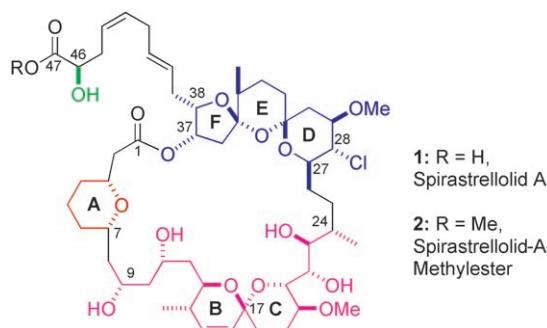


Totalsynthese des Enzyminhibitors Spirastrellolid A – Bestätigung der Konfiguration

Michael V. Perkins*

Enzyminhibitoren · Makrolide · Synthesemethoden ·
Totalsynthesen · Tumortherapie

Die Suche nach neuen Verbindungen mit Wirkung gegen die Progression des Krebszellzyklus in der Mitose führte zur Entwicklung von Assays auf Zellbasis, die beim Screening von Naturstoffextrakten die Mitosehemmung nachweisen. Bei einer dieser Untersuchungen durch Andersen et al. wurde 2003^[1] Spirastrellolid A (**1**) in Form seines Methylesters **2** (Schema 1) aus dem Meeresschwamm *Spirastrella coccinea*



Schema 1. Revidierte Struktur von Spirastrellolid A.

isoliert. **1** ist ein starker Proteinphosphatase-2A-Inhibitor ($IC_{50} = 1 \text{ nM}$), bewirkt aber im Unterschied zu anderen mitosehemmenden Schwamm-Makroliden, z. B. Spongistatin, *in vitro* keine Tubulinpolymerisation. Stattdessen beschleunigt es den Eintritt der Zellen aus anderen Zellzyklusstufen in die Mitose, bevor es die Mitose auf ähnliche Weise wie die Phosphatase-Inhibitoren aus der Gruppe der Okadasäure hemmt.^[2]

Der für Spirastrellolid A (**1**) zuerst vorgeschlagenen Struktur fehlten stereochemische Details, aber 2004 wurde eine revidierte Struktur veröffentlicht.^[2] **1** hat ein Grundgerüst aus 47 Kohlenstoffatomen mit immerhin 21 Chiralitätszentren, von denen alle bis auf eines zu einem 38-gliedrigen Makrocyclus gehören, der drei Cycloether-Untereinheiten (A-, BC- und DEF-Ringe) enthält. Ring A ist ein einfaches

Tetrahydropyran, während das BC-Ringsystem ein 6,6-Spiroketal ist und das DEF-Ringsystem aus einem ungewöhnlichen, chlorierten 5,6,6-Trioxadispiroketal besteht. Zu beachten ist, dass die relativen Konfigurationen innerhalb der drei Fragmente C3–C7, C9–C24 und C27–C38 isoliert ermittelt wurden und ihre stereochemische Beziehung zueinander in dieser revidierten Struktur nicht bestimmt wurde. Die absolute Konfiguration des distalen C46-Chiralitätszentrums war noch fraglich. Seine Strukturmerkmale, darunter die Länge der Polyketidkette, die Größe des Makrolidrings und die außergewöhnliche biologische Aktivität unterscheiden **1** von anderen antimitotisch wirkenden Schwamm-Makroliden.

Spirastrellolid A (**1**) ist wegen der kleinen Menge, die isoliert wurde, sowie seiner ungewöhnlichen biologischen Aktivität und des Potenzials zur Entwicklung neuer Therapeutika ein vielversprechendes Syntheseziel. Die unklare Konfiguration von **1** machte die Syntheseaufgabe besonders schwierig. Der Schlüssel zum Erfolg lag wahrscheinlich in einer flexiblen modularen Strategie, bei der jede Region mit bekannter relativer Konfiguration unabhängig aufgebaut werden konnte. Die anschließende Verknüpfung dieser Fragmente und Vergleiche der erhaltenen NMR-Spektren mit denen von Spirastrellolid sollten dann die Aufklärung der stereochemischen Beziehungen zwischen diesen Regionen ermöglichen. Eine Strategie, die die Herstellung von Stereoisomeren des Naturstoffs ermöglicht, könnte zudem Substanzen für eine biologische Prüfung liefern, die Einblicke in die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen geben würde.

