

Glycosid-Synthesen

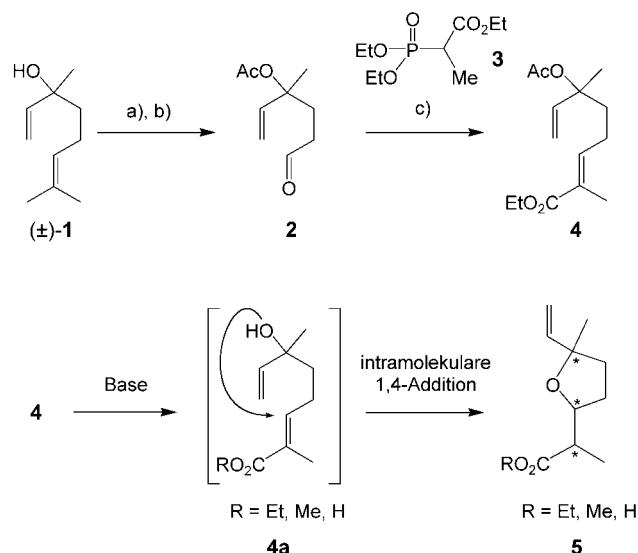
Synthese von dimeren Terpenglycosid-Seitenketten aus cytotoxischen Saponinen**

Sabine Reicheneder und Carlo Unverzagt*

Professor Axel Zeeck
zum 65. Geburtstag gewidmet

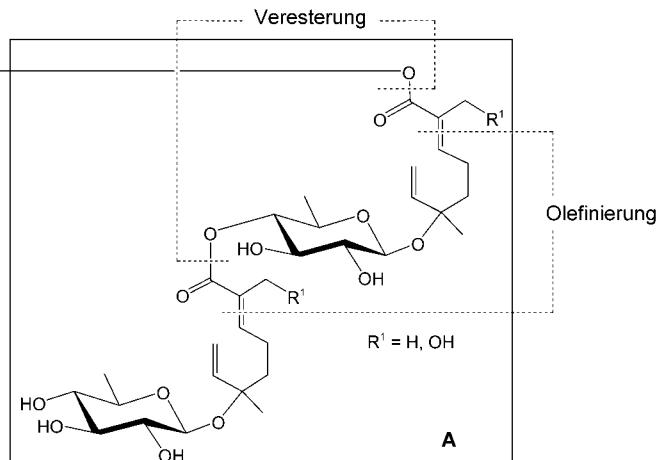
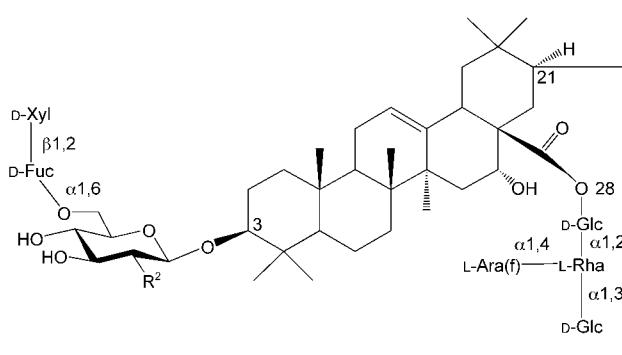
Saponine sind Naturstoffe aus Pflanzen und marinen Organismen, die ein breites Spektrum biologischer Aktivitäten zeigen und z.B. gegen Krebskrankungen wirksam sind.^[1] Die meisten Saponine bestehen aus einem lipophilen Steroid- oder Triterpengerüst und hydrophilen Oligosaccharid-Seitenketten. Die Strukturen der Saponine sind vielfältig, nur wenige aber enthalten eine zusätzliche Monoterpenenglycosid-Seitenkette (**A**, Schema 1), wie sie bei Julibrosiden,^[2] Elliptosiden^[3] und Avicinen^[4] gefunden wurde. Diese Verbindungen inhibieren durch das Auslösen von Apoptose selektiv das Wachstum von Tumorzellen^[4a,c] (IC_{50} : 0.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ bei Jurkat-Zellen) und verhindern eine chemisch induzierte Krebsentstehung bei Mäusen.^[4d,e] Die Terpenglycosid-Seitenkette **A** scheint den cytotoxischen Effekt zu verstärken.^[2a] Daher entwickelten wir für spätere Untersuchungen der biologischen Aktivität einen Syntheseweg zu diesem besonderen Strukturmotiv.

