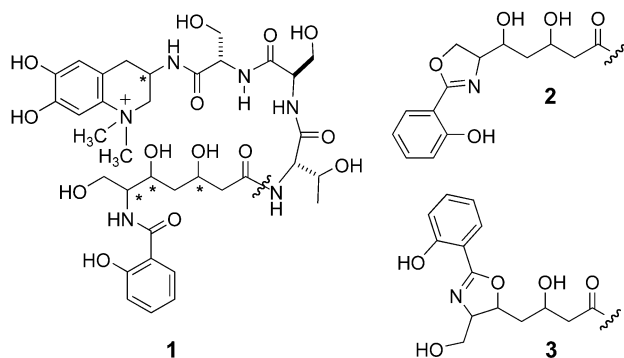


Biomimetische Synthesen

Eine biomimetische Syntheseroute zum
Peptidalkaloid Anachelin**

Karl Gademann* und Yann Bethuel

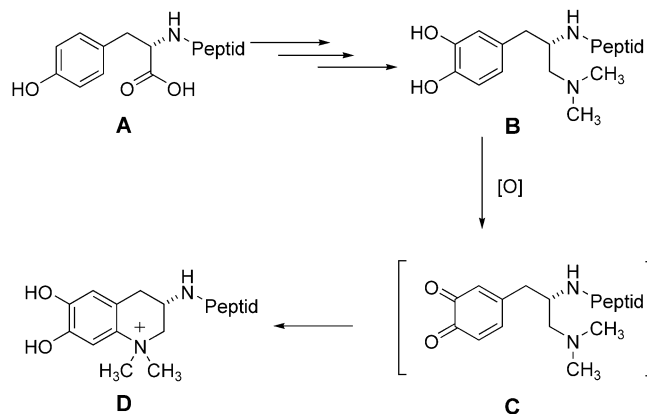
Die Aufnahme und Speicherung von Eisen ist wegen seiner geringen Bioverfügbarkeit für fast alle Lebewesen eine zentrale Herausforderung. Obwohl Cyanobakterien zu den stammesgeschichtlich erfolgreichsten Organismen gehören, ist interessanterweise bisher nur sehr wenig über die molekularen Mechanismen ihrer Eisenaufnahme bekannt. So wurden erst kürzlich die ersten komplexen Sekundärmetaboliten aus *Anabaena cylindrica* isoliert,^[1] für die eine biologische Funktion als Eisenligand (Siderophor) postuliert wurde. Nachdem Budzikiewicz et al. Mischungen von Anachelin H (**1**) und Anachelin-1 (**2**) isoliert und von **1** die



Konstitution bestimmt hatten,^[1] gelang wenig später Murakami et al. die Isolierung und Strukturaufklärung von **2** und Anachelin-2 (**3**).^[2] Diese aus Alkaloid-, Peptid- und Polyketideinheiten zusammengesetzten Verbindungen weisen einige interessante Strukturmerkmale auf, etwa den in Naturstoffen sehr seltenen Tetrahydrochinolinring mit einem quartären N-Atom sowie eine polyhydroxylierte ϵ -Aminosäure.^[3] Bis heute blieb jedoch ungeklärt, ob und wie diese Naturstoffe Eisen komplexieren und welche der Verbindungen **1–3** als Siderophore biologisch aktiv sind. Außerdem sind auch die absolute und relative Konfiguration an vier stereogenen Zentren unbekannt. Da diese Fragen durch Totalsyn-

these der Naturstoffe beantwortet werden können, wählten wir Anachelin H (**1**) zum Gegenstand unserer Untersuchungen.^[4]

Die Biogenese der Anacheline ist unbekannt, jedoch könnten in der Biosynthese des einzigartigen Tetrahydrochinolinium-Chromophors folgende Schlüsselschritte eine Rolle spielen (Schema 1): Als Vorstufe könnte das Peptid **A**



Schema 1. Hypothetischer Biosyntheseweg zum Anachelin-Chromophor **D**. Ausgehend vom Tyrosinpeptid **A** könnte das Schlüsselintermediat **B** erhalten werden. Anschließende Oxidation zum *ortho*-Chinon **C** und spontane intramolekulare Azaanellierung ergäben das Chromophor **D**.

