

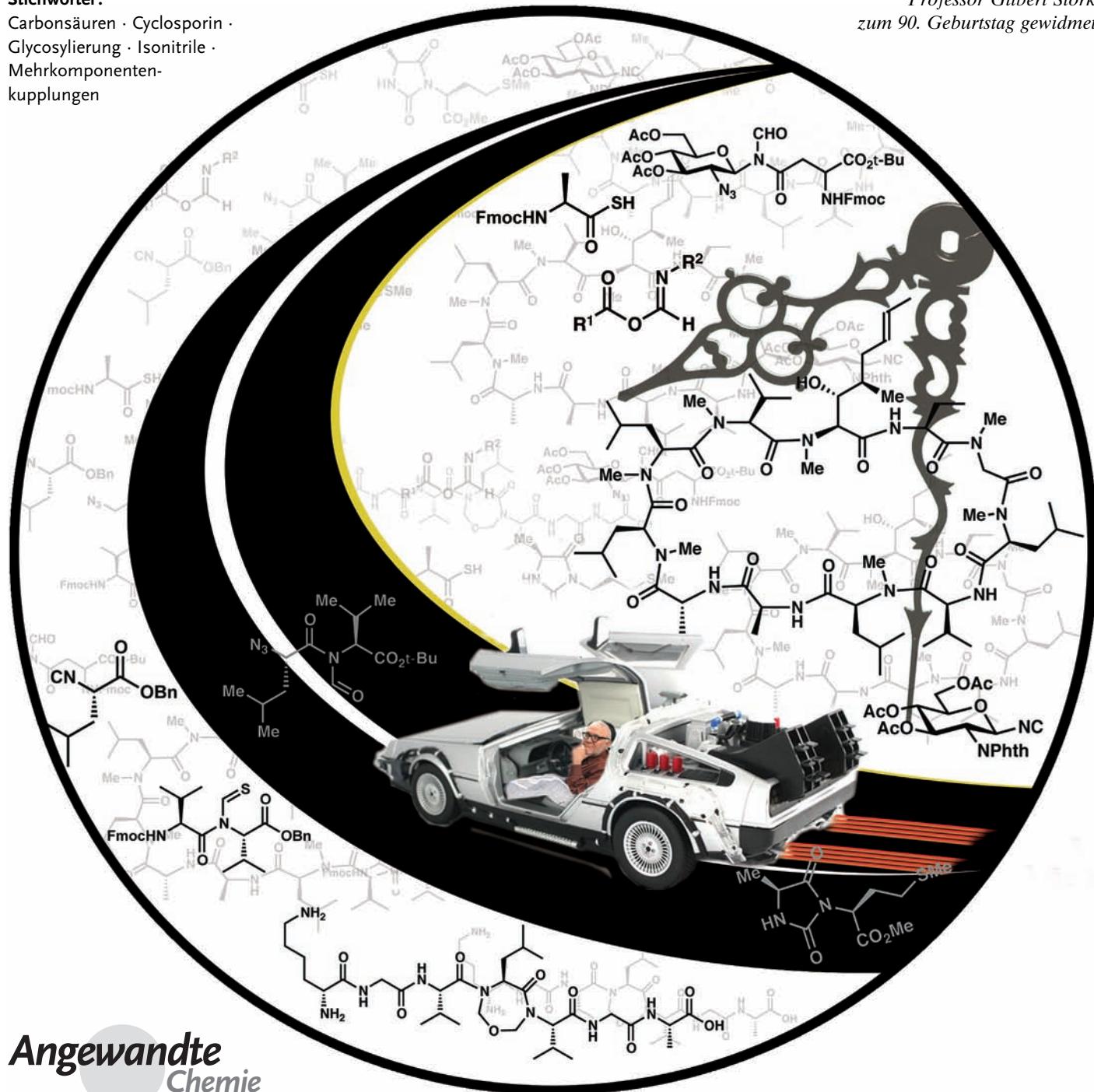
Eine faszinierende Reise in die Geschichte: Isonitrile als Ausgangsverbindungen für komplexe Amide

Rebecca M. Wilson, Jennifer L. Stockdill, Xiangyang Wu, Xuechen Li,
Paul A. Vadola, Peter K. Park, Ping Wang und Samuel J. Danishefsky*

Stichwörter:

Carbonsäuren · Cyclosporin ·
Glycosylierung · Isonitrile ·
Mehrkomponentenkupplungen

Professor Gilbert Stork
zum 90. Geburtstag gewidmet



In diesem Aufsatz berichten wir über unsere jüngsten Forschungen auf dem Gebiet der Isonitrile, die zur Entwicklung mehrerer breit anwendbarer Kupplungsmethoden zur Bildung von Peptidyl- und Glycopeptidyl-Amidbindungen geführt haben. Weiterhin beschreiben wir die Anwendung dieser Methoden auf die Synthesen komplexer Verbindungen, darunter das cyclische Peptid Cyclosporin A, konformativ gehinderte Peptide und Heterocyclen.

1. Einleitung

In den vergangenen Jahren haben wir an der Entwicklung verbesserter Synthesemethoden für biologisch wichtige Polypeptide und Glycopeptide gearbeitet. Durch die von verschiedenen Seiten^[1] und auch von uns^[2] beschriebenen Fortschritte bei den Methoden sind komplexe Glycopeptide und sogar mittelgroße Glycoproteine inzwischen auf rein synthetischem Weg zugänglich. Inspiriert von Erkenntnissen aus bekannten Grundlagen der mechanistischen Chemie wollten wir weiterhin neuen Ideen und Strategien zur effizienten Bildung von Amidbindungen in komplexen „biologischen“ Anordnungen nachgehen. In diesem Zusammenhang entwickelten wir vor kurzem eine neue mechanistische Basis mit möglicherweise weitreichenden Anwendungen, die auf der einzigartigen Reaktivität der funktionellen Isonitrilgruppe beruht.^[3] Dieser Aufsatz bietet eine Zusammenfassung der wesentlichen Fortschritte, die dank einer abermaligen Be- trachtung der Chemie von Isonitrilen erzielt werden konnten.

Wir beginnen mit einigen einleitenden Betrachtungen. Die eindrucksvoll gewachsene Fähigkeit von Chemikern, komplexe Verbindungen zu synthetisieren, beruht weniger auf ungewöhnlichen neuen Erkenntnissen bei Fragen der theoretischen Strategie als vielmehr auf den explosionsartigen Entwicklungen in den Synthesemethodiken. Es ist kaum zu bestreiten, dass die wichtigste treibende Kraft für die Entwicklung immer leistungsfähigerer Reaktionen in der Synthese die Erkenntnis war, dass die mechanistisch inspirierte Organometallchemie Bindungsbildungen ermöglicht, die vorher nur schwer zu erreichen waren. In diesem Aufsatz diskutieren wir einen aus unserer Sicht signifikanten Fortschritt in der Syntheseplanung, der aus einer gänzlich andersartigen Perspektive heraus erzielt wurde. Der Erkenntnisprozess, den wir im Folgenden beschreiben, war anfangs dazu gedacht, unsere kollektive Neugier über eine Verbindungsklasse zu stillen, die auf die Anfänge der systematisierten organischen Chemie zurückgeht – die Isonitrile.^[4]

Wie nachstehend erläutert wird, ist das Gebiet der Isonitrile in der organischen und der Organometallchemie schon sehr alt. Darüber hinaus sind Isonitrile auch heute besonders interessant, weil sie Cycloadditions- und Einschubreaktionen sowie Reaktionen mit verschiedenen „unabhängigen“ oder durch Lewis-Säure aktivierten Elektrophilen eingehen können. Dieser Aufsatz soll keine Übersicht über die Chemie der Isonitrile sein,^[5] vielmehr wollen wir dem Leser einen Blick darauf bieten, wie das Interesse unserer Forschungsgruppe an Isonitrilen geweckt wurde, und unsere persönliche Wegbeschreibung geben. Außerdem beschränken wir uns hier

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	2889
2. Isonitrile und Carbonsäuren: Kupplungstypen	2891
3. Cyclosporin	2894
4. Synthese gespannter Peptide	2896
5. Jenseits der Isonitrile: eine allgemeine Verknüpfungsmethode für Peptide	2897
6. Ein effizienter Weg zu N-Glycosylasparagin-Glycopeptiden	2899
7. Bildung chiraler Heterocyclen	2900
8. Schlussfolgerungen	2900

strikt auf die kürzlich beschriebenen Anwendungen der Isonitrilchemie zur Bildung von Amidbindungen. Diese nun folgerichtigen Reaktionen hätten durchaus schon vor hundert Jahren entdeckt werden können, tatsächlich wurden sie es aber nicht (zumindest den veröffentlichten Informationen zufolge, die genau geprüft wurden). Dass diese Fortschritte noch 2006 entdeckt werden konnten, beruht auf dem Versäumnis, in früheren Arbeiten auf einige einfache Kernfragen einzugehen. Seltsamerweise wurde die frühere Chemie auf diesem Teilgebiet komplexer dargestellt. Rückblickend scheint die im Folgenden beschriebene, nun offensichtliche Chemie durch die höhere Komplexität der Fragestellung (sowie durch einige schwerwiegende, wenn auch gut gemeinte Strukturfehler) verschleiert worden zu sein. Zur Epistemologie, die diese Entdeckungen über Isonitrile und Amidbindungen geleitet hat, sollte der Leser unsere hier zitierten Primärpublikationen durchsehen.

Bevor wir auf unsere Untersuchungen zu Isonitrilen eingehen, sollte vielleicht angemerkt werden, dass die dem Acylium-Ion entsprechende Stickstoffverbindung als Nitrili- um-Ion bezeichnet wird. Prinzipiell gibt es zwei naheliegende

[*] R. M. Wilson, Dr. J. L. Stockdill, Dr. X. Wu, Dr. X. Li,^[+] Dr. P. A. Vadola, Dr. P. K. Park, Dr. P. Wang, Prof. S. J. Danishefsky
Laboratory for Bioorganic Chemistry
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research
1275 York Avenue, New York, NY 10065 (USA)
E-Mail: s-danishefsky@ski.mskcc.org
Prof. S. J. Danishefsky
Department of Chemistry, Columbia University
Havemeyer Hall, 3000 Broadway, New York, NY 10027 (USA)
[+] Derzeitige Adresse: Department of Chemistry, The University of Hong Kong (China)

Wege zur Bildung von Nitrilium-Ionen. Der eine beginnt mit der N-Protonierung (oder N-Alkylierung) eines Nitrils. Die gängigste Reaktion dieser Art ist die Ritter-Reaktion, die die in hohem Maß nutzbare Elektrophilie von Nitrilium-Ionen belegt.^[5] Ein weiterer offenbar möglicher, aber weit weniger geschätzter Weg zu Nitrilium-Ionen beginnt mit dem Angriff des Isonitril-Kohlenstoffatoms auf ein Elektrophil. Zwei bemerkenswerte Beispiele für diese Art der Reaktivität entwickelten Passerini^[6] und Ugi (Schema 1).^[7] Durch elektrophile

Funktionalisierung des Isonitril-Kohlenstoffatoms bieten beide Reaktionen Zugang zum mechanistischen Äquivalent eines Nitrilium-Ions. Der Vollständigkeit halber sei auch die Entstehung von Nitrilium-ähnlichen Eigenschaften bei der Beckmann-Umlagerung aktiverter Oxime erwähnt.^[8] Hierauf sind wir bei unserer Untersuchung jedoch nicht eingegangen.