Unsere erste Strategie zur Synthese von Terpenglycosiden war die Funktionalisierung von Linalool **1** mit einem Carboxylat und nachfolgender Glycosylierung (Schema 2). Die



Schema 2. Funktionalisierung von Linalool: a) Ac₂O, NEt₃, DMAP (75%); b) 1. MCPBA, 0°C; 2. HIO₄·2H₂O, THF/H₂O (1.–2.: 65%); c) 3, NaH, THF (87%, E/Z=95:5). MCPBA = *m*-Chlorperbenzoësäure, DMAP = 4-Dimethylaminopyridin.

tertiäre Hydroxygruppe in racemischem Linalool, (\pm)-1, wurde acetyliert und die höher substituierte Doppelbindung unter Bildung des Aldehyds 2 selektiv gespalten. Dies gelang durch Epoxidierung mit MCPBA, Epoxidöffnung mit Periodsäure und anschließende Diolspaltung.^[5] Der flüchtige Aldehyd 2 wurde in einer Horner-Wadsworth-Emmons(HWE)-Reaktion^[7] mit dem Phosphonat 3 zum gewünschten Men-



Schema 1. Retrosynthese der Terpenglycosid-Seitenkette **A** aus cytotoxischen Saponinen.

[*] S. Reicheneder, Prof. C. Unverzagt
Bioorganische Chemie, Gebäude NW1
Universität Bayreuth, 95440 Bayreuth (Deutschland)
Fax: (+49) 921-555365
E-mail: carlo.unverzagt@uni-bayreuth.de

[**] Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung.

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

thiafolinsäureethylester **4**^[6] verlängert. Der tertiäre Alkohol konnte jedoch nicht ohne unerwünschte Nebenreaktionen freigesetzt werden: Die Desacetylierung mit einer Base in Methanol führte zu einer intramolekularen 1,4-Addition der Hydroxygruppe. Dabei wurde eine Mischung aus den acht möglichen Diastereomeren des Tetrahydrofuranderivats **5** erhalten; des Weiteren wurde die Umesterung zum Methyl-ester und die Hydrolyse zur freien Säure beobachtet.

Um die Verwendung einer Schutzgruppe für die OH-Funktion zu vermeiden, wurde der tertiäre Alkohol vor dem

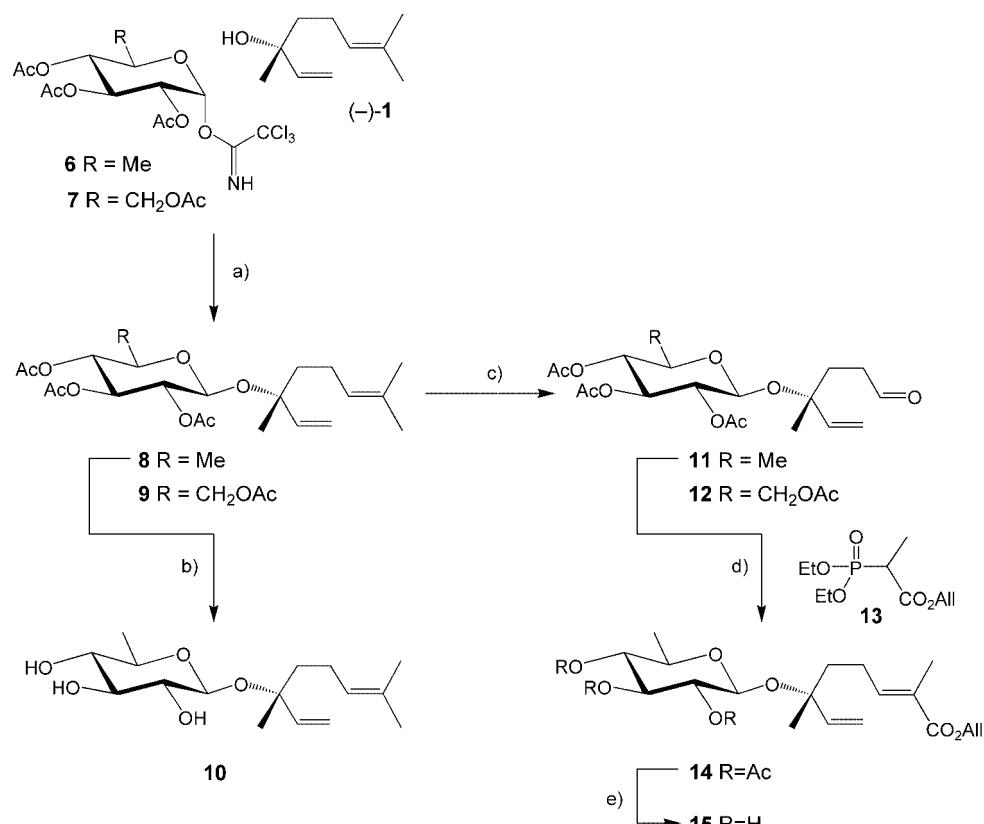
Aufbau des α,β -ungesättigten Esters glycosyliert. Die Glycosylierung^[8] von $(-)\text{-1}$ mit den Trichloracetimidaten von D-Quinovose (**6**^[9]) oder D-Glucose (**7**^[10]) ergab die entsprechenden Linalyl- β -glycoside **8** und **9**^[11] in zufriedenstellenden Ausbeuten (Schema 3). Vorteile dieser Strategie sind die chemische Stabilität und geringe Flüchtigkeit der Terpenglycoside.