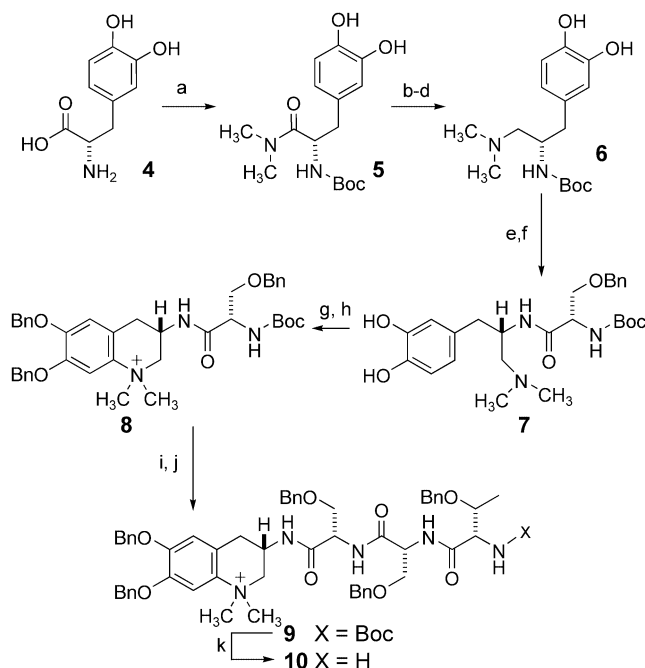
vorliegen, das C-terminal einen Tyrosinrest enthält. Oxidation zum Dihydroxyphenylalaninderivat mit anschließender reduktiver Aminierung und Methylierung ergäbe das Dopamininderivat **B**. Diese Vorstufe für einen Schlüsselschritt könnte danach durch enzymatische Oxidation in das *ortho*-Chinon **C** überführt werden, das über eine spontane Azaanellierung zum Anachelin-Chromophor **D** weiterreagieren könnte.^[5] Um diese hypothetische biogenetische Synthese im chemischen Labor nachzuvollziehen, wählten wir die Transformation **B** \rightarrow **D** als Schlüsselschritt unserer biomimetischen Synthesestrategie.^[6]

Als Ausgangsverbindung diente L-DOPA (**4**), dessen Aminogruppe zuerst mit einer Boc-Gruppe geschützt wurde (Schema 2). Aktivierung durch Bildung des gemischten Anhydrids und nachfolgendes Umsetzen mit Dimethylamin in THF ergab Boc-L-DOPA-dimethylamid (**5**) als kristallinen Feststoff.^[7] Eine dreistufige Reaktionssequenz (Entfernung der Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure, Boran-Reduktion, Schützen mit einer Boc-Gruppe)^[8] führte zum luftempfindlichen Boc-geschützten Diamin **6**, das nur unter partieller Zersetzung gereinigt werden konnte. Das zu **B** in Schema 1 analoge Schlüsselintermediat **7** wurde nach Abspaltung der Boc-Gruppe und Kupplung mit einem Serinderivat in guter Ausbeute erhalten. Nach Untersuchung der Wirkung verschiedener Oxidationsmittel stellten wir fest, dass die oxidative Azaanellierung von **7** unter Verwendung von Dianisyltelluroxid^[9] das gewünschte Cyclisierungsprodukt in einer Ausbeute von 80 % liefert. Diese Verbindung zersetzt sich wiederum leicht bei Kontakt mit Kieselgel, daher wurden die Hydroxygruppen benzyliert und so das quartäre Ammonium-

[*] Dr. K. Gademann, Y. Bethuel
Laboratorium für Organische Chemie
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
ETH Hönggerberg, 8093 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-632-1328
E-mail: gademann@org.chem.ethz.ch

[**] K.G. dankt Prof. Dr. E. M. Carreira für die großzügige finanzielle Unterstützung wie auch der Roche Research Foundation und dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

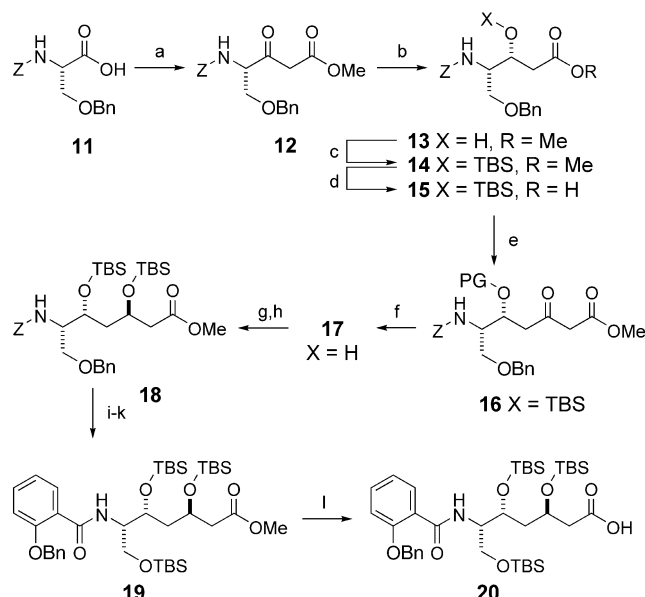
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