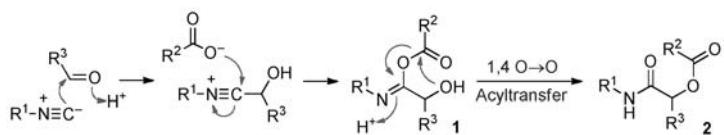
Bei der Durchsicht der einschlägigen Literatur zur Verwendbarkeit von Isonitrilen als Vorstufen für Nitrilium-Ionen

stellten wir überrascht fest, dass es kaum Hinweise auf eine offensichtliche Möglichkeit gibt, nämlich eine einfache Zweikomponentenreaktion von Isonitrilen mit Carbonsäuren. Mit Ausnahme weniger vereinzelter und scheinbar kurioser Einträge (siehe unten) wurde auf dieses offenkundige Thema nicht adäquat eingegangen. Wir vermuteten von vornherein, dass eine Carbonsäure (**5**) mit einem Isonitril (**6**) auch ohne Katalysator oder Zusatz zunächst zu einem energiereichen gemischten Formimidatcarboxylatanhydrid (FCMA, formimide carboxylate mixed anhydride, **7**) reagieren könnte. Die FCMA-Zwischenstufe **7** könnte schrittweise gebildet werden, wobei zunächst das Isonitril durch die Carbonsäure protoniert wird (siehe Schema 1), oder aber über einen Alder-En-Mechanismus durch direkten Einschub des Isonitrils in die O-H-Bindung der Carboxygruppe entstehen.^[9] In jedem Fall gingen wir davon aus, dass sich diese FCMA-Zwischenstufe anschließend spontan zu einem N-Formylamid-Addukt des Typs **8** umlagern könnte.^[10] Natürlich haben wir uns an dem [1,4]-O→O-Transferschritt in der Passerini-Reaktion (**1**→**2**) und dem [1,4]-O→N-Acyltransferschritt in der Ugi-Sequenz (**3**→**4**) orientiert. Allerdings überlegten wir uns etwas viel Gewagteres, nämlich

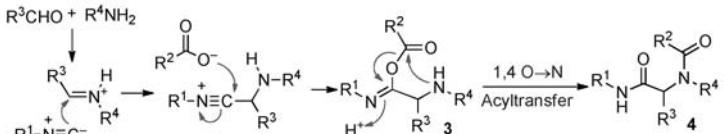
einen [1,3]-O→N-Acyltransferschritt (**7**→**8**). Da in unserer geplanten Reaktion externe saure oder basische Stoffe fehlen, könnten sich zudem Probleme im Zusammenhang mit einer Epimerisierung, die den Wert von Reaktionen zur Bildung von Amidbindungen häufig beeinträchtigt, verringern.

Diese Konzepte ließen sich erfolgreich in die Praxis umsetzen. Durch Erweiterung der ursprünglichen Voraussetzungen wurde eine Reihe breit anwendbarer Verknüpfungsmethoden zur Bildung von Peptidyl- und Glycopeptidyl-Amidbindungen entwickelt. Wir geben hier einen Überblick über diese jüngsten Entwicklungen und stellen Anwendungen der neuen Methoden vor, die zur Lösung schwieriger Syntheseaufgaben beitragen.

Passerini-Reaktion:



Ugi-Vierkomponentenkupplung:



Schema 1. Synthese des Nitrilium-Ions; Passerini-Reaktion und Ugi-Reaktion; Typ-Ia-Kupplung von Isonitrilen und Carbonsäuren.

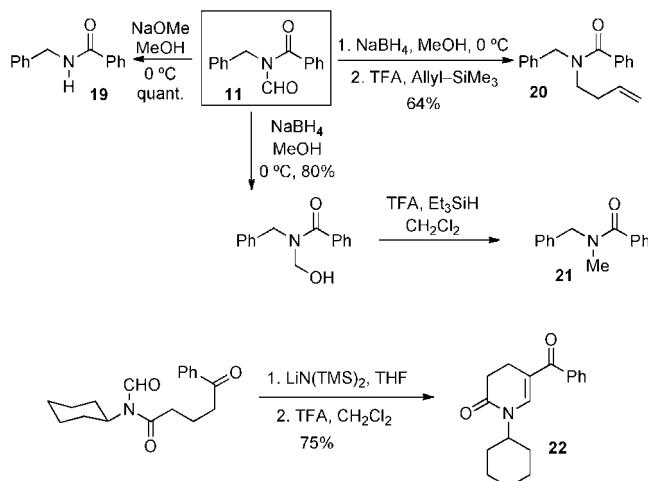


Samuel J. Danishefsky erhielt seinen B.S. an der Yeshiva University und promovierte bei Professor Peter Yates. Nach einem Postdoktorat bei Professor Gilbert Stork an der Columbia University wurde er 1963 zunächst Assistant Professor an der University of Pittsburgh und später Associate Professor, Professor und University Professor. Im Januar 1980 wechselte er an die Yale University, wo er 1981 zum Eugene Higgins Professor ernannt wurde. 1990 wurde er Sterling Professor an der Yale University, bevor er 1993 zurück nach New York ging, wo er jetzt Centennial Professor für Chemie an der Columbia University und Eugene Kettering Chair und Head des Laboratory of Bioorganic Chemistry am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ist. 1996 erhielt er gemeinsam mit Professor Gilbert Stork den Wolf-Preis für Chemie. Er wurde 2006 mit der Franklin Medal für Chemie, dem Bristol Myers Squibb Lifetime Achievement Award für Chemie und dem National Academy of Sciences Award für chemische Wissenschaften geehrt.

2. Isonitrile und Carbonsäuren: Kupplungstypen

2.1. Typ-Ia-Kupplung von Isonitriilen und Carbonsäuren

Wir haben zuerst die 1:1-Verknüpfung eines Isonitrils mit einer Carbonsäure am Beispiel von Benzoesäure (**9**) und Benzylisonitril (**10**) untersucht. Bei Raumtemperatur entstand zwar kein Produkt, doch unter thermischer Induktion mit Mikrowellenbestrahlung (ca. 130 °C) verlief die gewünschte Kupplung mit 83 % Ausbeute zum N-Formylamid **11** (Schema 2). Zur Klassifizierung der im Folgenden entwickelten Kupplungsreaktionen mit Isonitriilen bezeichnen wir die ursprüngliche Carbonsäure/Isonitril-Variante der Umwandlung allgemein als „Typ Ia“.^[11] Danach konnten wir zeigen, dass die Typ-Ia-Kupplung den Aufbau von Asparagin-verknüpften Glycosylaminosäuren ermöglicht. Auf diese Weise gelang die Verknüpfung einer Reihe von Glycosyliosonitriilen (**12–14**) mit dem Aspartat **15** zu N-Formylglycosylaminosäuren (**16–18**) (Schema 2).

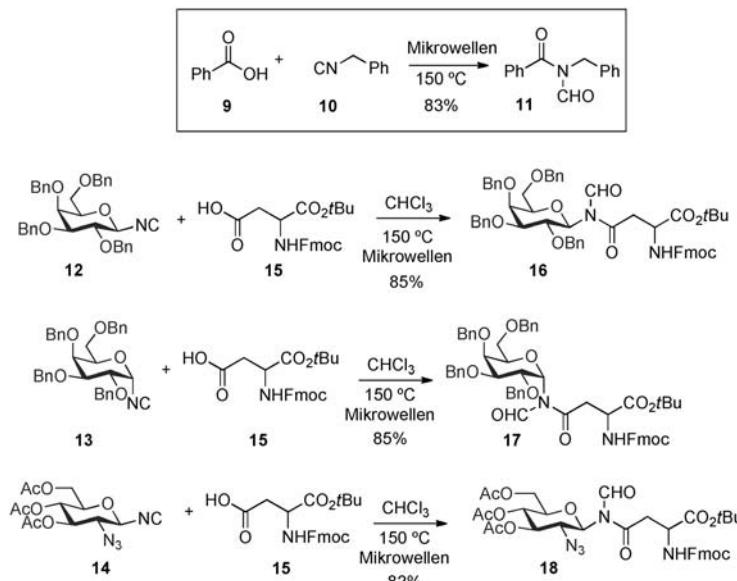


Schema 3. Methoden zur selektiven Derivatisierung der durch Typ-Ia-Kupplung erhaltenen N-Formylgruppe.

2.2. Typ-Ia-Kupplung: mechanistische Studien

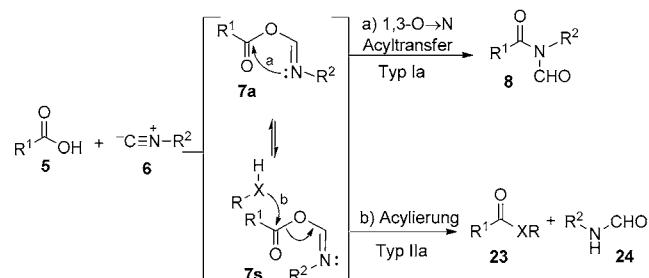
Nachdem wir die Durchführbarkeit der Typ-Ia-Kupplungssequenz nachgewiesen hatten, wollten wir die Art der Umwandlung mechanistisch untersuchen. Als Zwischenstufe der Reaktion hatten wir eine hoch reaktive FCMA-Spezies postuliert, aus der durch spontanen [1,3]-O→N-Acyltransfer N-Formylamide (**5** → **6** → **7** → **8**, Schema 4) entstehen. Zudem traten in Gegenwart von externen nucleophilen Abfangreagentien (RXH) auch Produkte des Typs **23** auf, in denen die vermutete FCMA-Zwischenstufe wahrscheinlich vor der Umlagerung durch das Nucleophil abgefangen wurde. Allgemein betrachten wir die Produkte dieser abgebrochenen Kupplung als das Ergebnis einer Reaktion, die wir als „Typ-IIa-Kupplungsreaktion“ bezeichnen.

Angesichts unserer Erfahrungen mit den energiereichen FCMA-Spezies betrachteten wir eine Reihe von Berichten anderer Arbeitsgruppen, die die Isolierung solcher Zwischenverbindungen als kristalline Produkte unter Standardbedingungen beschreiben,^[12] mit Skepsis. Besonders merkwürdig war für uns eine Arbeit, in der die Isolierung



Schema 2. Aufbau von Glycosylaminosäuren durch Typ-Ia-Kupplung.

Die Typ-Ia-Kupplung liefert eine N-Formyleinheit am Stickstoffatom der entstandenen Amidbindung. Wir erwarteten, die N-Formylbindung selektiv deformylieren zu können, da sie wegen ihrer Ähnlichkeit mit einem gemischten Imid besonders empfindlich gegenüber einer nucleophilen Spaltung sein sollte. Tatsächlich konnten wir in einfachen Modellreihen die selektive Umwandlung der N-Formylverbindung **11** in eine Reihe potenziell nützlicher funktioneller Derivate nachweisen, darunter die N-H- (**19**), die N-Homoallyl- (**20**) und die N-Me-Verbindung (**21**). Ein anderes durch Typ-Ia-Kupplung erhaltenes N-Formylamidaddukt wurde glatt zum cyclischen vinylogen Imid **22** cyclisiert (Schema 3).