Die Linalyl- β -glycoside **8** und **9** konnten leicht durch eine Epoxidierung und Periodatsspaltung in die Aldehyde **11** (61 %) und **12** (81 %) überführt werden. Die anschließende HWE-Reaktion von **11** mit dem Phosphonat **13**^[12] führte in 83 % Ausbeute zum Quinovosid **14** ($E/Z = 85:15$; Isomere können durch wiederholte Chromatographie getrennt werden), ohne dass der acetylierte Kohlenhydratrest angegriffen wurde. Zur selektiven Desacetylierung der Verbindungen **9** und **14** wurde eine Variante der Zemplén-Desacylierung eingesetzt, bei der katalytische Mengen von Natriumallylat in Allylkohol verwendet wurden. Mit dem entschützten Menthiafolylquinovosid **15** wurde nun ein monomerer Synthesebaustein für die Seitenkette **A** von Julibrosiden erhalten.

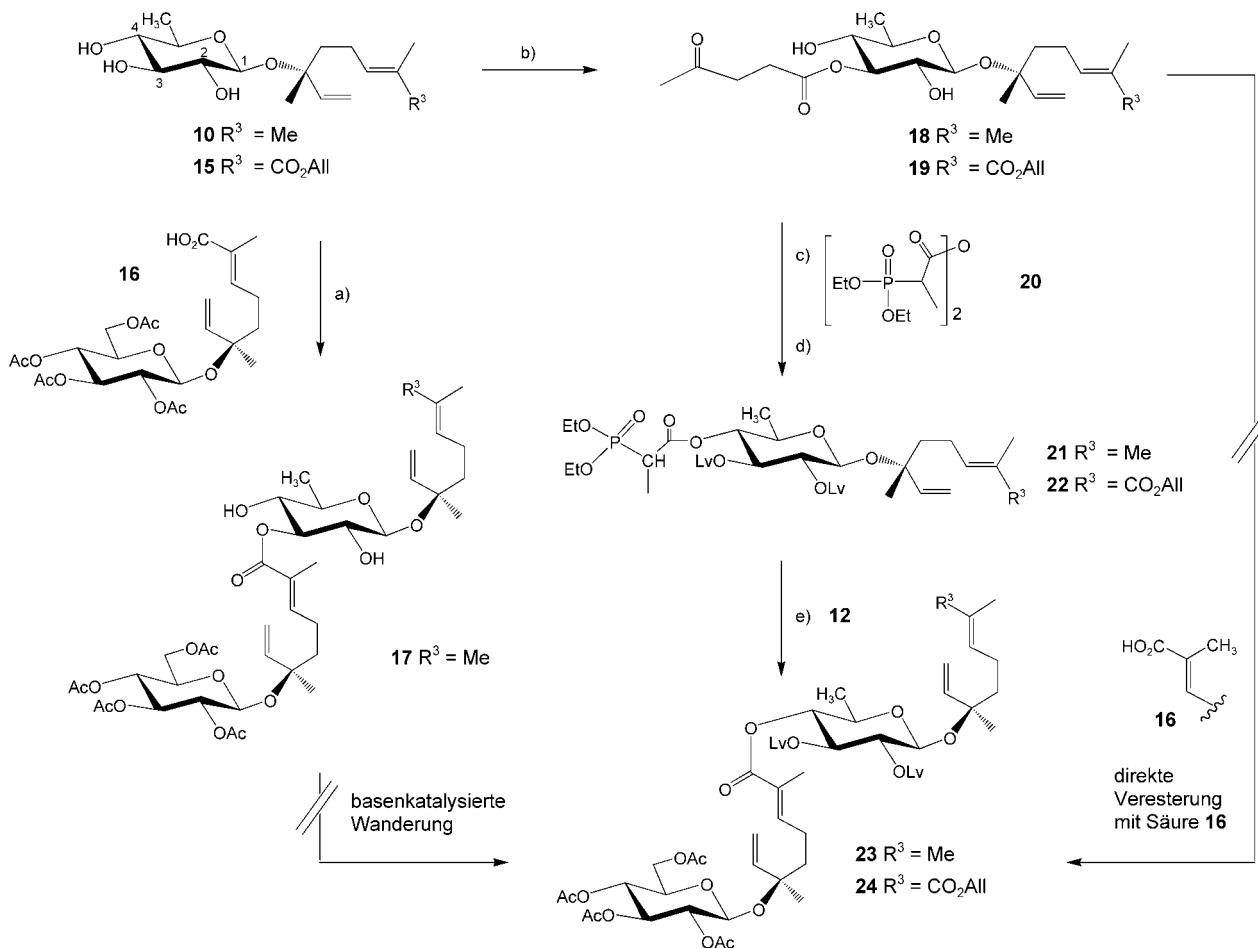
Um den extensiven Gebrauch von Schutzgruppen für den Aufbau von **A** zu vermeiden, versuchten wir, Verbindung **15** regioselektiv an der OH-4-Gruppe zu verestern. Wir stellten jedoch fest, dass bei der Acylierung der ungeschützten Quinovoside **10** und **15** mit verschiedenen Anhydriden die Position OH-3 mit guter bis hervorragender Regioselektivität

bevorzugt wird. Bisher wurden 3-monoacylierte Quinovoside nur durch enzymatische Reaktionen erhalten,^[13] während Stannylenacetale Mischungen lieferten.^[14] Die Regioselektivität wurde genutzt, um durch die Veresterung des Quinovosids **10** mit der Acetyl-geschützten Glucosylmenthafolinsäure **16**^[15] das dimere Terpenglycosid **17**, ein 3-O-acyliertes Regiosommer der natürlich vorkommenden 