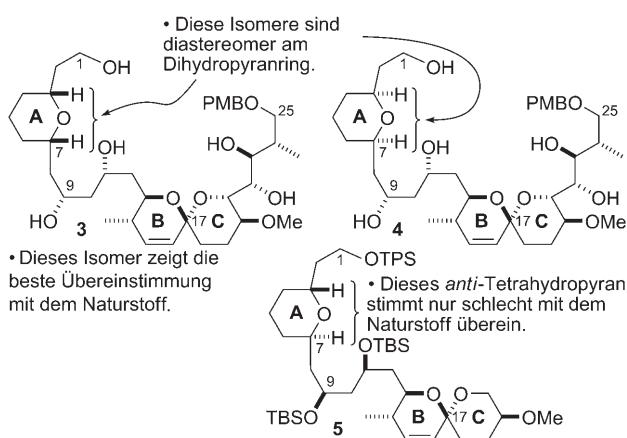
Sobald die Strukturen von neuen, biologisch aktiven Verbindungen wie Spirastrellolid A veröffentlicht sind, beginnen Synthetiker auf der ganzen Welt, mögliche Synthesestrategien zu analysieren, um als erste die Totalsynthese zu vollenden. Neue Synthesemethoden bieten neue Möglichkeiten zur C-C-Bindungsknüpfung, aber für viele Forscher zeigt sich ihr wahrer Wert erst im Einsatz in der Totalsynthese, was einen zusätzlichen Anreiz für die Planung von Totalsynthesen liefert.

Im Fall von Spirastrellolid A begann die Bestimmung der vollständigen absoluten und relativen Konfiguration des Naturstoffs durch Total- und Partialsynthese sogar schon, bevor 2004 die revidierte Struktur veröffentlicht wurde. Eine Reihe von Forschungsgruppen synthetisierte Teilstücke, um diese mit dem Naturstoff zu vergleichen. Folgerichtig erschienen bereits kurz nach Veröffentlichung der revidierten Struktur 2004 Arbeiten zur Synthese mehrerer Teilstücke.

[*] Prof. M. V. Perkins

School of Chemistry
Physics and Earth Sciences
Flinders University
PO Box 2100, Adelaide 5001 (Australien)
Fax: (+61) 8-8201-2905
E-Mail: mike.perkins@flinders.edu.au

Vor allem Paterson et al.^[3,4] beschrieben 2005 eingehend die Synthese einer tetracyclischen C26–C40-Untereinheit mit dem DEF-Spiroacetal und den Aufbau von zwei C1–C25-Diastereomeren mit dem A-Tetrahydropyranring und dem BC-Spiroketal (Schema 2). Auch wenn die Ergebnisse nicht

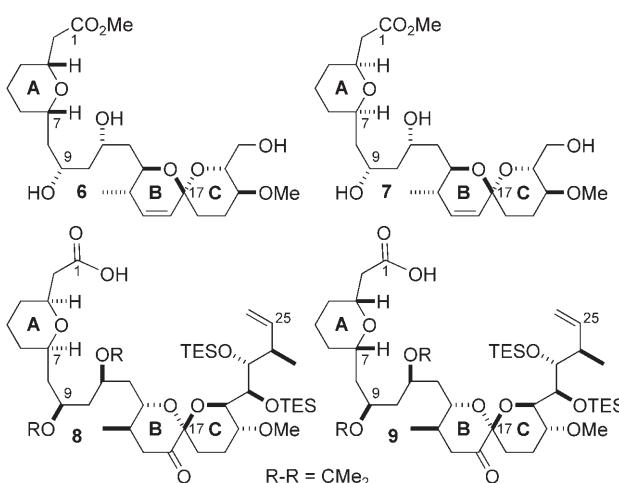


Schema 2. Von Paterson et al. synthetisierte wichtige Teilstücke^[3–5] für die Strukturbestimmung von Spirastrellolid A. PMB = *para*-Methoxybenzyl, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, TPS = Triphenylsilyl.