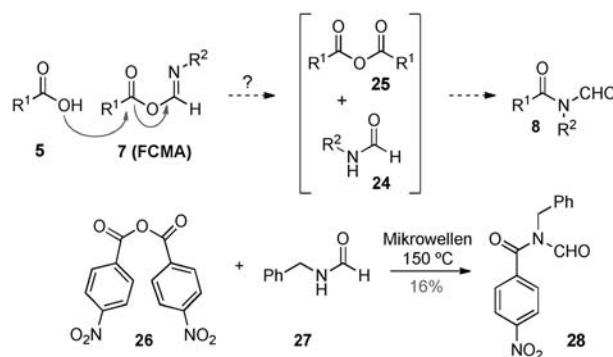


Schema 4. Typ-Ia- und Typ-IIa-Kupplung: Mechanistische Betrachtungen.

angeblicher FCMA-Spezies durch Umsetzung verschiedener Benzoësäuren und Isonitrile in Gegenwart von Methanol bei Raumtemperatur mitgeteilt wurde.^[12a] Nach unseren Erfahrungen würde eine solche FCMA-Spezies, selbst wenn sie entstehen würde, unter diesen Bedingungen sofort nucleophil solvolysiert werden. Wir begannen daher, diese Behauptung zu untersuchen, und stellten fest, dass das erhaltene Produkt in jedem Fall fälschlich als FCMA zugeordnet wurde.^[13] Demnach wurde unseres Wissens bisher kein FCMA unter den üblichen Reaktionsbedingungen isoliert.^[14]

Die Bildung der erhaltenen Produkte ist in Einklang mit einem hoch reaktiven FCMA-Intermediat (**7**), das entweder sofort unter [1,3]-O→N-Acyltransfer zu einem N-Formylamid **8** reagiert (Typ Ia) oder mit einem externen Nucleophil eine Acylierung zu **23** und **24** eingeht (Typ IIa).^[15] Mechanistisch interessant war für uns die Produktverteilung, die erhalten wird, wenn das FCMA in Gegenwart eines exogenen Nucleophils (RXH) gebildet wird. Unter diesen Bedingungen entsteht ein Gemisch der Typ-Ia- (Umlagerungs-) und Typ-IIa- (Acylierungs-)Produkte. Möglicherweise entsteht nur eine FCMA-Zwischenstufe, die sowohl eine Umlagerung zu (**8**) als auch eine nucleophile Abfangreaktion zu (**23**) eingenhen kann. Das entstehende Produktverhältnis könnte aber auch die Folge einer gleichzeitigen Bildung von FCMA-Isozmeren sein, des *anti*- (**7a**) und des *syn*-Isomers (**7s**). Das *anti*-Isomer wäre in der geeigneten Position für einen raschen [1,3]-O→N-Acyltransfer und könnte bereits auf die Bildung von **8** „festgelegt“ sein. Das dazu nicht fähige *syn*-Isomer wäre dagegen empfindlich gegenüber dem Angriff durch ein passendes Nucleophil. Vermutlich würde sich das nicht umlagernde **7s**-Isomer bei Fehlen eines passenden Acylakzeptors wieder in die umlagernde Form **7a** umwandeln. Für diese Annahme sprechen einige Hinweise. In Gegenwart eines externen Nucleophils (1 oder 5 Äquivalente MeOH) erhielten wir unter Standardkupplungsbedingungen umgelagerte und Abfangprodukte. Interessanterweise führte eine deutliche Steigerung der Methanolmenge nicht zu einer signifikanten Zunahme des Typ-IIa-Methylesters (ca. 40%). Diese Ergebnisse lassen sich am besten mit der Bildung von zwei geometrisch isomeren FCMA-Zwischenstufen interpretieren: **7s**, das gegenüber einer Methanolysis sehr empfindlich ist, und **7a**, das auch in Gegenwart eines Nucleophils im Überschuss zwangsläufig eine intramolekulare Umlagerung eingeht.

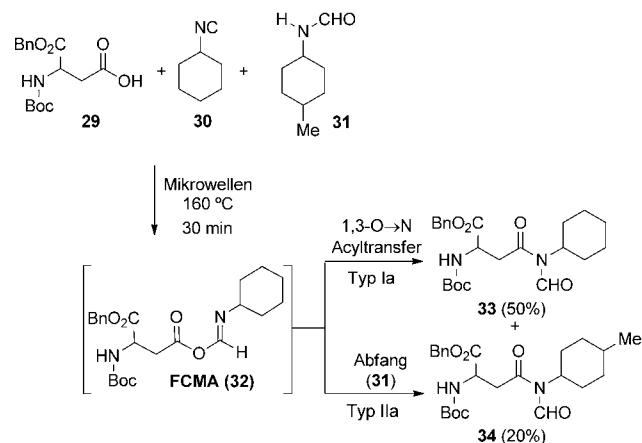
Bei den Versuchen, die mechanistischen Einzelheiten der Typ-Ia-Kupplungsreaktion aufzuklären, erkannten wir, dass die FCMA-Zwischenstufe auch einen anderen Reaktionsweg als die [1,3]-O→N-Acylumlagerung zu N-Formylamiden eingeht kann. Wie in Schema 5 skizziert ist, würde das FCMA **7** dabei von der Carbonsäure **1** angegriffen und zum symmetrischen Anhydrid **25** und Formamid **24** reagieren. Durch N-Acylierung von **24** mit **25** würde schließlich das Produkt **8** gebildet. Dieser mögliche Reaktionsweg wurde an dem N-Formylamid-Addukt **28** untersucht, das sich unter den Kupplungsbedingungen leicht bildet. Wenn der Mechanismus über das symmetrische Anhydrid verläuft, sollten die Zwischenstufen **26** und **27**, die durch Addition der Säure an das FCMA entstehen, unter den Standardbedingungen der Kupplung das Amid **28** bilden. Tatsächlich lieferte die



Schema 5. Prüfung eines möglichen Reaktionswegs über ein Formamid und ein symmetrisches Anhydrid.

Kupplung von **26** und **27** unter Mikrowellenbestrahlung aber nur 16 % des Amids **28**. Dies lässt darauf schließen, dass der Weg über das symmetrische Anhydrid unter den genannten Bedingungen sicher nicht überwiegt.

Schließlich wollten wir die Reaktivität der FCMA-Intermediate anhand der Frage untersuchen, ob ein schwach nucleophiles Formamid eine FCMA-Zwischenstufe nucleophil angreifen kann. Wir hatten bereits nachgewiesen, dass die Nucleophilie eines intermediären Formamids nicht ausreicht, um ein symmetrisches Anhydrid effizient abzufangen (Schema 5, **26 + 27 → 28**). Die Umsetzung der Carbonsäure **29** mit dem Isonitril **30** und dem Formamid **31** unter Standardbedingungen führte nach 30 min mit 50 % Ausbeute zum N-Formylamid **33**, das durch [1,3]-O→N-Acyltransfer der mutmaßlichen FCMA-Zwischenstufe **32** entsteht (Schema 6). Wir erhielten aber auch beträchtliche Mengen (20%) des Kreuzprodukts **34**, das vermutlich aus einer Abfangreaktion des Intermediats mit dem Formamid **31** resultiert. Diese Ergebnisse sprechen für die Annahme, dass im Verlauf der Reaktion eine Verbindung entsteht, die ein stärkeres Acylierungsmittel als das Anhydrid ist (vermutlich das FCMA **32**).



Schema 6. Hinweis auf die Existenz der hoch reaktiven FCMA-Zwischenstufe **32**.

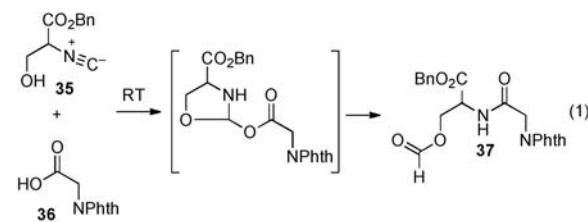
2.3. Entwicklung einer modifizierten Typ-Ia-Kupplungsmethode

Eine breite Anwendung dieser Methode auf komplexe biologische Zielverbindungen erforderte die Entwicklung von Reaktionsbedingungen, die eine Umsetzung bei Raumtemperatur ermöglichen. Die für die Kupplung notwendigen hohen Temperatur (150°C) könnten bei den häufig empfindlichen, aber biologisch wichtigen Produkten wie vielen Peptiden und Glycanen problematisch sein. In diesem Zusammenhang nutzten wir einen unserer früheren Befunde, wonach sich Typ-II-Produkte (wie **23**) bei Raumtemperatur erhalten lassen. Es scheint, dass die FCMA-Zwischenstufe zwar tatsächlich bei Raumtemperatur gebildet wird, dass aber die [1,3]-O \rightarrow N-Acylumlagerung zum gewünschten Produkt offenbar eine Thermolyse erfordert. Unabhängig davon hatten wir beobachtet, dass das von Serin abgeleitete Isonitril **35** mit einer freien Hydroxygruppe mit der Carbonsäure **36** bei Raumtemperatur zum umgelagerten Produkt **37** reagierte, bei dem die Formylgruppe vom Stickstoffatom auf die Hydroxygruppe übertragen wurde (Schema 7).^[16] Interessanterweise wurde das umgelagerte Produkt nicht erhalten, wenn der proximale Alkohol geschützt war. Offenbar hatte die vorhandene freie Hydroxygruppe die Bildung oder Aktivierung der FCMA-Spezies unterstützt – möglicherweise über eine aktivierte cyclische Zwischenstufe wie in Schema 7.

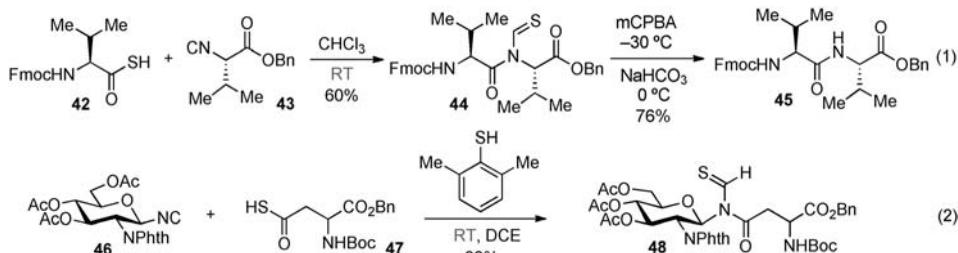
Angesichts dieser Ergebnisse wollten wir untersuchen, welche Wirkungen die Zugabe eines *externen Nucleophils* zur Reaktion hat, in der Hoffnung, mit einem generischen Substrat ein ähnliches Resultat zu erzielen. Erfreulicherweise reagierte die Carbonsäure **38** tatsächlich in Gegenwart von Thiophenol bei 50°C mit Cyclohexylisonitril unter Typ-Ia-Kupplung zu einem Gemisch des Thioacetals **40** und des N-Formylamids **41**. Das Thioacetal kann in nur einem Schritt mit hoher Ausbeute (88 %) in **41** überführt werden. Die Aufgabe von Thiophenol bei der Unterstützung der Umlagerung ist noch ungeklärt. Prinzipiell könnte die Umwandlung gut über eine tetraedrische FCMA-Zwischenstufe **39** verlaufen, deren intramolekularer Acyltransfer unter Bildung der Produkte schneller ablaufen könnte als bei dem nicht modifizierten FCMA (Schema 7).

2.4. Typ-Ib-Kupplung: Isonitrile und Thiosäuren

Ein weiterer Fortschritt in der Entwicklung einer milden und allgemeinen Methode zum Knüpfen von Amidbindungen war die Entdeckung, dass sich Thiosäuren, ganz im Unterschied zu Carbonsäuren, mit Isonitrilen schnell bei Raumtemperatur verknüpfen lassen [Schema 8, Gl. (1)].^[17] Die Verknüpfung von Isonitrilen und Thiosäuren wird als „Typ-Ib-Kupplung“ bezeichnet.^[11] Eine Reihe von Aminothiosäuren reagierte mit Aminosäureisonitrilen mit guten Ausbeuten



Schema 7. Milde Bedingungen für die Typ-Ia-Kupplung.