4-O-Acyl-Seitenkette **A**, zu erhalten (43 % Ausbeute; Schema 4). Die Umlagerung der isolierten Verbindung **17** mit Base gelang nicht (obwohl Acylgruppen dazu neigen, unter basischen Bedingungen zu benachbarten Hydroxygruppen zu wandern), vermutlich wegen der sperrigen und deaktivierten α,β -ungesättigten Terpensäure.

Daher wurde ein anderer Weg zu 4-O-acetylierten Quinovosiden entwickelt: Zunächst wurde Lävulinsäure unter Verwendung von Lävulinsäureanhydrid und katalytisch wirkendem DMAP als orthogonale Schutzgruppe in die OH-3-Position (**18**, **19**) eingeführt. Anders als bei früheren Acylierungsstudien an β -Quinovosiden^[16] war bei den Menthiafolylquinovosiden **18** und **19** OH-4 reaktiver als OH-2. Unter optimierten Yamaguchi-Bedingungen^[17] konnte die Modellverbindung Tiglinsäure (α -Methylcrotonsäure) mit dem O-4-Atom der Verbindungen **18** und **19** verknüpft werden, allerdings in niedrigen Ausbeuten; zudem wurden auch mehrfach acyierte Produkte erhalten. Der Versuch, die glucosyierte Säure **16** anzubinden, war nicht erfolgreich, es konnten nur Spuren regiosommerer Produkte nachgewiesen



Schema 3. Funktionalisierung von Terpenglycosiden: a) 5 Äquiv. $(-)\text{-1}$, $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , $-40^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ (**8**: 64 %, **9**: 55 %); b) NaOMe , MeOH (91 %); c) 1. MCPBA , 0°C ; 2. $\text{HIO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1.-2.: **11**: 61 %, **12**: 81 %); d) **13**, NaH , THF , $E/Z = 85:15$ (83 %); e) NaOAll , AllOH/THF (99 %). All = Allyl.