Scheme 2. a) 1. Boc_2O , Dioxan, aq. NaOH, 2. $i\text{BuOCOCl}$, THF, 3. $\text{HN}(\text{CH}_3)_2$, 61%; b) TFA, CH_2Cl_2 ; c) BH_3 , THF; d) Boc_2O , Dioxan, aq. NaOH, (16% über 3 Stufen ausgehend von 5); e) TFA, CH_2Cl_2 , quant.; f) Boc-L-Ser(OBzl)-OH, EDC, HOBT, 58%; g) Dianisyltelluroxid, CH_2Cl_2 , 80%; h) BzlBr, Cs_2CO_3 , Aceton, 85%; i) TFA, CH_2Cl_2 , quant.; j) Boc-L-Thr(OBzl)-D-Ser(OBzl)-OH, EDC, HOBT, 73%; k) TFA, CH_2Cl_2 , quant. Abkürzungen: Boc = *tert*-Butoxycarbonyl-, DOPA = 3,4-Dihydroxyphenylalanin, EDC = *N*-Ethyl-*N'*-(dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid, HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol, TFA = $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$.

salz **8** nach Säulenchromatographie an Kieselgel erhalten. Entfernung der N-terminalen Schutzgruppe und Kupplung mit dem geschützten Dipeptidderivat Boc-Thr-Ser-OH, das in vier Schritten leicht zugänglich ist,^[6] ergaben nach Boc-Abspaltung von **9** das Fragment **10**.

Wegen der unbekannten Konfiguration der ϵ -Aminosäure wählten wir eine flexible Synthesestrategie für den Aufbau des Aldolgerüsts: Die biomimetische C_2 -Homologisierung über eine gekreuzte Claisen-Kondensation mit anschließender Reduktion des β -Ketoesters erlaubt die Herstellung aller Isomere in guten Ausbeuten und wenigen Stufen. Unsere Synthese begann mit dem geschützten Serinderivat **11**, das über das Imidazolamid aktiviert und mit dem Mg-Salz des Malonsäuremonomethylesters unter milden Bedingungen nach Masamune^[10] umgesetzt wurde (Schema 3). Der so erhaltene β -Ketoester **12** wurde mit NaBH_4 bewusst mit geringer Selektivität reduziert, um so beide Diastereoisomere zu erhalten.^[11] Die sekundäre Hydroxygruppe von **13** wurde geschützt (\rightarrow **14**) und der Methylester verseift. Diese Reaktion erforderte sorgfältiges Optimieren der Bedingungen, da jeweils größere Mengen des entsprechenden γ -Lactams erhalten wurden. Die Carbonsäure **15** wurde wiederum durch eine Claisen-Kondensation zu **16** homologisiert und die Silylgruppe abgespalten. Eine stereoselektive 1,3-*anti*-Reduktion des Hydroxyketoesters **17** nach Evans^[12] und anschließendes Schützen mit einer TBS-Gruppe lieferte **18** in einer Ausbeute von 75%. Hydrogenolytische Abspaltung der