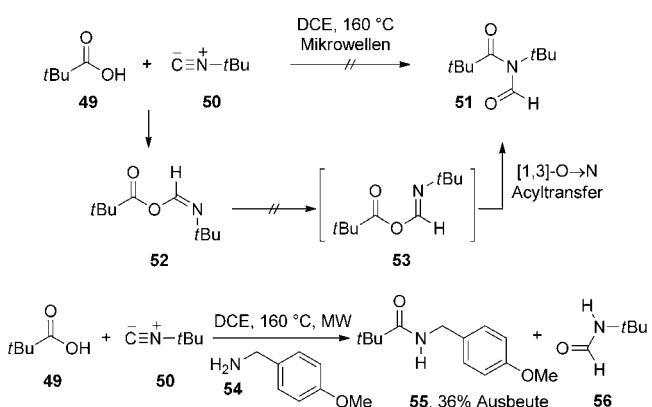


Schema 8. Typ-Ib-Kupplung von Thiosäuren und Isonitrilen.

zu Dipeptiden. Interessanterweise korrelierten die Produktausbeuten im Allgemeinen eindeutig mit der sterischen Hinderung des Isonitrils. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Spaltung gehinderter Thio-FCMA-Derivate unterdrückt wird. Möglicherweise neigen die sterisch anspruchsvollen Thio-FCMA-Zwischenstufen auch mehr zu rascher *syn* \rightarrow *anti*-Isomerisierung, sodass die Geschwindigkeit des [1,3]-S \rightarrow N-Acyltransfers steigt. Die Abspaltung der Thioformylgruppen in den Dipeptidprodukten gelang in zwei Schritten durch Umsetzung mit *m*-Chlorperbenzoësäure und danach mit NaHCO_3 (**44** \rightarrow **45**, Schema 8).

Thiosäuren sind auch geeignete Substrate für Kupplungen mit Glycanisonitrilen.^[18] So reagierte die Thiosäure **47** mit dem Isonitril **46** bei Raumtemperatur in Gegenwart des Aktivators 2,6-Dimethylthiophenol glatt mit 88 % Ausbeute zur gewünschten Glycosylaminosäure **48** [Schema 8, Gl. (2)].

Unsere Versuche, Typ-Ia- und Typ-Ib-Kupplungen auf stark gehinderte Substrate anzuwenden, blieben erfolglos. Ein gutes Beispiel hierfür ist die thermische Umsetzung von Pivalinsäure **49** mit dem sterisch gehinderten Isonitril **50** unter Mikrowellenbestrahlung, die nicht zum erwarteten umgelagerten Produkt führte (Schema 9).^[19] Die Neopentyl-Kupplungspartner scheinen entweder kein FCMA-Intermediat bilden können, oder ein eventuell entstandenes FCMA könnte – vermutlich wegen der ausgedehnten sterischen



Schema 9. Kupplung sterisch gehinderter Isonitrile.

Hinderung – keine [1,3]-O→N-Wanderung eingehen. Bei Zugabe eines externen Nucleophils **54** zur Reaktion wurde aber das Amid **55** erhalten, das durch Abspaltung einer FCMA-Zwischenstufe entsteht. Dieses Ergebnis scheint dafür zu sprechen, dass das Neopentyl-FCMA unter den Reaktionsbedingungen zwar gebildet wird, dann aber nicht den notwendigen [1,3]-O→N-Acyltransfer zu den Typ-Ia-Addukten eingehen kann. Typ-Ib-Umsetzungen lieferten ein ähnliches Ergebnis. Die wichtige Beobachtung, dass sterisch stark gehinderte Isonitrilsubstrate FCMA-Zwischenstufen bilden, die sich zwar nicht umlagern, aber empfindlich gegenüber einem äußeren Angriff sind, veranlasste uns, eine neue Acylierung auf der Basis von Isonitriden zu untersuchen.

2.5. Typ-IIb-Kupplung: Verwendung von Thio-FCMA-Zwischenstufen als besonders starke Acyldonoren

Wie oben beschrieben wurde, können FCMA- und Thio-FCMA-Zwischenstufen in Gegenwart eines Nucleophils über zwei konkurrierende Mechanismen reagieren: die intramolekulare Acylwanderung (Typ Ia oder Ib) oder die bimolekulare Reaktion mit einem Acylakzeptor (Typ IIa oder IIb).^[20,11] Zunächst konzentrierten wir uns vor allem darauf, den Mechanismus der Acylwanderung zu untersuchen, dessen Endprodukt **61** beide Substrate, d. h. die Thiosäure **57** und das Isonitrid **6**, enthält (Schema 10). Trotz der von uns

entwickelten effizienten Synthesemethoden für verschiedene komplexe Isonitride^[21] erkannten wir, dass sich die Notwendigkeit einer Präsynthese komplexer Isonitridsubstrate vor allem bei großen Peptid- oder Glycansubstraten nachteilig auf die breite Anwendbarkeit dieser Methode auswirken könnte.

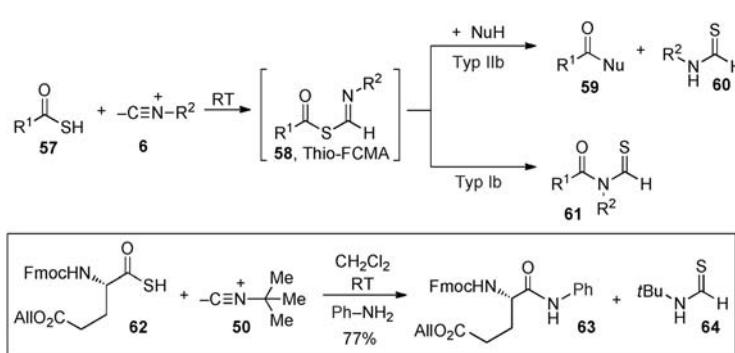
Der Umstand, dass sterisch gehinderte Isonitride keinen [1,3]-Acyltransfer eingehen, bietet eine vielversprechende Variante. Wir untersuchten die Möglichkeit, mit solchen gehinderten Isonitriden die [1,3]-S→N-Acylwanderung (Typ Ib) der Thio-FCMA-Zwischenstufen **58** effizient zu unterdrücken und dadurch ihre bimolekulare Acylierung (Typ IIb) zu begünstigen. Wenn das Ausbleiben des intramolekularen Acyltransfers bei sterisch gehinderten Isonitriden nicht dadurch bedingt ist, dass der Thiosäure-Kupplungspartner ebenfalls sterisch gehindert ist, sollte die direkte Kupplung von Substraten wie **57** mit externen Nucleophilen (NuH) zu Addukten des Typs **59** möglich sein. Diesem Plan zufolge wäre das gehinderte Isonitrid **6** ein einfaches (aber wiederverwendbares!) „Wegwerf-Reagens“, und die Abspaltung mit dem Amin-Nucleophil würde zusammen mit dem Produkt ein vom Isonitrid abgeleitetes wiederverwendbares Abfallprodukt **60** liefern. Der Vorteil einer solchen Vorgehensweise wäre natürlich, dass das Aminsubstrat direkt in der Kupplung eingesetzt werden könnte, ohne dass vorher ein komplexes Isonitrid aufgebaut werden müsste.

Wie aufgrund unserer vorherigen Ergebnisse erwartet, verlief die Umsetzung der Thiosäure **62** mit dem sterisch anspruchsvollen *tert*-Butylisonitrid (**50**) und Anilin bei Raumtemperatur leicht mit 77% Ausbeute zum Amidaddukt **63**.

Diese effiziente neue Acylierungsmethode lässt sich gut mit einer Reihe von Substraten vereinbaren, darunter spezielle Thiosäuren und Aminen [Schema 11, Gl. (2) und (3)], sekundären Aminen [Gl. (4) und (5)] und sogar Alkohol-Nucleophilen [Gl. (6)]. Besonders beachtenswert ist die glatte Bildung von Produkten, in denen beide Seiten der erhaltenen Amidbindung sterisch stark gehindert sind. Sicherlich ist die Bildung des Isopropylesters **74** unter diesen Bedingungen ein besonders überzeugender Beleg für die hohe Reaktivität des intermediären Acyldonors (vermutlich das entsprechende Thio-FCMA).

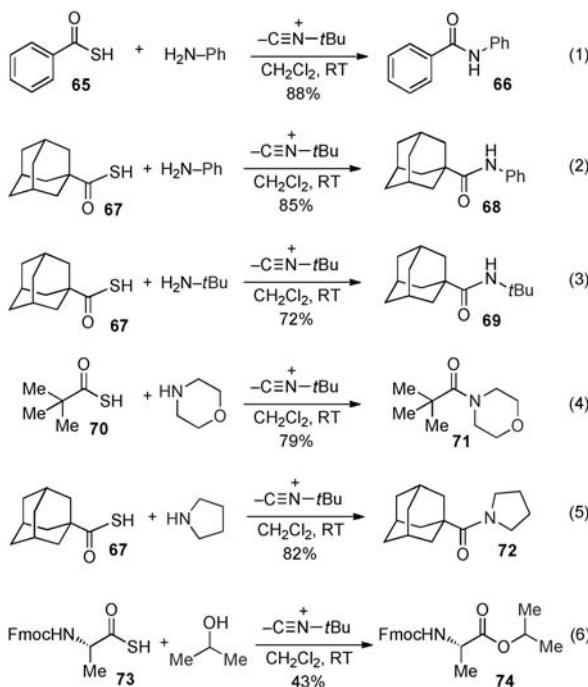
3. Cyclosporin

Das Potenzial dieser Isonitridreaktionen zum Aufbau komplexer Verbindungen unter „realen Bedingungen“ wollten wir anhand der Anwendung auf eine Totalsynthese von Cyclosporin A untersuchen.^[22] Der aus dem Pilz *Tolyphocladium inflatum* isolierte^[23] Wirkstoff besitzt starke immun-suppressive Eigenschaften und wird daher bei Organtransplantationen sowie zur Behandlung von Immunerkrankungen wie Psoriasis (Schuppenflechte) und rheumatoider Arthritis eingesetzt.^[24] Cyclosporin A ist ein cyclisches Peptid mit sieben N-Methylgruppen, die für die biologische Wirkung offenbar essenziell sind. Die hier beschriebenen Reak-



Schema 10. Typ-IIb-Kupplung: Thio-FCMA-Zwischenstufen als starke Acyldonoren.

Isonitrile



Schema 11. Anwendungsbereich der Typ-IIb-Kupplung.

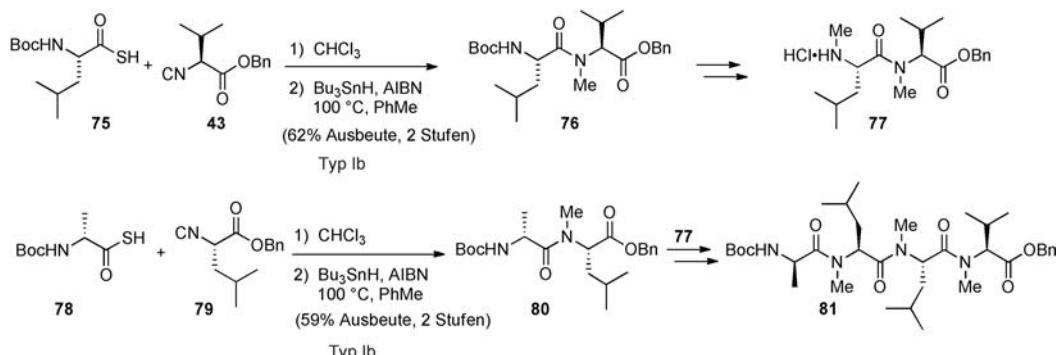
tionen von Isonitrilen, die an der Verknüpfungsstelle zu N-Methylgruppen führen können, schienen die Anforderungen an die Synthese von Cyclosporin A gut erfüllen zu können.