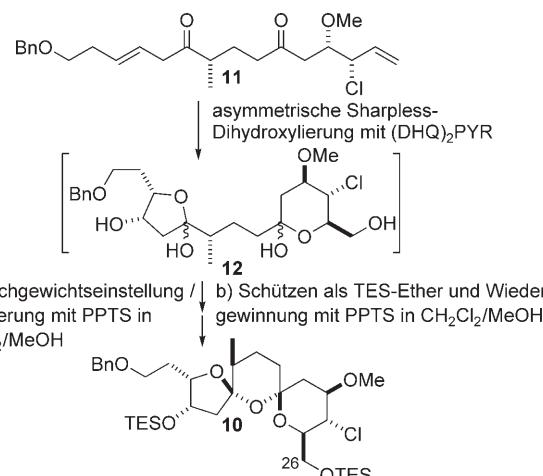
endgültig waren, stimmte Verbindung **3** der Untersuchung zufolge besser mit dem Naturstoff überein als das diastereomere Tetrahydropyran **4**. Diese beiden Verbindungen enthielten wie in der revidierten Struktur angegeben einen *syn*-Tetrahydropyranring. Die spektroskopischen Daten des 3,7-*anti*-substituierten Teilstücks **5** mit entgegengesetzter Konfiguration an C9 und C11 korrelierten kaum mit denen des Naturstoffs.^[5]

Die Synthesen anderer Teilstücke sowie Modellstudien zu den Spirastrelloliden wurden ebenfalls beschrieben.^[6–9] In einer dieser Arbeiten wurden die Spektren der von Pan und De Brabander^[8] synthetisierten Diastereomere **6** und **7** (Schema 3) mit denen des Naturstoffs verglichen. Dabei wurde keine gute Korrelation festgestellt, aber von den beiden Verbindungen wies **6** (das die analoge Konfiguration wie das Paterson-Teilstück **3** hat) die größere Übereinstimmung auf. Fürstner et al. synthetisierten die Diastereomere **8** und **9** aus der enantiomeren Reihe,^[7] machten allerdings keine Angaben, welches von beiden die bessere Übereinstimmung zeigte.

Auch das chlorierte 5,6,6-Trioxadispiroketal-Teilstück **10** wurde von Paterson et al. 2005 synthetisiert;^[3] dessen Spektrum zeigte gute Übereinstimmungen mit dem des Naturstoffs. Später wurde eine verbesserte Synthese beschrieben,^[10] bei der das Dien **11** durch doppelte Hydroxylierung in Gegenwart des Liganden $(DHQ)_2PYR$ in ein komplexes Gemisch der isomeren Halbacetale **12** überführt wurde, das nicht gereinigt werden konnte (Schema 4). Dieses Halbacetalgemisch wurde mit PPTS in $CH_2Cl_2/MeOH$ (1:1) behandelt und lieferte zusammen mit anderen Isomeren ein Spiroketal mit der gewünschten Konfiguration. Diese hochempfindliche Zwischenstufe wurde in den Bis(triethylsilyl)ether **10** überführt, der dann gereinigt wurde. Die anderen Isomeren konn-



Schema 3. Von Pan und De Brabander^[8] sowie von Fürstner et al.^[7] synthetisierte wichtige Teilstücke für die Strukturbestimmung von Spirastrellolid A. TES = Triethylsilyl.