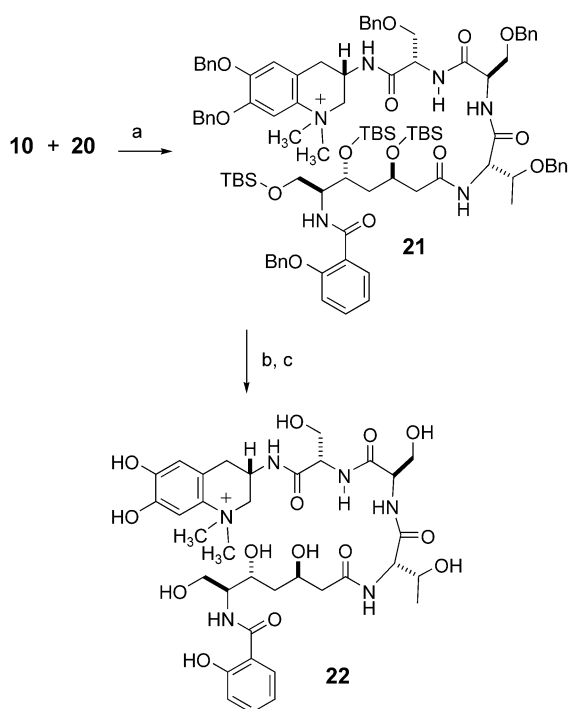


Scheme 3. a) 1. CDI, THF, 2. $\text{KO}_2\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, MgCl_2 , 71%; b) NaBH_4 , MeOH, Et_2O , -60°C , 90%, dann Trennung der Diastereoisomere, 48%; c) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , 78%; d) NaOH, MeOH, THF, 54%; e) 1. CDI, THF, 2. $\text{KO}_2\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, MgCl_2 ; f) TBAF (1 M in THF), 60% (über 2 Stufen ausgehend von **15**); g) $\text{Me}_4\text{NB}(\text{OAc})_3\text{H}$, AcOH, CH_3CN (d.r. > 95:5); h) TBSOTf, 2,6-Lutidin, CH_2Cl_2 , 75% (über 2 Stufen ausgehend von **17**); i) Pd/C, H_2 , MeOH; j) EDC, HOBT, 2-BzO-salicylsäure, CHCl_3 ; k) TBSOTf, Imidazol, DMAP, DMF, 70% (über 3 Stufen ausgehend von **18**); l) NaOH, MeOH, THF, quant. Abkürzungen: CDI = 1,1'-Carbonyldiimidazol, DMAP = 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin, TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, Tf = Triflat.

Benzylschutzgruppen, Kupplung mit einem Salicylsäurederivat und Schützen mit einer TBS-Gruppe ergab **19** (70% Ausbeute nach drei Stufen), dessen Methylester quantitativ zur Säure **20** hydrolysiert werden konnte.

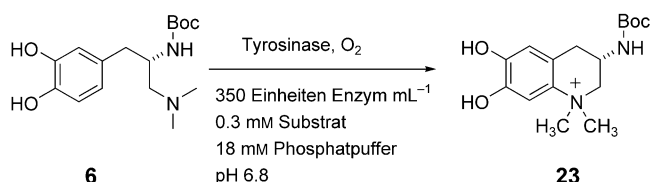
10 und **20** wurden unter Verwendung von EDC zum geschützten Anachelin-H-Derivat **21** gekuppelt (Schema 4). Die Benzylschutzgruppen wurden im sauren Medium (MeOH, AcOH) hydrogenolytisch abgespalten. Nachdem bei Verwendung von TBAF keine vollständige Entfernung der Schutzgruppe der TBS-geschützten sekundären Hydroxygruppen beobachtet worden war, erwies sich 1-proz. HCl in Methanol als Reagens der Wahl, um das vollständig von Schutzgruppen befreite **22** zu isolieren. Sowohl die exakte Molmasse der Verbindung **22** als auch das Fragmentierungsmuster im Massenspektrum sind identisch mit denjenigen einer Vergleichsprobe von Anachelin H (**1**);^[13] die ^1H -NMR-Spektren von **1** und **22** sind jedoch leicht unterschiedlich. Dies bedeutet wahrscheinlich, dass **22** ein Diastereoisomer von Anachelin H (**1**) ist.

Die hier gezeigte modulare Syntheseroute erlaubt uns die Herstellung aller fünfzehn möglichen Diastereoisomere von **22** und sollte so zur Bestimmung der absoluten und relativen Konfiguration von Anachelin H (**1**) führen. Des Weiteren liefert unsere Syntheseroute Intermediate, mit denen unsere biogenetische Hypothese untersucht und zum Beispiel die postulierte Kaskade **B** \rightarrow **D** in Schema 1 durch biochemische Experimente erhärtet werden kann. Es ist anzunehmen, dass



Schema 4. a) EDC, HOBt, CHCl_3 , 63 %; b) Pd/C, H_2 , MeOH, AcOH; c) 1-proz. aq. HCl in MeOH (45 % über 2 Stufen).

in dieser Transformation **C** spontan zu **D** weiterreagiert. Für den vorhergehenden Schritt postulieren wir, dass die Oxidation von **B** zu **C** durch ein Enzym vom Typ Catechol-Oxidase katalysiert werden kann. Dieses Postulat haben wir unter Verwendung eines Intermediates unserer Synthese überprüft. Als Modells substrat diente das Diamin **6**, das in 18 mM Phosphatpuffer bei pH 6.8 mit kommerziell erhältlicher Tyrosinase (Catechol-Oxidase, EC 1.14.18.1) aus Pilzen umgesetzt wurde (Schema 5). Interessanterweise konnten



Schema 5. Katalytische Oxidation des Diamins **6** durch O_2 mit einer Catechol-Oxidase.

wir nun die Bildung des Cyclisierungsprodukts **23** bei 305 nm UV-spektroskopisch verfolgen.^[14] Dieses biochemische Experiment erhärtet unsere biogenetische Hypothese und deutet darauf hin, dass eine Catechol-Oxidase an der Biosynthese des Anachelin-Chromophors beteiligt ist.