Unser Konzept für die Totalsynthese von Cyclosporin A um-

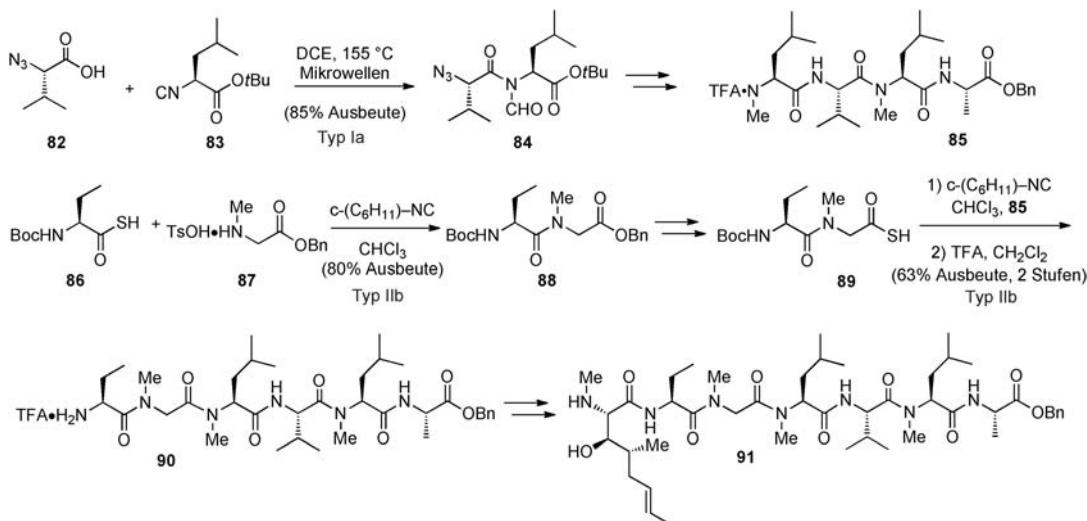
fassste den Aufbau der beiden Peptidteilstücke **81** und **91** unter Verwendung der neu entdeckten Isonitrilreaktionen (Schema 12 and 13). In den abschließenden Synthesestufen sollten die Teilstücke **81** und **91** verknüpft und schließlich in einem späten Makrolactamisierungsschritt cyclisiert werden. Tatsächlich hofften wir, auch die Cycloamidierung mit unserer Typ-IIa-Acylierungsmethode durchführen zu können.

Die Synthese des Peptidfragments **81** gelang über eine Sequenz mit zwei Typ-Ib-Kupplungsreaktionen zwischen Thiosäuren und Isonitrilaminosäuren (Schema 12). Auf ähnliche Weise wurde das Teilstück **91**, das den Hauptteil des Peptidgerüsts bildet, durch Typ-IIb-Acylierung der Zwischenstufen **85** und **89** aufgebaut, die ebenfalls mit Typ-Ia- und Typ-IIb-Methoden hergestellt wurden (Schema 13).

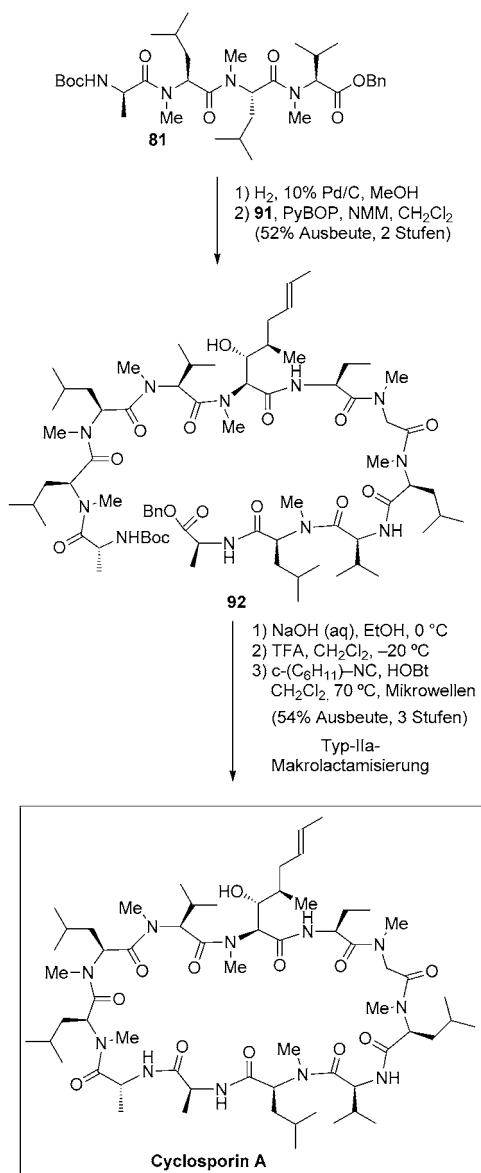
Im Anschluss an diese Synthesen sollten die Teilstücke **81** und **91** durch die entscheidende Makrolactamisierung verknüpft werden. Tatsächlich reagierten die beiden Peptidteilstücke nach Abspaltung des Benzylesters in **81** zum Polypeptid **92**. Wie aus Schema 14 hervorgeht, konnten wir das Konzept der FCMA-Acylierung erfolgreich auf die Makrolactamisierung übertragen. So reagierte die aus **92** freigesetzte Carbonsäure mit HOEt und Cyclohexylisonitril unter Makrolactamisierung zum Naturstoff Cyclosporin A, der in 54% Ausbeute aus **92** erhalten wurde. Die erfolgreiche Makrolactamisierung



Schema 12. Synthese des Tetrapeptids **81** als Zwischenstufe von Cyclosporin A.



Schema 13. Synthese der Zwischenverbindung **91** auf dem Weg zu Cyclosporin A.

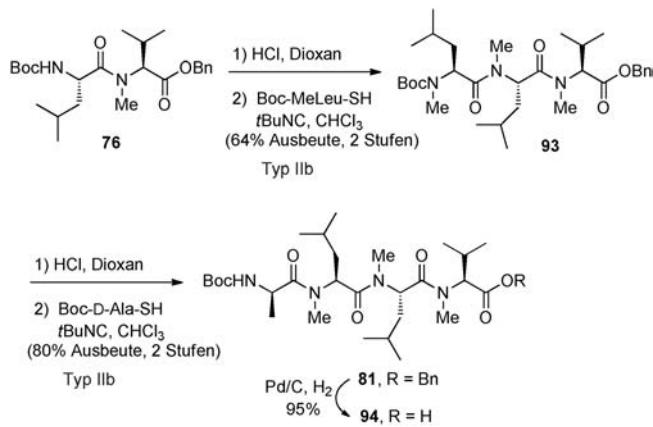


Schema 14. Abschluss der Totalsynthese von Cyclosporin A.

dieser hoch komplexen Verbindung ist vermutlich zumindest teilweise auf eine Präorganisation des Substrats durch Wasserstoffbrücken innerhalb des Peptidstrangs zurückzuführen.

Ein weiterer Beweis für die breite Anwendbarkeit der neu entwickelten Isonitrilmethode zum Knüpfen von Amidbindungen ist die kürzlich beendete Cyclosporin-A-Synthese der zweiten Generation.^[25] Bei der Planung dieser Synthese griffen wir auf eine ähnliche Strategie der Bindungstrennung zurück wie in der ersten Synthese. Wie Schema 15 zeigt, konnte das Dipeptid **76** (siehe Schema 12) durch wiederholte Typ-IIb-Kupplungen leicht in das Tetrapeptid **81** überführt werden. Dessen Hydrogenolyse lieferte die Zwischenverbindung **94** in ausgezeichneter Gesamtausbeute.

Die Synthese des Heptapeptidsubstrats **91** ist in Schema 16 skizziert. Durch eine Reihe effizienter iterativer Typ-IIb-Kupplungen und Schutzgruppenabspaltungen wurde das Hexapeptid **101b** erhalten. Es wurde in der entschei-



Schema 15. Cyclosporin-A-Synthese der zweiten Generation: Synthese des Tetrapeptids **94**.

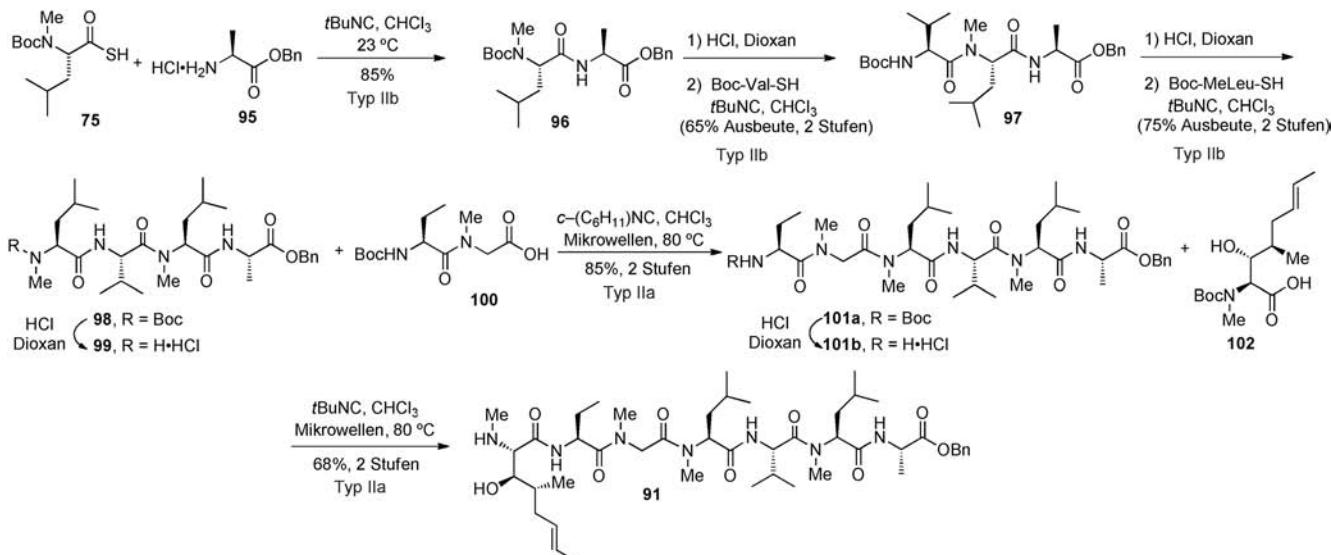
denden Typ-IIa-Kupplung mit der nichtnatürlichen Aminosäure **102**, die eine freie Hydroxygruppe trägt, mit guter Ausbeute und ohne erkennbare Epimerisierung zum Heptapeptid **91** umgesetzt.

Nach der Synthese der beiden Schlüsselfragmente **94** und **91** planten wir ihre Typ-II-Kupplung. Interessanterweise erhielten wir unter den Bedingungen der Typ-II-Isonitrilaktivierung 71 % *epi*-**92** mit vollständiger Inversion am α-Kohlenstoffatom von MeVal (mit Stern markiert) (Schema 17). Aufgrund dieses Resultats wurde die benötigte Kondensation der Teilstücke **94** und **91** stattdessen wie bereits beschrieben mit PyBOP und NMM durchgeführt.^[22] An dem so erhaltenen Undecapeptid **92** untersuchten wir als nächstes die Möglichkeit, die Effizienz der Typ-II-Makrolactamisierung zu erhöhen, indem die Carbonsäure in der Cyclisierungsposition durch eine C-terminale Thiosäure ersetzt wurde. Bei unserer Synthese der ersten Generation hatten wir eine Typ-IIa-Cyclisierung auf Carbonsäurebasis genutzt, aber die dafür erforderlichen erhöhten Temperaturen führten vermutlich durch die Zersetzung der Ausgangsverbindung und Bildung von Nebenprodukten zu einer Senkung der Ausbeute. Wir gingen davon aus, dass eine Typ-IIb-Makrolactamisierung auf Thiosäurebasis bei Raumtemperatur ablaufen würde, sodass mögliche konkurrierende Nebenreaktionen verringert würden. Dementsprechend wurde **92** mit 68 % Gesamtausbeute in **103** überführt. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe führte die anschließende Umsetzung mit Cyclohexylisonitril in Gegenwart von HOEt bei Raumtemperatur in 10 h nahezu quantitativ und mit minimaler Bildung von Nebenprodukten zu Cyclosporin A.