Schema 4. Regioselektive Acylierung und HWE-Verlängerung: a) **16**, EDCI, NEt₃, DMAP, CH₂Cl₂ (43 %) b) Lv₂O, Pyridin, DMAP, CH₂Cl₂, 0°C (**18**: 90 %, **19**: 84 %); c) **20**, Pyridin, CH₂Cl₂, 0°C (R = Me: 54 %, R = CO₂All: 53 %); d) Lv₂O, Pyridin, DMAP, CH₂Cl₂ (**21**: 87 %, **22**: 93 %); e) **12** (1 Äquiv.), NaH, THF (**23**: 40 %, **24**: 72 %). EDCI = N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid. Lv = Lävulinoyl.

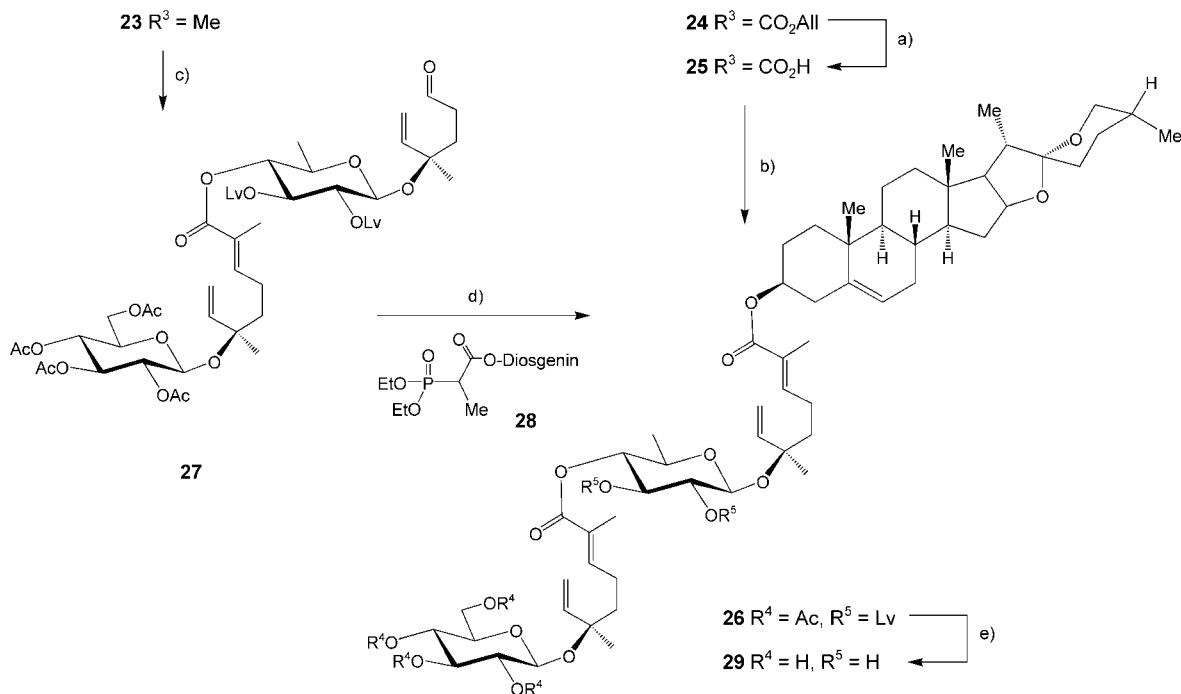
werden. Dies ist plausibel, da die Reaktivität von α,β -ungesättigten Säuren geringer ist als die von gesättigten.^[18] Eine α -Methylgruppe verringert die Reaktivität (Acidität) zusätzlich und erhöht die sterische Hinderung. Weiterhin macht bei **18** und **19** die Lävulinoylschutzgruppe an O-3 die OH-4-Position für die komplexe und unreaktive Säure **16** schwerer zugänglich.

