte der kombinatorischen Chemie wurden in den letzten Jahren in mehreren Büchern behandelt, z.B.: a) „Molecular Diversity and Combinatorial Chemistry Libraries and Drug Discovery“: *ACS Symp. Ser.* **1996**; b) *Combinatorial Chemistry—Synthesis and Applications* (Eds.: S. R. Wilson, A. W. Czarnik), Wiley,



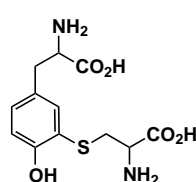
Schema 15. Der biomimetische Ansatz von Shair et al. zur Synthese von naturstoffähnlichen Benzoxanthenonen.

- Toronto, **1997**; c) *Combinatorial Peptides and Nonpeptide Libraries—A Handbook* (Ed.: G. Jung), VCH, New York, **1996**.
- [3] S. L. Schreiber, *Science* **2000**, 287, 1964.
- [4] S. L. Schreiber, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 1127.
- [5] a) D. S. Tan, M. A. Foley, M. D. Shair, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 8565; b) D. S. Tan, M. A. Foley, B. R. Stockwell, M. D. Shair, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9073, zit. Lit.
- [6] a) Unveröffentlichte Ergebnisse von Schreiber et al.; b) J. Carcamo, A. Zentella, J. Massague, *Mol. Cell. Biol.* **1995**, 15, 1573; c) B. R. Stockwell, S. L. Schreiber, *Curr. Biol.* **1998**, 8, 761.
- [7] D. Lee, J. Sello, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10648.
- [8] R. H. Grubbs, S. Chang, *Tetrahedron* **1998**, 54, 4413.
- [9] P. Cohen, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, 3, 459.
- [10] T. M. Sielecki, J. F. Boylan, P. A. Benfield, G. L. Tranior, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 1.
- [11] a) M. T. Fiorini, C. Abell, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 1827; b) N. S. Gray, S. Kwon, P. G. Schultz, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1161; c) N. S. Gray, L. Wodicka, A.-M. W. H. Thunnissen, T. C. Norman, S. Kwon, H. Espinoza, D. O. Morgan, G. Barnes, S. LeClerc, L. Meijer, S.-H. Kim, D. J. Lockhart, P. G. Schultz, *Science* **1998**, 281, 533; d) M. Legraverend, O. Ludwig, E. Bisagni, S. LeClerc, L. Meijer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 793; e) T. C. Norman, N. S. Gray, J. T. Koh, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7430; f) S. R. Schow, R. L. Mackman, C. L. Blum, E. Brooks, A. G. Horsma, A. Joly, S. S. Kerwar, G. Lee, D. Shiffman, M. G. Nelson, X. Wang, M. M. Wick, X. Zhang, R. T. Lum, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2697; g) D. A. Nugiel, L. A. M. Cornelius, J. W. Corbett, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 201.
- [12] a) U. Schulze-Gahmen, J. Brandsen, H. D. Jones, D. O. Morgan, L. Meijer, J. Vesely, S.-H. Kim, *Protein Struct. Funct. Genet.* **1995**, 22, 378; b) W. F. De Azevedo, Jr., H.-J. Mueller-Dieckmann, U. Schulze-Gahmen, P. J. Worland, E. Sausville, S.-H. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 2735.
- [13] Y.-T. Chang, N. S. Gray, G. R. Rosania, D. P. Sutherlin, S. Kwon, T. C. Norman, R. Sarohia, M. Leost, L. Meijer, P. G. Schultz, *Chem. Biol.* **1999**, 6, 361.
- [14] G. R. Rosania, Y.-T. Chang, O. Perez, D. Sutherlin, H. Dong, D. J. Lockhart, P. G. Schultz, *Nat. Biotechnol.* **2000**, 18, 304.
- [15] J. I. Armstrong, A. R. Portley, Y.-T. Chang, D. M. Nierengarten, B. N. Cook, K. G. Bowman, A. Bishop, N. S. Gray, K. M. Shokat, P. G. Schultz, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1359; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1303.
- [16] a) K. C. Nicolaou, J. A. Pfefferkorn, G.-Q. Cao, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 750; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 734; b) K. C. Nicolaou, G.-Q. Cao, J. A. Pfefferkorn, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 755; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 739; c) K. C. Nicolaou, A. J. Roecker, J. A. Pfefferkorn, G.-Q. Cao, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 2966.
- [17] C. W. Lindsley, L. K. Chan, B. C. Goess, R. Joseph, M. D. Shair, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 422.
- [18] O. L. Chapman, M. R. Engel, J. P. Springer, J. C. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 6696.

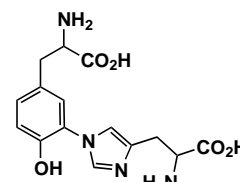
Chemisch modifizierte Aminosäuren in O₂-bindenden oder -aktivierenden Kupferproteinen**

Malcolm A. Halcrow*

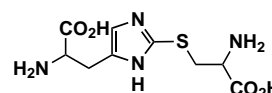
Es ist eine interessante Beobachtung, dass vier der sechs Klassen von Kupferoxidasen und Monooxygenasen, deren Strukturen bekannt sind,^[1–3] eine chemisch modifizierte Aminosäure enthalten, die als Ligand entweder direkt an das aktive, Kupfer-haltige Zentrum gebunden ist oder sich in geringer Entfernung davon befindet. Einige dieser ungewöhnlichen Reste wie die TyrCys-, HisCys- und TyrHis-Einheiten entstammen einer Quervernetzungsreaktion zwischen zwei Aminosäureseitenketten. Die Cofaktoren 2,4,5-Trihydroxyphenylalaninichinon (Topachinon, TPQ) und Ly-syltyrosylchinon (LTQ) werden dagegen durch Monooxygenierung eines Tyrosinrestes in der Seitenkette mit nachfolgendem nucleophilem Angriff an das resultierende *ortho*-Chinon erzeugt. Es ist zwischen 9 und 18 Jahre her, dass die HisCys-,^[4] TyrCys-^[5] und TPQ-Reste^[6] erstmals in ihren entsprechenden Proteinen entdeckt wurden. Trotzdem ist unser Verständnis



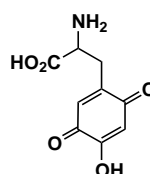
TyrCys



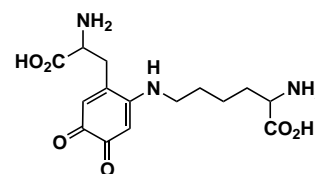
TyrHis



HisCys



TPQ



LTQ

[*] Dr. M. A. Halcrow
School of Chemistry
University of Leeds
Woodhouse Lane, Leeds LS2 9JT (Großbritannien)
Fax: (+44)113-233-6565
E-mail: M.A.Halcrow@chem.leeds.ac.uk

[**] Der Autor dankt der Royal Society (London) für ein Stipendium.