4. Synthese gespannter Peptide

Peptide haben oft hohe Affinität und Selektivität gegenüber wichtigen biologischen Angriffsstellen und sind daher zumindest prinzipiell eine wichtige Klasse von Leitverbindungen in der Wirkstoff-Forschung. Ihre hohe Empfindlichkeit gegenüber einem Protease-induzierten Abbau ist jedoch ein beträchtliches Hindernis für die breite Anwendung von Peptiden als klinische Wirkstoffe.^[26] Im Zusammenhang mit

Isonitrile

**Schema 16.** Cyclosporin-A-Synthese der zweiten Generation: Synthese des Hexapeptids **91**.

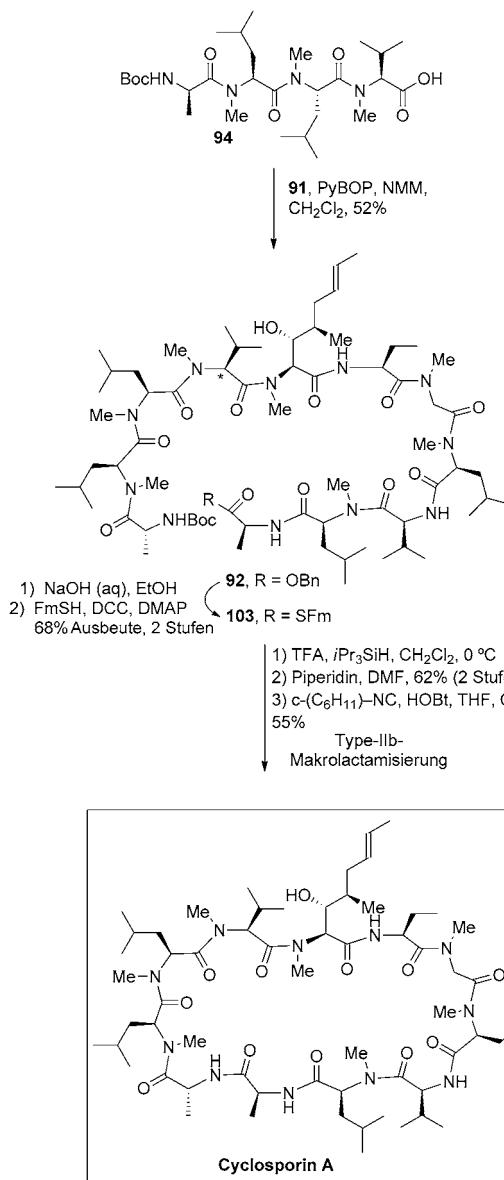
einer Reihe von Bestrebungen, diese Probleme zu lösen, entdeckte man, dass die Einführung konformativ gespannter Abschnitte in diese Peptidgerüste dazu beitragen kann, die Pharmakostabilität wie auch die biologische Wirkung zu erhöhen.^[27] Wir nahmen an, dass mit unseren Typ-I-Kupplungsmethoden, die an der Verknüpfungsstelle ein N-Formylamid liefern, biologisch aktive Peptidbausteine mit konformativen Einschränkungen zugänglich gemacht werden könnten. Wir wollten mit der partiellen konformativen Immobilisierung nicht nur die Affinitäten von Liganden zu ihren Rezeptoren beeinflussen, sondern gingen auch davon aus, dass die bei ungefalteten Polypeptiden häufig vorkommende Neigung zur Aggregation durch eine vorübergehende Molekülspannung abgeschwächt werden könnte. Natürlich wollten wir auch sicherstellen, dass sich die konformative Einschränkung leicht wieder entfernen und die natürliche Peptidsequenz wiederherstellen lässt.^[28] Auf diese Weise könnte eine temporäre Molekülspannung in einer Totalsynthese genutzt werden, um zu Aggregation neigende Peptide im Verlauf der Umwandlung in die letztlich stabilere Zielverbindung zu stabilisieren. Im Einzelnen wollten wir durch iterative Typ-Ia-Kupplungen ein Polypeptid des Typs **108** mit N-Formylgruppen an benachbarten „Imid-ähnlichen“ Stickstoffatomen herstellen (Schema 18). Außerdem planten wir, durch zweifache Reduktion der proximalen Formylgruppen das konformativ eingeschränkte Tripeptid **109** zu erhalten. Die N- und C-terminale Verlängerung des Peptids würde ein Polypeptid **110** liefern, das eine ortspezifische cyclische Einschränkung trägt. Durch Entfernen der $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ -Brücke würde schließlich das natürliche Peptid **111** auf einer strategisch günstigen Stufe freigesetzt werden.

Die Verwirklichung dieses Plans ist in Schema 19 an einem repräsentativen Beispiel gezeigt. Demnach ergab die Typ-Ia-Kupplung der Carbonsäure **82** mit dem Isonitril **83** nach Abspaltung des *tert*-Butylesters das Dipeptid **112** in 82% Ausbeute. Eine zweite Typ-Ia-Reaktion mit dem Isonitril **43** führte zum Tripeptid **113** mit proximalen N-Formyl-

gruppen. Interessanterweise war die in **112** vorliegende N-Formylgruppe entscheidend für den Erfolg dieser zweiten Kupplungsreaktion, indem sie das intermediaire FCMA gegenüber der unproduktiven Oxazolonbildung stabilisierte. Die anschließende Umsetzung von **113** mit LiBH_4 und danach mit TFA lieferte das konformativ eingeschränkte Tripeptid **114**. Die Azidgruppe wurde anschließend zum N-terminalen Amin reduziert, und durch Verlängerung der N- und C-Termini wurde **115** erhalten. Dieses wurde schließlich mit 0.1M HCl und 1,3-Propandithiol in 95% Ausbeute zum gewünschten linearen Heptapeptid **116** umgesetzt. Im Verlauf dieser Arbeiten stellten wir fest, dass sich gespannte Peptide (vgl. **110**) im Allgemeinen wesentlich besser solubilisieren lassen und weniger zu Aggregation neigen als die entsprechenden linearen Verbindungen (vgl. **111**).

5. Jenseits der Isonitrile: eine allgemeine Verknüpfungsmethode für Peptide

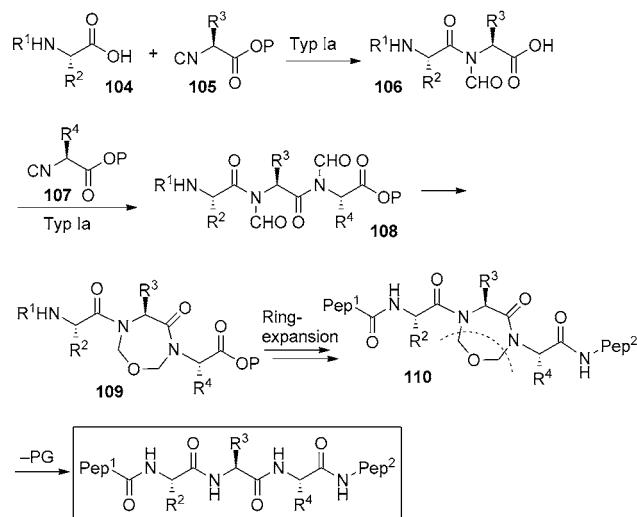
Trotz der breiten Anwendbarkeit der oben beschriebenen Typ-I- und Typ-II-Kupplungen auf der Basis von Isonitriilen erkannten wir auch die Schwierigkeiten, diese Peptidverknüpfung auf kompliziertere Verbindungen anzuwenden. So verläuft sogar die Typ-II-Kupplung von Dipeptidylthiosäuren oft mit niedriger Ausbeute, was offenbar auf der raschen Umwandlung der Dipeptid-Thio-FCMA-Zwischenstufe in das unproduktive Oxazolon-Intermediat beruht (Schema 20). Bei der Suche nach Lösungen für dieses Problem stießen wir auf die Möglichkeit, die aktivierte Thio-FCMA-Zwischenstufe in situ in einen noch produktiveren Acyldonor umzuwandeln. Da über intermediäre HOBT-Ester gebildete Peptidbindungen eine deutlich geringere Tendenz zu C-terminaler, Oxazolon-induzierter Epimerisierung haben,^[29] planten wir einen Reaktionsablauf, bei dem ein intermediäres Thio-FCMA, das aus einem Peptidylthioester und einem „Wegwerf-Isonitril“ (d.h. Cyclohexylisonitril) entsteht, weiter zu



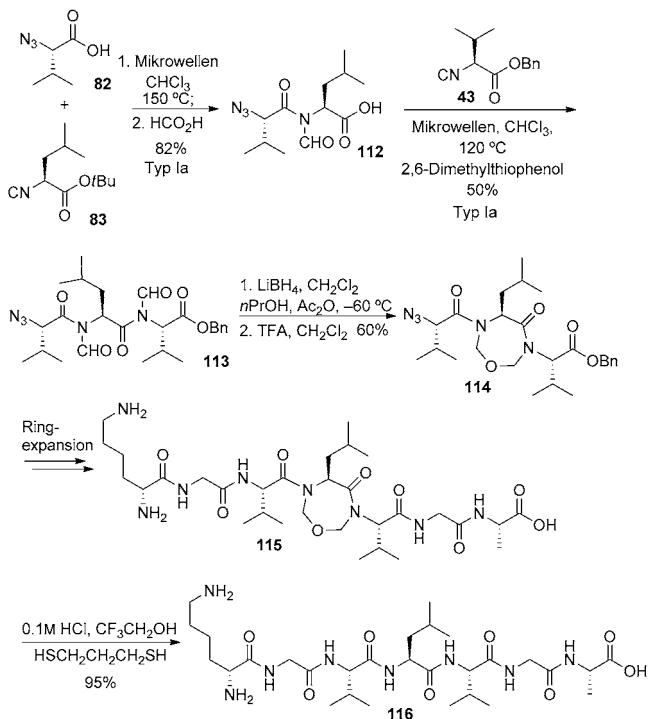
Schema 17. Cyclosporin-A-Totalsynthese der zweiten Generation.

einem HOBr-Ester umgesetzt wird, der dann, so hofften wir, mit dem N-terminalen Kupplungspartner verknüpft werden könnte.

Wie Schema 21 zeigt, erwies sich dieser Lösungsvorschlag tatsächlich als durchführbar.^[30] So wurden das Thiosäurepeptid **117** und das Peptid **118** in Gegenwart von HOBr und Cyclohexylisonitril in 20 h und mit 60% Ausbeute zum Addukt **119** verknüpft [Gl. (1)]. Zwischenstufen dieser Reaktion waren vermutlich sowohl das Thio-FCMA als auch der HOBr-Ester (Schema 20). Überraschenderweise ergab ein Kontrollversuch jedoch, dass die Verknüpfung von **117** und **118** in Gegenwart von HOBr ohne das Isonitril in nur 12 h und mit 82% Ausbeute verlief [Gl. (2)]. Diese Bedingungen (nur HOBr) eigneten sich außerdem zur effizienten Verknüpfung einer Reihe von Peptidylsubstraten, darunter auch solche mit epimerisierbaren C-terminalen Aminosäureresten. Mehrere direkte Vergleiche ergaben, dass nur mit HOBr durchge-



Schema 18. Synthese gespannter Peptide durch Isonitrilkupplung.