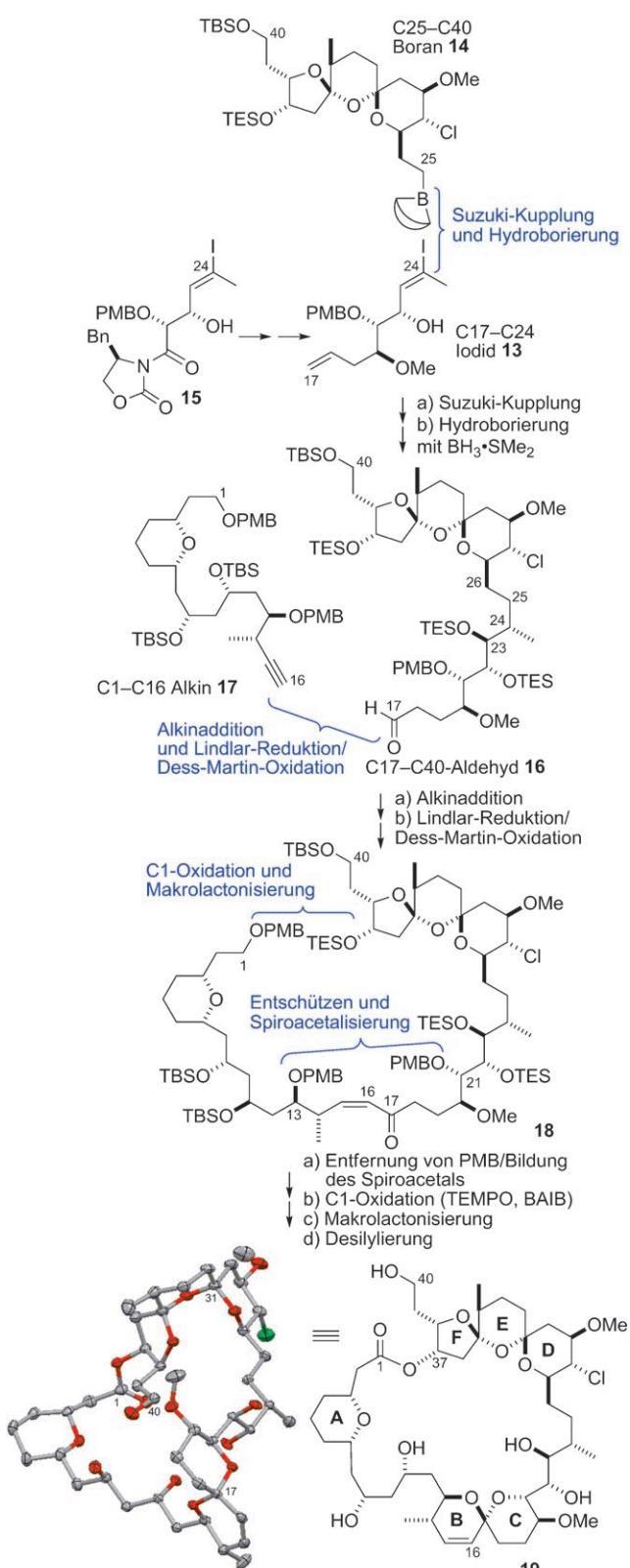


Schema 4. Synthese des Schlüsselteilstücks **10** durch doppelte asymmetrische Sharpless-Dihydroxylierung. Bn = Benzyl, $(DHQ)_2PYR$ = 1,4-Bis(dihydrochininyl)pyridin, PPTS = Pyridinium-*p*-toluolsulfonat.

ten leicht über eine Desilylierung und erneute Gleichgewichtseinstellung zum gewünschten Trioxadispiroketal mit PPTS in $CH_2Cl_2/MeOH$ (1:1) wiedergewonnen werden.

Ein Durchbruch bei der Strukturbestimmung der Spirastrellolide gelang 2007 durch die Beschreibung eines kristallinen Derivats des verwandten Naturstoffs Spirastrellolid B durch Andersen et al.^[11], die die absolute und relative Konfiguration des makrocyclischen Gerüsts aufdeckte. Ende 2007^[12] wurde auch die Konfiguration des distalen C46-Chiralitätszentrums von Methylspirastrellolid D aufgeklärt, womit die gesamte Struktur von Spirastrellolid A wie in Schema 1 gezeigt feststand. Diese endgültige Struktur der Spirastrellolide war für Patersons Arbeitsgruppe ein gutes Ergebnis, war sie doch in Einklang mit der Struktur des von ihnen hergestellten Teilstücks **3**. Das Resultat dieser Arbeiten war letztlich die erfolgreiche Totalsynthese des Spirastrellolid-A-Methylesters **2** durch Paterson et al., die in dieser Ausgabe der *Angewandten Chemie* beschrieben ist.^[13]

Die Totalsynthese ist in den Schemata 5 und 7 zusammengefasst. In der ersten Arbeit wird über eine verbesserte Herstellung des Diens **11** berichtet, aus dem das 5,6,6-Tri-