Um den Flaschenhals in dieser Synthese zu umgehen, wurde versucht, die sterische Hinderung zu reduzieren. Untersucht wurde ein stufenweiser Aufbau der Terpensäure aus einem Phosphonat, das bereits an Position O-4 mit einem Zucker verknüpft ist, gefolgt von einer HWE-Verlängerung. Die gewünschte Phosphonat-Funktionalität wurde durch Veresterung mit dem Anhydrid **20** selektiv an der OH-4-Position von **18** und **19** eingeführt. Es wurden auch geringe Mengen von an OH-2 verestertem Produkt beobachtet, die aber durch Verzicht auf DMAP minimiert werden konnten. Anschließend wurde OH-2 mit Lävulininsäure geschützt, was die Terpenoyl-Quinovosid-Phosphonate **21** und **22** ergab. Diese Verbindungen wurden in einer HWE-Olefinierung mit dem Aldehyd **12** eingesetzt. Die Kupplung der beiden glycosylierten Synthesebausteine in Gegenwart von Natriumhydrid führte ausschließlich zu den gewünschten *E*-Diastereomeren.

reomeren der dimeren Terpenglycoside **23** und **24** in Ausbeuten von 40 bzw. 72 %.

Um Konjugate der dimeren Terpenglycosid-Seitenkette **A** mit einem Steroid zu erhalten, wurde **24** zunächst unter Palladium(0)-Katalyse desallyliert (Schema 5).^[19] Die resultierende Carbonsäure **25** wurde durch eine Yamaguchi-Veresterung an Diosgenin gekuppelt. Die Ausbeute an Neosaponinkonjugat **26** war jedoch mäßig (37 %), vermutlich wegen der niedrigen Reaktivität der α,β -ungesättigten und α -verzweigten Carbonsäure **25**. Daher wurde eine Kupplung über eine HWE-Olefinierung versucht. Der benötigte Aldehyd **27** wurde über eine regioselektive Epoxidierung der elektronenreichsten Doppelbindung der Linalyl-Modellverbindung **23** und eine anschließende Periodatspaltung erhalten. Die HWE-Olefinierung des Diosgenylphosphonats **28** (erhalten aus Diosgenin und Phosphonat **20**) mit dem Aldehyd **27** lieferte das komplexe Neosaponin **26** in bedeutend höheren Ausbeuten im Kupplungsschritt (52 %, es wurde selektiv das *E*-Diastereomer erhalten).

Abschließend wurde die Entschützung des Glycokonjugats **26** untersucht. Durch kurze Einwirkung von Natriummethanolat in Methanol wurden die Acetylreste selektiv entfernt, ohne dass die anderen Esterbindungen angegriffen



Schema 5. Kupplung komplexer Terpenglycoside an Diosgenin und Entschützung: a) $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$, Dimedon, THF (74%); b) Yamaguchi-Verestellung: 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid, NEt_3 , DMAP, Diosgenin, 1,2-Dichlorethan, Rückfluss (37%); c) 1. MCPBA, 0°C ; 2. $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1.–2.: 46%); d) **28**, NaH , THF (52%); e) 1. NaOMe , $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 5 min; 2. Hydrazinacetat (1.–2.: 93%). Lv = Lävulinoyl.

wurden. Die Lävulinoylreste wurden mit Hydrazinacetat abgespalten und lieferten das Neosaponin **29**,^[20] das eine abgewandelte dimere Seitenkette (**A**) von Julibrosiden trägt. Damit sind nun synthetische Terpenglycosid-Konjugate (**29**) zugänglich, was die Untersuchung der biologischen Eigenschaften dieser ungewöhnlichen Seitenketten von cytotoxischen Saponinen ermöglicht.

Die hier vorgestellte Synthesestrategie ist der erste präparative Zugang zu Terpenglycosid-Seitenketten von cytotoxischen Saponinen. Die HWE-Olefinierung von selektiv Phosphonat-substituierten Glycosiden mit Terpen-Aldehyden ist der Schlüsselschritt beim Aufbau dieser Glykокonjugate.^[21] Die Anwendung dieser flexiblen Strategie zur Umsetzung von unterschiedlich konfigurierten und funktionalisierten Terpenen wird zurzeit untersucht.