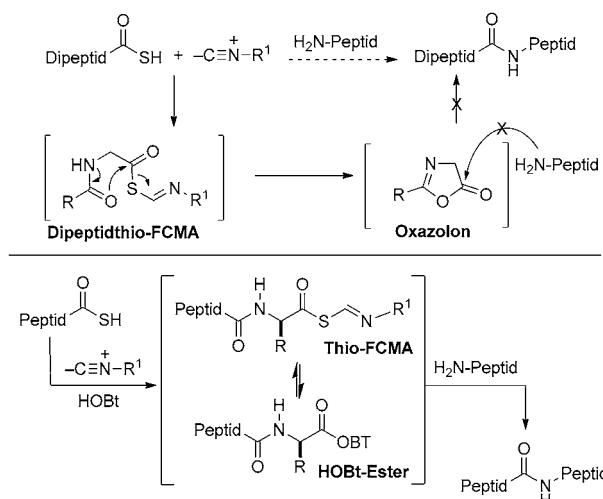


Schema 19. Anwendung der Typ-Ia-Kupplung auf die Synthese eines temporär gespannten Peptids.

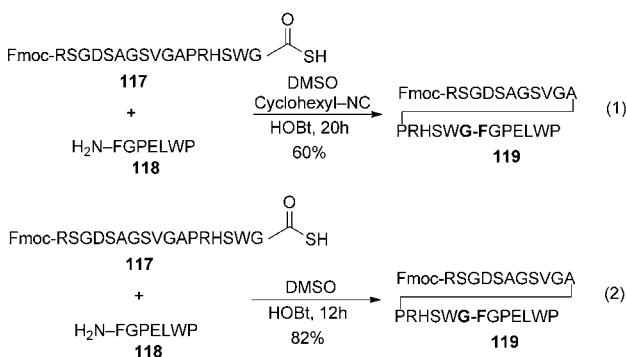
führte Verknüpfungen tatsächlich schneller und mit höheren Ausbeuten verliefen als die entsprechenden Reaktionen mit Isonitril/HOBr. Darüber hinaus ließ sich die HOBr-vermittelte Reaktion auf die Verknüpfung von Glycopeptidsubstraten zu diglycosylierten Peptiddaddukten anwenden (Schema 22, **120** + **121** → **122**).

Diese Ergebnisse sind sehr mechanistisch interessant, ihre Erklärung steht aber noch aus. Auch wenn das Isonitril für die Verknüpfung nicht benötigt wird, ist natürlich nicht ausge-

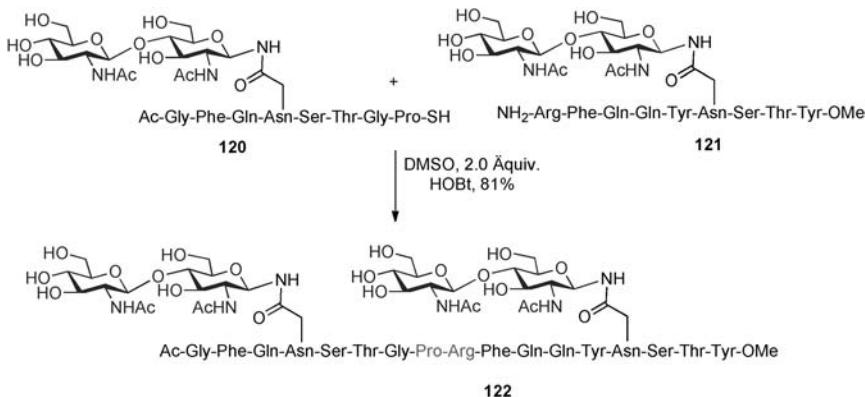
Isonitrile



Schema 20. Thio-FCMA-Verknüpfung: die Planung.



Schema 21. Typ-Ib- (1) und oxidative (2) Verknüpfung von Peptiden.



Schema 22. Oxidative Verknüpfung von Glycopeptiden.

schlossen, dass der oben vorgeschlagene Mechanismus (Schema 20) in Gegenwart von Isonitril tatsächlich ablaufen kann. Die effiziente Bildung des Produkts ohne das Isonitril spricht aber für einen Verknüpfungsmechanismus von Thiolsäure und Amin, der nicht von der Bildung einer FCMA-Zwischenstufe abhängt. Grundsätzlich besteht die Möglichkeit, dass das Thiolsäurepeptid von sich aus eine direkte

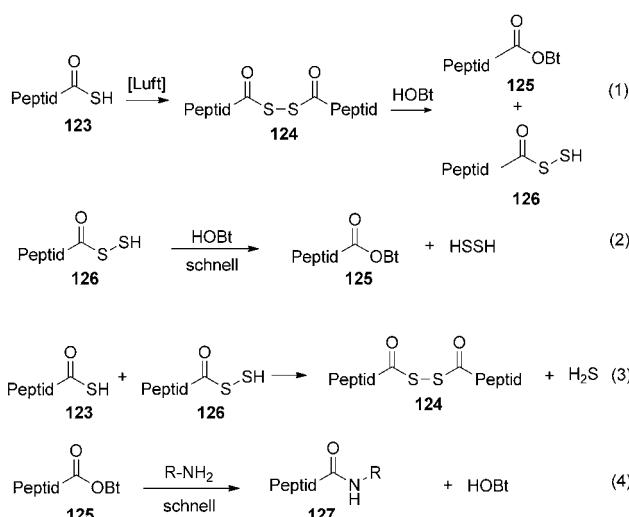
Verknüpfung mit einem Amin als Kupplungspartner eingehen kann, oder anders ausgedrückt: SH ist als Abgangsgruppe stark genug, um die Acylierung zu ermöglichen. Wahrscheinlicher ist vielleicht aber, dass diese HOBT-vermittelten Verknüpfungen über einen noch nicht bestimmten oxidativen Mechanismus verlaufen. Dafür sprechen auch die Ergebnisse von Sheehan und Johnson^[31] und später von Orgel und Liu^[32] sowie verschiedene mechanistische Untersuchungen. Beispielsweise sank die Ausbeute an Amid beträchtlich, wenn die Möglichkeiten einer zufälligen Oxidation minimiert wurden (z.B. indem die Reaktion unter Argon durchgeführt wurde). Umgekehrt verliefen die Verknüpfungen in Gegenwart von Iod rascher als ohne dieses Oxidationsmittel. Auch wenn die genaue Art der Umwandlung noch nicht geklärt ist, könnte ein Reaktionsweg infrage kommen, der durch eine niedrige Oxidationsrate der Thiolsäure initiiert wird und unter Rückbildung des C-terminalen Acyldonors verläuft. Ein effizienter und durch Oxidation eingeleiteter Reaktionsweg lässt sich aber durchaus auch mit vielen anderen plausiblen Mechanismen erklären. Dazu gehört das in Schema 23 skizzierte Modell, bei dem sehr geringe Mengen eines intermedialen Diacyldisulfids (**124**) entstehen. Allerdings ist nicht mit Sicherheit ausgeschlossen, dass der oxidative Teil des Reaktionswegs in Wirklichkeit über „stöchiometrische“ und nicht über katalytische Mengen des umsatzstarken Oxidationsmittels verläuft.

6. Ein effizienter Weg zu N-Glycosylasparagine-Glycopeptiden

Wir haben an der Entwicklung verbesserter Methoden für die Verknüpfung von Oligosaccharid- und Peptiddomänen gearbeitet. Beim derzeitigen Standardverfahren zum Aufbau von Glycopeptiden wird ein anomeres β-Glycosylamin durch Lansbury-Aspartylierung an einen passend geschützten Aspartat-Acyldonor angehängt, der in das gewünschte Peptidfragment eingebaut ist.^[33] Die Effizienz der Lansbury-Aspartylierung wird durch mehrere Faktoren erschwert, dazu gehört zunächst die schwache Nucleophilie des Glycanamins am reduzierenden Ende des Glycans. Zudem konkurriert die Aspartylierung mit einem baseninduzierten Zerfallsweg, bei dem der mutmaßliche Aspartyldonor mit der NH-Gruppe der benachbarten Aminosäure zu einem Aspartimid-Nebenprodukt cyclisiert (Schema 24). Bei bestimmten Peptidsubstraten, vor allem solchen mit

Glycin-, Serin- oder Alaninresten am C-Terminus des Aspartats, kann die Tendenz zur Bildung des Asparaginimids hinderlich werden.^[34]

Wir erkannten, dass die oben beschriebenen milden, basisfreien Acylierungsmethoden für die hohen Anforderungen der Aspartylierung von Glycanen gut geeignet sein könnten. Tatsächlich ließ sich die konvergente Aspartylier-



Schema 23. Vorgeschlagener Mechanismus der oxidativen Peptidverknüpfung.

lung unter den Bedingungen der Typ-IIb-Kupplung durchführen (Schema 25). So wurden die Peptidthiosäure **128** und das Glycosylamin **129** in Gegenwart des „Wegwerf-Reagens“ Cyclohexylisonitril zum Glycopeptid **130** verknüpft, das in 70% Ausbeute erhalten wurde. Daneben entstanden in geringen Mengen die Peptidcarbonäure, das Aspartimid und Produkte, die wahrscheinlich aus der intramolekularen Typ-Ib-S→N-Umlagerung der Thiosäureverknüpfung – vermutlich über den oben beschriebenen oxidativen Mechanismus – vermitteln kann, veranlasste uns, die Reaktion von **128** und **129** in Gegenwart von HOBr und ohne das Isonitril als Vermittler zu untersuchen. Die Aspartylierung verlief erfreulicherweise schneller und lieferte das Glycopeptid **130** in 85% Ausbeute zusammen mit sehr geringen Mengen der Carbonsäure- und Aspartimid-Nebenprodukte. Möglicherweise verläuft auch diese Reaktion über einen oxidativen Mechanismus ähnlich dem oben vorgeschlagenen (siehe Schema 23, R = Glycan).^[35]

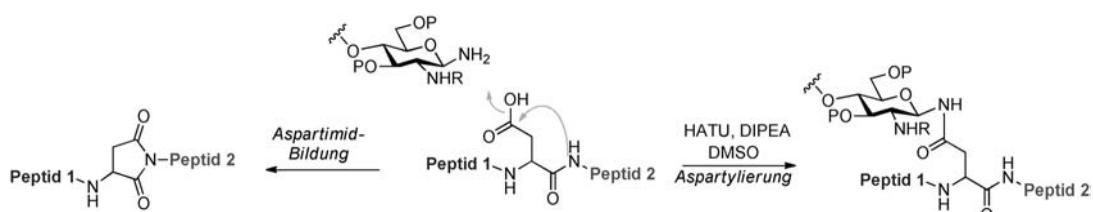
7. Bildung chiraler Heterocyclen

Die biologische und pharmazeutische Bedeutung heterocyclischer Verbindungen für die medizinische Chemie bedarf kaum einer Erläuterung. Wir haben vor kurzem damit begonnen, ausgehend von den N-Formylamidprodukten der Typ-Ia-Kupplungsreaktionen Synthesemethoden für phar-

maceutisch relevante Heterocyclen mit angehängerter enantiodefiniert Chiralität zu entwickeln. Diese Arbeit entstand aus einem fundamentalen Interesse an der Reaktivität der vorher kaum bekannten funktionellen N-Formylamidgruppe, die nun durch die Typ-I-Reaktion zugänglich ist. Wir entdeckten, dass die Azideinheit in diesen Produkten ein ausgezeichneter Ausgangspunkt für die selektive Funktionalisierung der Formylcarbonylgruppe ist (Schema 26). Unter Berücksichtigung der besonderen Reaktivität der Imid-ähnlichen N-Formylgruppe liegt die Möglichkeit einer Staudinger-Reaktion der vorhandenen Azidgruppe mit anschließender Aza-Wittig-Reaktion nahe. So führte die Umsetzung von **131** (das durch Kupplung der Azidosäure mit Glycinonitrilen erhalten wurde) mit Trimethylphosphoran in Benzol mit guten Ausbeuten zur Bildung von Imidazolinonen wie **132**. Alternativ könnte die Aktivierung des Azids für die Reaktion durch eine radikalische Reduktion der Azidgruppe eingeleitet werden. So reagierte **133** mit *n*-SnBu₃H zum Hydantoin **134**, das in guter Ausbeute als offenbar einziges Stereoisomer erhalten wurde. Die ähnliche Umwandlung von **135** in **136** belegt die Anwendbarkeit der Reaktion auf eine Methionin-Seitenkette. Wir untersuchen derzeit den Anwendungsbereich der Reaktion sowie ihren unklaren Mechanismus. Die hier vorgestellten Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine breite Untersuchung von Peptidyl-N-Formylamiden durchaus erfolgreich sein könnte.