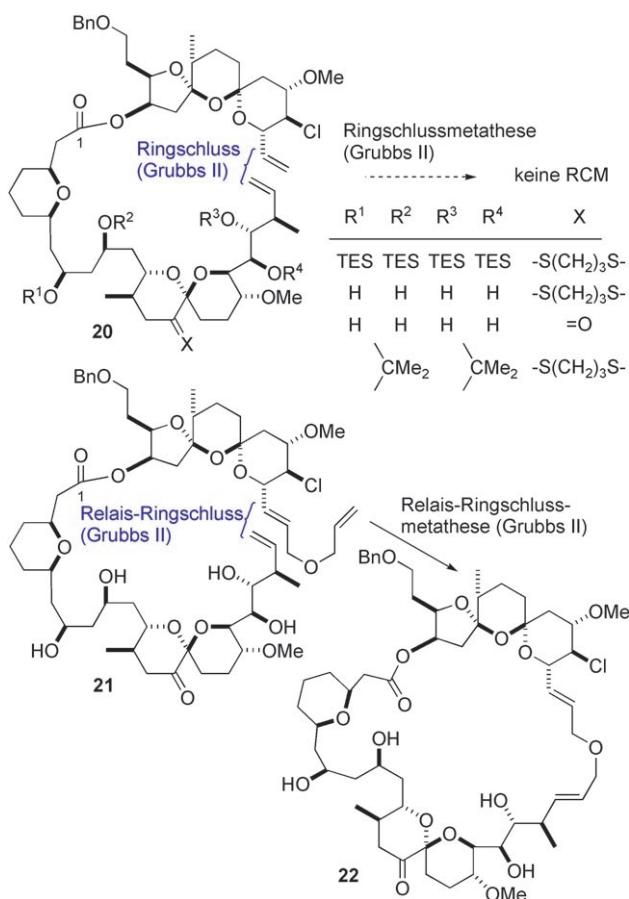


Schema 5. Synthese des kristallinen Makrolids **19** durch Paterson et al. BAIB = [Bis(acetoxy)iod]benzol, TEMPO = 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinoxyl (freies Radikal).

oxadispiroketal **10** wie zuvor beschrieben erhalten wurde (Schema 4). Eine Julia-Kupplung des aus **10** erhaltenen C26-Aldehyds lieferte wegen der sterischen Hinderung im Aldehyd niedrige Ausbeuten. Die alternative Methode, eine sp^2 - sp^3 -Suzuki-Kreuzkupplung des Iodids **13** und dem (in vier Stufen aus **10** erhaltenen) Boran **14**, verlief äußerst effizient und ergab das Produkt in 83 % Ausbeute (Schema 5). Das Iodid **13** konnte leicht aus dem Evans-Aldolprodukt **15** durch stereoselektive Reduktion einer Triethylsilyl-geschützten Zwischenstufe mit Zinkborhydrid hergestellt werden. Die gleichzeitige Hydroborierung der beiden C17-C18- und C23-C24-Doppelbindungen lieferte die C23- und C24-Stereozentren mit mäßiger Selektivität (3:1) zugunsten des gewünschten Isomers. Schutzgruppenmanipulation und nachfolgende Oxidation ergaben den Aldehyd **16** als wichtige Zwischenverbindung.

Nach einer zuvor entwickelten Methode wurde der Aldehyd **16** mit dem Lithiumanion des Alkins **17** verknüpft.^[14] Durch Lindlar-Reduktion des Alkins und nachfolgende Dess-Martin-Oxidation wurde dann das gewünschte (*Z*)-Enon **18** erhalten. Die Abspaltung der PMB-Schutzgruppen an C1, C13 und C21 erleichterte die selektive Bildung des BC-Spiroacetals mit vollständiger Kontrolle über das acetalische C17-Stereozentrum. Die Oxidation des primären Alkohols zur C1-Carbonsäure und die selektive Abspaltung des TES-Ethers an C37 mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) bereiteten den entscheidenden Makrolactonisierungsschritt vor. Die Makrolactonisierung nach der Methode von Yamaguchi lieferte das Makrolid in 79 % Ausbeute, was auf eine günstige konformativ organisierte *seco*-Säure schließen lässt. Da auf dieser Synthesestufe die TBS-Schutzgruppe an C40 nicht selektiv entfernt werden konnte, wurde eine umfassende Entschützung mit HF-Pyridin in einem Pyridin/THF-Gemisch durchgeführt. Dabei wurde zufällig ein kristallines Produkt **19** erhalten, dessen Qualität für eine Röntgenkristallstrukturanalyse ausreichte. Diese bestätigte, dass die Konfiguration im synthetischen Makrocyclus die gleiche ist wie im kristallinen Derivat von Spirastrellolid B.^[11] Überraschenderweise unterschied sich das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung trotz der strukturellen Ähnlichkeit signifikant von dem der Makrolidregion von Spirastrellolid A. Paterson et al. nahmen an, dass diese Unterschiede auf einer wohldefinierten Struktur von Spirastrellolid A beruhen, in der sich die Seitenkette in enger Nachbarschaft zum Makrolidgerüst befindet.