Eingegangen am 17. September 2003,
veränderte Fassung am 2. April 2004 [Z52895]

Stichwörter: Kohlenhydrate · Naturstoffe · Olefinierungen · Saponine · Tumortherapeutika

- [1] a) K. Hostettmann, A. Marston, *Saponins*, Cambridge University Press, 1995; b) „Bioactive Natural Products (Part B)“: M. A. Lacaille-Dubois, H. Wagner, *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2000**, 21, 633–687.
- [2] a) T. Ikeda, S. Fujiwara, J. Kinjo, T. Nohara, Y. Ida, J. Shoji, T. Shingu, R. Isobe, T. Kajimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, 68, 3483–3490; b) T. Ikeda, S. Fujiwara, K. Araki, J. Kinjo, T. Nohara, T. Miyoshi, *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 102–107; c) K. Zou,
- [3] J. A. Beutler, Y. Kashman, L. K. Pannell, J. H. Cardellina II, M. R. A. Alexander, M. S. Balaschak, T. R. Prather, R. H. Shoemaker, M. R. Boyd, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1509–1517.
- [4] a) V. Haridas, M. Higuchi, G. S. Jayatilake, D. Bailey, K. Mujoo, M. E. Blake, C. J. Arntzen, J. U. Guterman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 5821–5826; b) G. S. Jayatilake, D. R. Freeberg, Z. Liu, S. L. Richheimer, M. E. Blake (Nieto), D. T. Bailey, V. Haridas, J. U. Guterman, *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 779–783; c) K. Mujoo, V. Haridas, J. J. Hoffmann, G. A. Wachter, L. K. Hutter, Y. Lu, M. E. Blake, G. S. Jayatilake, D. Bailey, G. B. Mills, J. U. Guterman, *Cancer Res.* **2001**, 61, 5486–5490; d) M. Hanausek, P. Ganesh, Z. Walaszek, C. J. Arntzen, T. J. Slaga, J. U. Guterman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 11551–11556; e) V. Haridas, C. J. Arntzen, J. U. Guterman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 11557–11562.
- [5] R. Croteau, D. M. Satterwhite, D. E. Cane, C. C. Chang, *J. Biol. Chem.* **1986**, 261, 13438–13445.
- [6] Y. Hiraga, S. Izumi, T. Hirata, T. Suga, *Chem. Lett.* **1991**, 49–52.
- [7] L. Horner, H. Hoffmann, H. G. Wippel, *Chem. Ber.* **1958**, 91, 61–63.
- [8] O. Mbairarou, T. Ton-That, C. Tapiéro, *Carbohydr. Res.* **1994**, 253, 79–99.
- [9] Z.-H. Jiang, X.-B. Han, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 1179–1184.
- [10] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, 21–123.
- [11] H. Paulsen, B. Lê-Nguyễn, V. Sinnwell, V. Heemann, F. Seehofer, *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 1513–1536.
- [12] W. R. Roush, R. J. Sciotti, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 7411–7419.
- [13] B. Danieli, F. Peri, G. Roda, G. Carrea, S. Riva, *Tetrahedron* **1999**, 55, 2045–2060.