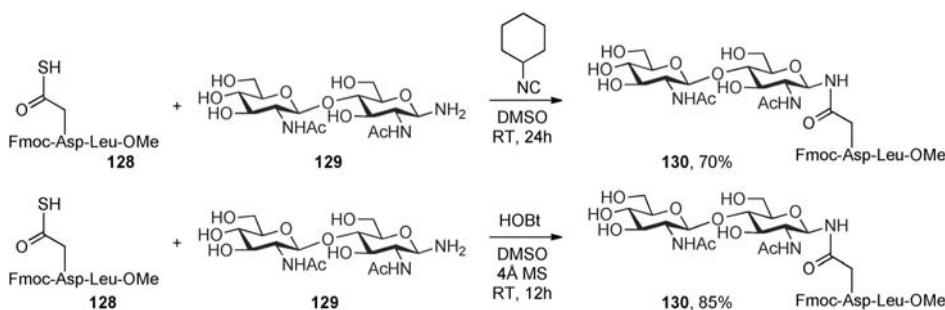
8. Schlussfolgerungen

In diesem Aufsatz haben wir unsere jüngsten Fortschritte auf dem Gebiet der Acylierungen beschrieben, die auf der Wiederaufnahme einer klassischen funktionellen Gruppe der organischen Chemie sowie aktuellen mechanistischen Erkenntnissen beruhen. Dadurch sind wir auf neue Verknüpfungsmethoden auf der Basis von Isonitrilen gestoßen und haben sie auf die Synthesen komplexer „biologischer“ Zielverbindungen mit potenzieller therapeutischer Bedeutung angewendet. Schließlich haben diese Untersuchungen zu der etwas zufälligen Entdeckung einer weitgehend allgemeinen oxidativen Kupplung zwischen Thiosäure- und Aminsubstraten geführt, zu der auch die Aspartylierung hoch komplexer Glycosylamine mit „reduzierendem Ende“ gehört. Wir erwarten, dass kontinuierliche Forschungen in diese neuen Richtungen zu weiteren, für die chemische Synthese wertvollen Entdeckungen führen könnten.



Schema 24. Verknüpfung von Glycan- und Peptiddomänen durch Aspartylierung; unerwünschte baseninduzierte Bildung von Aspartimid.

Isonitrile

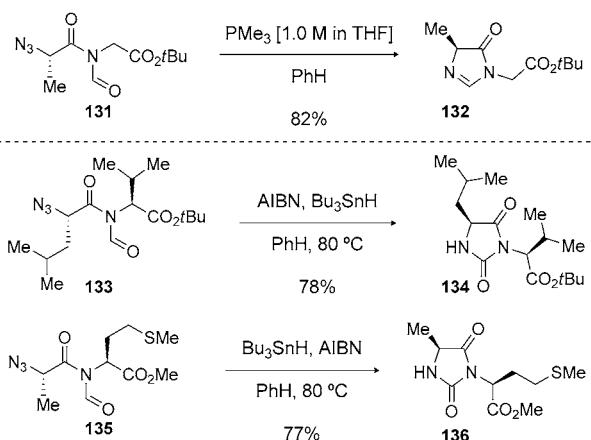
**Schema 25.** Aspartylierungsmethoden auf der Basis von Isonitriilen (oben) und oxidativ (unten).

Danksagung

Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (CA103823 und CA28824 an S.J.D.) gefördert. P.K.P. wurde durch ein Postdoc-Stipendium (PF-11-014-01-CDD) der American Cancer Society unterstützt. J.S. dankt den NIH (1F32CA142002-01A1 und K99GM097095-01) für Unterstützung.

Eingegangen am 18. September 2011,
veränderte Fassung am 7. November 2011
Online veröffentlicht am 24. Februar 2012

Übersetzt von Dr. Kathrin-M. Roy, Langenfeld

**Schema 26.** Anwendung der Typ-Ia-Kupplung auf die Synthese von Heterocyclen.

Abkürzungen

AIBN	Azobisisobutyronitril
All	Allyl
Bn	Benzyl
Boc	tert-Butyloxycarbonyl
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCE	1,2-Dichlorethan
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMSO	Dimethylsulfoxid
Fm	9-Fluorenylmethyl
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
mCPBA	m-Chlorperbenzoësäure
NMM	N-Methylmorpholin
PG	Schutzgruppe
Phth	Phthaloyl
PyBOP	Benzotriazolyl-1-oxy-tripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat
TFA	Trifluoressigsäure
Ts	p-Toluolsulfonyl

- [1] Eine neuere Übersicht hierzu: D. P. Gamblin, E. M. Scanlan, B. G. Davis, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 131.
- [2] a) C. Kan, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 9047; b) Y. Yuan, J. Chen, Q. Wan, R. M. Wilson, S. J. Danishefsky, *Biopolymers: Peptide Science* **2010**, *94*, 373.
- [3] Neuere Übersichten zur Chemie von Isonitriilen: a) M. Tobisu, N. Chatani, *Chem. Lett.* **2011**, *40*, 330; b) A. V. Lygin, A. de Meijere, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9280; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9094; c) A. V. Gulevich, A. G. Zhdanko, R. V. A. Orru, V. G. Nenajdenko, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 5235–5331.
- [4] a) A. W. Hofmann, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1867**, *144*, 114; b) A. Gautier, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1868**, *146*, 119.
- [5] a) J. J. Ritter, P. P. Minieri, *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 4045; b) F. R. Benson, J. J. Ritter, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 4128.
- [6] a) M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126; b) M. Passerini, *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 181.
- [7] a) I. Ugi, R. Meyr, U. Fitzer, C. Steinbrücker, *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 386; b) A. Dömling, I. Ugi, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3300; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3168.
- [8] Übersicht zur Beckmann-Umlagerung: R. E. Gawley, *Org. React.* **1988**, *35*, 1.
- [9] G. O. Jones, X. Li, A. E. Hayden, K. N. Houk, S. J. Danishefsky, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4093.
- [10] a) X. Li, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5446. Wir waren sicher nicht die ersten, die die Idee einer Umlagerung eines O-Acylimidats in ein Amid hatten. Diese Art der Umlagerung liegt der Umwandlung O-acylierter in N-acylierte Harnstoffe und der Mumm-Umlagerung zugrunde. Unseres Wissens wurden diese Reaktionen aber nicht über ein FCMA mit Isonitriilen in Zusammenhang gebracht. Siehe: b) F. Weygand, D. Hoffmann, E. Wunsch, *Z. Naturforsch. B* **1966**, *21*, 426; und c) O. Mumm, H. Hesse, H. Volquartz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1915**, *48*, 379.
- [11] In dieser Nomenklatur bezeichnen die römischen Zahlen die Art der Reaktivität, der Buchstabe gibt die Art des Carbonsäuresubstrats an. So sind Typ-I-Reaktionen direkte Kupplungen einer Säure oder Thiosäure mit einem Isonitril, Typ-II-Reaktionen umfassen dagegen den Angriff eines Nucleophils auf die FCMA-Zwischenstufe. Die Bezeichnung „a“ steht für eine Carbonsäure, „b“ für eine Thiosäure als Kupplungspartner.
- [12] a) A. Shaabani, E. Soleimani, A. H. Rezayan, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6137; b) J. Gloede, H. Gross, *Z. Chem.* **1968**, *8*, 219; c) J. Gloede, *J. Prakt. Chem.* **1982**, *324*, 667; d) T. Shono, M. Kimura, Y. Ito, K. Nishida, R. Oda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1964**, *37*, 635. Die Struktur wurde anhand des IR-Spektrums abgeleitet, siehe:

- e) M. Isaka, B. Boonkhaop, P. Rachtawee, P. Auncharoen, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 656.
- [13] X. Li, Y. Yuan, W. F. Berkowitz, L. J. Todaro, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13222.
- [14] Spektroskopische Hinweise auf eine solche Zwischenstufe sind beschrieben: a) J.-L. Hou, D. Ajami, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7810; b) P. Restorp, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11850.
- [15] X. Li, Y. Yuan, C. Kan, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13225.
- [16] X. Wu, X. Li, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1523.
- [17] Y. Yuan, J. Zhu, X. Li, X. Wu, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2329.
- [18] X. Wu, Y. Yuan, X. Li, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4666.
- [19] J. L. Stockdill, X. Wu, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5152.
- [20] Y. Rao, X. Li, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 12924.
- [21] J. Zhu, X. Wu, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 577.
- [22] X. Wu, J. L. Stockdill, P. Wang, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4098.
- [23] A. Rüegger, H. Kuhn, H. R. Lichti, R. Loos, R. Huguenin, A. Quiquerez, A. von Wartburg, *Helv. Chim. Acta* **1976**, *59*, 1075.
- [24] a) A. Laupacis, P. A. Keown, R. A. Ulan, N. McKenzie, C. R. Stiller, *Can. Med. Assoc. J.* **1982**, *126*, 1041; b) M. Dreyfuss, E. Harri, H. Hofmann, H. Kobel, W. Pache, H. Tscherter, *Eur. J. Appl. Microbiol.* **1976**, *3*, 125; c) E. Bueding, J. Hawkins, Y.-N. Cha, *Agents Actions* **1981**, *11*, 380.
- [25] X. Wu, J. L. Stockdill, P. K. Park, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 2378.
- [26] a) V. Marx, *Chem. Eng. News* **2005**, *83*(11), 17; b) J. J. Nestor, Jr., *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 4399.
- [27] a) L. Gentilucci, R. De Marco, L. Cerisoli, *Curr. Pharm. Des.* **2010**, *16*, 3185; b) V. J. Hruby, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 847.
- [28] X. Wu, P. K. Park, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7700.
- [29] W. König, R. A. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788.
- [30] P. Wang, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17045.
- [31] J. C. Sheehan, D. A. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 4726.
- [32] R. Liu, L. E. Orgel, *Nature* **1997**, *389*, 52.
- [33] a) S. T. Cohen-Anisfeld, P. T. Lansbury, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10531; b) S. T. Anisfeld, P. T. Lansbury, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5560.
- [34] a) M. Bodanszky, S. Natarajan, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 2495; b) M. Bodanszky, J. Z. Kwei, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1978**, *12*, 69.
- [35] P. Wang, X. Li, J. Zhu, J. Chen, Y. Yuan, X. Wu, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1597.