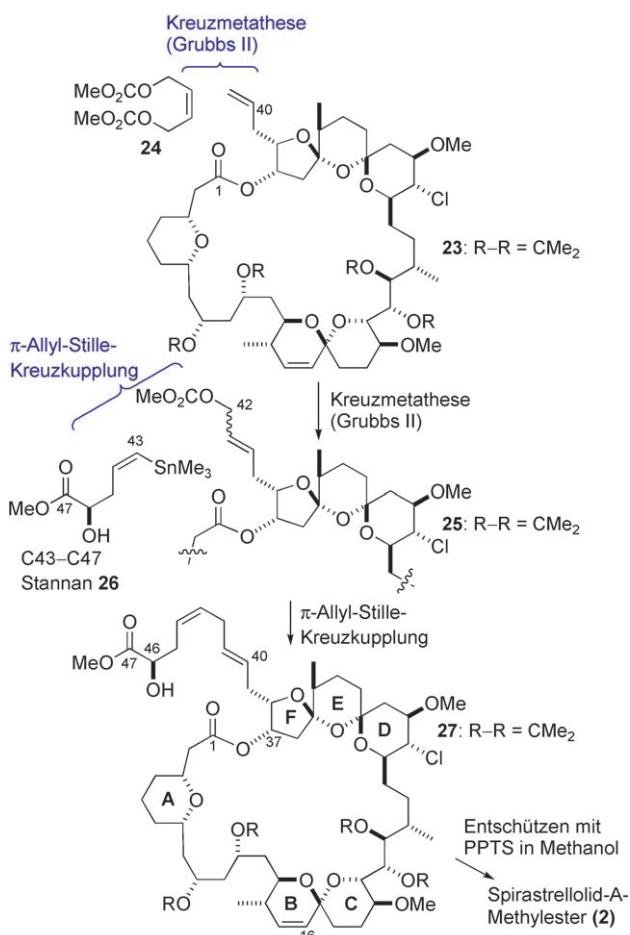
Die möglichen Schwierigkeiten beim Schließen des makrocyclischen Rings verdeutlicht der Versuch einer Cyclisierung der fortgeschrittenen Zwischenstufe **20** (in der enantiomeren Reihe) durch Fürstner et al. (Schema 6).^[9] Die Ringschlussmetathese einer Reihe unterschiedlich geschützter Verbindungen **20** zum gewünschten Ringschlussprodukt schlug fehl. Die geringe Reaktivität wurde auf die sterische Hinderung am Kohlenstoffatom C26 in Nachbarschaft zu der chlorierten Bis(spiroketal)-Einheit zurückgeführt. Versuche, dieses Problem durch Verwendung einer Relais-Ringschlussmetathese von **21** zu umgehen, lieferten lediglich das ringerweiterte Produkt **22** in 64 % Ausbeute. Die Phosphatase-Inhibitorkaktivität des ringerweiterten Produkts **22** wird derzeit untersucht.^[9]



Schema 6. Versuchte Ringschlussmetathese (RCM) von **20** und versuchte Relais-Ringschlussmetathese von **21** durch Fürstner et al.^[9] Grubbs II: Grubbs-II-Katalysator.

Das von Paterson et al. synthetisierte kristalline Makrolid **19** erwies sich als geeignete Zwischenstufe für die Vollendung der Totalsynthese von Spirastrellolid-A-Methylester (**2**), die in Schema 7 gezeigt ist. Dazu wurde das Pentaol **19** in sein Bis(acetonid) überführt, oxidiert und anschließend mit $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2$ zum Alken **23** methyliert. Die Kreuzmetathese von **23** mit dem dimeren Carbonat **24** in Gegenwart eines Grubbs-II-Katalysators lieferte das gewünschte Carbonat **25** in guter Ausbeute, allerdings bei erhöhter Temperatur (80°C). Das Carbonat **25** wurde in der entscheidenden π -Allyl-Stille-Kreuzkupplung mit dem (*R*)-Stannan **26** zum Bis(acetonid) **27** umgesetzt. Diese Verbindung war in jeder Hinsicht (^1H -, ^{13}C -NMR-, MS-Spektrum, optische Drehung) identisch mit der von Andersen et al.^[12] aus Spirastrellolid A selbst erhaltenen Verbindung und bestätigt damit die relative und absolute Konfiguration des Naturstoffs (einschließlich des distalen C46-Stereozentrums). Die abschließende Abspaltung der Acetonidgruppen mit PPTS in Methanol vervollständigte die Totalsynthese des Methylesters **2**.