- [14] E. A. Khatuntseva, A. A. Sherman, A. S. Shashkov, J. Dabrowski, N. E. Nifant'ev, *Bioorg. Khim.* **1997**, 23, 228–233; *Russ. J. Bioorg. Chem. (Engl. Transl.)* **1997**, 23, 205–210.
- [15] **16** wurde aus dem Aldehyd **12** durch Olefinierung mit dem Phosphonat **13** und anschließende, Pd⁰-katalysierte Desalylierung erhalten.^[19]
- [16] Y. Kondo, K. Miyahara, N. Kashimura, *Can. J. Chem.* **1973**, 51, 3272–3276.
- [17] a) J. Inanaga, K. Hirata, H. Saeki, T. Katsuki, M. Yamaguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, 52, 1989–1993; b) F. Scheufler, M. E. Maier, *Synlett* **2001**, 1221–1224.
- [18] J. J. Sudborough, E. R. Thomas, *J. Chem. Soc.* **1911**, 99, 2307–2319.
- [19] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 49–50; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, 23, 71–72.
- [20] **29**: $R_f = 0.34$ (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 10:1); $[\alpha]_D^{27} = -36.3$ ($c = 0.80$, CH₂Cl₂); ¹H-NMR (500 MHz, [D₆]DMSO, D = Diosgenin, G = Glucose, Q = Quinovose, T = Monoterpene): $\delta = 6.69$ (t, $J = 7$ Hz, 1H, T-3), 6.66 (t, $J = 7$ Hz, 1H, T-3'), 5.98 (dd, $J_{trans} = 17.6$, $J_{cis} = 11.0$ Hz, 1H, T-7), 5.92 (dd, $J_{trans} = 17.6$, $J_{cis} = 11.0$ Hz, 1H, T-7'), 5.37–5.30 (m, 1H, D-6), 5.22–5.02 (m, 6H, 2T-8, Q-OH-2, Q-OH-3), 4.87 (d, $J_{2,OH} = J_{3,OH} = 4.4$ Hz, 2H, G-OH-2, G-OH-3), 4.82 (d, $J_{4,OH} = 4.4$ Hz, 1H, G-OH-4), 4.52–4.45 (m, 1H, D-3), 4.42 (dd, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.3$ Hz, 1H, Q-4), 4.32–4.24 (m, 3H, D-16, Q-1, G-6OH), 4.17 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, G-1), 3.64–3.56 (m, 1H, G-6a), 3.44–3.34 (m, 4H, G-6b, D-26a, Q-5, Q-3), 3.19 (dd, $J_1 = J_2 = 11$ Hz, 1H, D-26b), 3.15–2.88 (m, 5H, G-3, Q-2, G-4, G-5, G-2), 2.32–2.16 (m, 6H, D-4, 2T-4), 2.03–1.71 (m, 11H, D-15a, D-7a, D-1a, D-20, D-2a, 2T-10), 1.71–1.43 (m, 14H, D-12a, D-17, 2T-5, D-8, D-24a, D-2b, D-7b, D-25, D-11a, D-23), 1.43–0.87 (m, 22H, D-11b, D-24b, 2T-9, D-15b, D-12b, D-14, D-1b, D-19, Q-6, D-9, D-21), 0.75–0.70 ppm (m, 6H, D-18, D-27); ¹³C-NMR (125.8 MHz, [D₆]DMSO): $\delta = 166.6$, 166.5 (2T-1), 143.5, 143.3, 142.9, 142.5 (2T-3, 2T-7), 139.5 (D-5), 127.0, 126.8 (2T-2), 121.9 (D-6), 114.1, 113.8 (2T-8), 108.4 (D-22), 97.70 (G-1), 97.56 (Q-1), 80.2 (D-16), 78.7, 78.6 (2T-6), 77.0 (G-3), 76.6 (G-5), 75.9 (Q-4), 73.8 (Q-3, Q-2), 73.5 (G-2), 73.2 (D-3), 70.1 (G-4), 68.8 (Q-5), 65.9 (D-26), 61.8 (D-17), 61.1 (G-6), 55.7 (D-14), 49.4 (D-9), 41.1 (D-20), 39.1 (D-12), 37.68, 37.64, 37.57 (2T-5, D-4), 37.1, 36.5 (D-10, D-13), 36.2 (D-1), 31.48, 31.43 (D-7, D-15), 30.92 (D-8), 30.90 (D-23), 29.8 (D-25), 28.5 (D-24), 27.4 (D-2), 24.05, 24.02 (2T-9), 22.79, 22.65 (2T-4), 20.3 (D-11), 19.0 (D-19), 17.7 (Q-6), 17.1 (D-27), 16.0 (D-18), 14.6 (D-21), 12.31, 12.21 ppm (2T-10); ESI-MS: *m/z* ber. für [C₅₀H₉₀O₁₆ + Na]: 1077.6, gef: 1077.7 [M+Na].
- [21] Auch die Veresterung des Phosphonats **20** mit Triterpenalkoholen mit einer sekundären Neopentyl-OH-Gruppe wurde durchgeführt; die nachfolgende HWE-Verlängerung wird derzeit untersucht.