Wir haben hier eine biomimetische Synthesestrategie für Anachelin vorgestellt, die eine Tellur-vermittelte oxidative Azaanellierung sowie Claisen-Kondensationen unter milden Bedingungen als Schlüsselschritte enthält. Diese Syntheseroute ermöglicht es auch, Substrate herzustellen, mit denen sich unsere biogenetische Hypothese durch biochemische

Experimente wie die Tyrosinase-katalysierte Cyclisierung eines Modells substrats verifizieren lässt. Weitere Untersuchungen zur Biosynthese, zur Konfiguration von Anachelin H wie auch zum Mechanismus der Eisenaufnahme von *A. cylindrica* finden zurzeit statt.

Eingegangen am 3. Februar 2004 [Z53909]

Stichwörter: Alkaloide · Biomimetische Synthesen · Naturstoffe · Peptide · Polyketide

- [1] H. Beiderbeck, K. Taraz, H. Budzikiewicz, A. E. Walsby, *Z. Naturforsch. C* **2000**, 55, 681–687; H. Beiderbeck, Dissertation, Universität Köln, Deutschland, **2000**.
- [2] Y. Itou, S. Okada, M. Murakami, *Tetrahedron* **2001**, 57, 9093–9099. Diese Gruppe isolierte jedoch nicht Anachelin H (**1**), sondern zwei zu **1** isomere Ester der Salicylsäure mit C(5)-O und C(7)-O der ϵ -Aminosäure von Anachelin.
- [3] Diese Aminosäure kommt nur noch im Peptidantibiotikum Galantin vor. Isolierung: J. Shoji, R. Sakazaki, Y. Wakisaka, K. Koizumi, M. Mayama, S. Matsuura, *J. Antibiot.* **1975**, 28, 122–125; Synthese: N. Sakai, Y. Ohfune, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 998–1010.
- [4] Da sich **2** durch Hydrolyse des Oxazolinrings in **1** überführen lässt (siehe Lit. [1]), vermuten wir Anachelin H als den in der extrazellulären aquatischen Umgebung von *A. cylindrica* stabilisieren Siderophor.
- [5] Die Transformation **B** \rightarrow **C** ist analog formuliert zu der Biosynthese von *cyclo*-DOPA ausgehend von L-DOPA. Beide sind wichtige Intermediate in der Biogenese von Betanidin und der Melanine.
- [6] Synthesevorschriften und Charakterisierung aller neuen Verbindungen sind in den Hintergrundinformationen enthalten.
- [7] Wir haben keinen Hinweis darauf, dass die aromatischen Hydroxygruppen acyliert werden, da keine entsprechenden Nebenprodukte isoliert wurden.
- [8] Die Boc-Gruppe ist unter den Bedingungen der Boran-Reduktion nicht stabil.
- [9] S. V. Ley, C. A. Meerholz, D. H. R. Barton, *Tetrahedron* **1981**, 37, 213–223; für eine verwandte Anwendung siehe J. Clews, C. J. Cooksey, P. J. Garratt, E. J. Land, C. A. Ramsden P. A. Riley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 4306–4315.
- [10] D. W. Brooks, L. D.-L. Lu, S. Masamune, *Angew. Chem.* **1979**, 91, 76–78; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1979**, 18, 72–74; T. S. Mansour, C. A. Evans, *Synth. Commun.* **1990**, 20, 773–781.
- [11] Die Diastereoisomere wurden durch Kristallisation getrennt. Die relative Konfiguration von **13** wurde nach Derivatisierung zum N,O-Acetal mittels ^1H -NMR-Spektroskopie nach der Methode von Joullié zugeordnet: B. D. Harris, M. M. Joullié, *Tetrahedron* **1988**, 44, 3489–3500.
- [12] D. A. Evans, K. T. Chapman, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 3560–3578.
- [13] Wir danken Prof. Dr. H. Budzikiewicz für eine Probe von Anachelin H.
- [14] Eine Referenzprobe von **23** wurde durch chemische Oxidation von **6** mit Dianisyltelluroxid erhalten und charakterisiert (UV: $\lambda_{\text{max}} = 284 \text{ nm}$, $\epsilon = 3960 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, Schulter bei $\lambda = 305 \text{ nm}$, $\epsilon = 850 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).