Der Arbeitsgruppe von Paterson gelang damit die Totalsynthese von Spirastrellolid-A-Methylester (**2**) in 36 linearen Stufen. Anhand der in verschiedenen Solventen aufgezeichneten NMR-Spektren, der IR- und Massenspektren, der optischen Drehungen, der CD-Spektren und der HPLC-Retentionszeiten wurde nachgewiesen, dass die synthetische



Schema 7. Abschluss der Synthese von Spirastrellolid-A-Methylester (**2**) durch Paterson et al.

Verbindung mit dem Methylester des Naturstoffs identisch ist; damit wurde zugleich die Strukturbestimmung von Spirastrellolid A bestätigt.^[2,11,12]

Wir erwähnten zu Beginn das Zusammenspiel von Biologie und Chemie, bei dem ein bestimmter Assay auf Zellbasis zur Entdeckung einer neuen Molekülstruktur, Spirastrellolid A (**1**), genutzt wurde. Die erfolgreiche Totalsynthese dieses Naturstoffs ist bemerkenswert wegen der Geschwindigkeit, mit der sie angesichts einer Reihe anfänglicher stereochemischer Unsicherheiten gelang. Darüber hinaus dürfte die gewählte, vergleichsweise kurze Syntheseroute die Herstellung von Material für die weitere biologische Testung ermöglichen. Die Kristallstruktur des Makrolidgerüsts sollte schließlich Untersuchungen zur Kupplung an Proteinphosphatase 2A erleichtern und damit das rationale Design von Analoga mit höherer Wirksamkeit ermöglichen. Insofern bietet diese Synthese ein herausragendes Beispiel für die Anwendung moderner Synthesemethoden.

Online veröffentlicht am 17. März 2008

[1] D. E. Williams, M. Roberge, R. Van Soest, R. J. Andersen, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5296.

- [2] D. E. Williams, M. Lapawa, X. D. Feng, T. Tarling, M. Roberge, R. J. Andersen, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2607.
- [3] I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, O. Loiseleur, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4121.
- [4] I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, O. Loiseleur, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4125.
- [5] I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, *Synthesis* **2005**, 3225.
- [6] a) J. Liu, R. P. Hsung, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2273; b) A. Fürstner, M. D. B. Fenster, B. Fasching, C. Godbou, K. Radkowski, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5636; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5510; c) S. K. Ghosh, C. Ko, J. Liu, J. Wang, R. P. Hsung, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 10485; d) J. Liu, J. H. Yang, C. H. Ko, R. P. Hsung, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6121; e) C. Wang, C. J. Forsyth, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2997; f) F. Louis, M. I. Garcia-Moreno, P. Balbuena, C. O. Mellet, J. M. G. Fernandez, *Synlett* **2007**, 2738; g) A. B. Smith III, D. S. Kim, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3311; h) C. Wang, C. J. Forsyth, *Heterocycles* **2007**, *72*, 621.
- [7] A. Fürstner, M. D. B. Fenster, B. Fasching, C. Godbou, K. Radkowski, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5632; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5506.
- [8] Y. Pan, J. K. De Brabander, *Synlett* **2006**, 853.
- [9] A. Fürstner, B. Fasching, G. W. O'Neil, M. Fenster, C. D. Godbou, J. Cecon, *Chem. Commun.* **2007**, 3045.
- [10] I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, J. H. Lim, P. Maltas, C. Moessner, *Chem. Commun.* **2006**, 4186.
- [11] K. Warabi, D. E. Williams, B. O. Patrick, M. Roberge, R. J. Andersen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 508.
- [12] D. E. Williams, R. A. Keyzers, K. Warabi, K. Desjardine, J. L. Riffell, M. Roberge, R. J. Andersen, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 9842.
- [13] a) I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, J. H. Lim, J. Genovino, P. Maltas, C. Moessner, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3058; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3016; b) I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, J. H. Lim, J. Genovino, P. Maltas, C. Moessner, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3063; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3021.
- [14] I. Paterson, E. A. Anderson, S. M. Dalby, J. Genovino, J. H. Lim, C. Moessner, *Chem. Commun.* **2007**, 1852.