

Algenblüte

Deutsche Ausgabe: DOI: 10.1002/ange.201602755
Internationale Ausgabe: DOI: 10.1002/anie.201602755

Synthese von Aeruginosin-Chlorsulfopeptiden und Untersuchung ihrer Toxizität

Manuel Scherer, Dominik Bezold und Karl Gademann*

Abstract: Gesundheitsschädliche Algenblüten treten weltweit immer häufiger auf. Daher bedarf es Studien zur Identifikation der verantwortlichen Toxine sowie zu deren Wirkmechanismus, um die Ökosysteme inklusive der betroffenen Menschen und Tiere schützen zu können. In der hier vorgestellten Arbeit wurde das Chlorsulfopeptid Aeruginosin 828A, das für Krebstiere ähnlich toxisch ist wie das bekannte Microcystin-LR, erstmals synthetisiert. Darüber hinaus wurden drei Kongenere mit verschiedenen Permutationen der Chlorid- und Sulfat-Substituenten hergestellt, mit denen Toxizitätsstudien ohne das Risiko von Kontaminationen durch andere natürliche Toxine durchgeführt werden konnten. In einem Toxizitätsassay mit dem empfindlichen Biberschwanzfisch (Thamnocephalus platyurus) zeigte sich, dass die Toxizität in Gegenwart der Sulfat-Gruppe hoch ist, während das Chlorid-Derivat NMR-spektroskopischen Untersuchungen zufolge eine andere Konformation einnimmt, was die Protease-Inhibition beeinflussen könnte.

Schädliche Algenblüten kommen sowohl in marinen als auch in Süßwasser-Ökosystemen immer häufiger vor und gefährden damit ernsthaft die Trinkwasserversorgung, die Fischerei und die Nutzung von Gewässern zu Freizeitzwecken.^[1] Das am häufigsten vorkommende cyanobakterielle Toxin Microcystin ist hinsichtlich seiner Giftigkeit und der zugrunde liegenden molekularen Wirkmechanismen gut erforscht,^[2] sodass die Weltgesundheitsorganisation (WHO) bereits einen Grenzwert für Microcystin-LR im Trinkwasser erlassen hat. In den letzten Jahren wurden viele Cyanobakterien-Stämme entdeckt, die kein Microcystin produzieren, sondern stattdessen andere für aquatische Lebewesen toxische Verbindungen.^[3] Bislang sind jedoch für viele dieser Toxine der Wirkmechanismus und die molekularen Grundlagen für die giftige Wirkung noch unerforscht.^[3]

Chlorsulfopeptide wie Aeruginosin 828A wurden vor kurzem als Abwehrstoffe von toxischen Cyanobakterien beschrieben, die kein Microcystin produzieren können (Abbildung 1).^[4] Während die molekularen Grundlagen für die Toxizität von Chlorsulfolipiden wie Danicalipin bereits in-

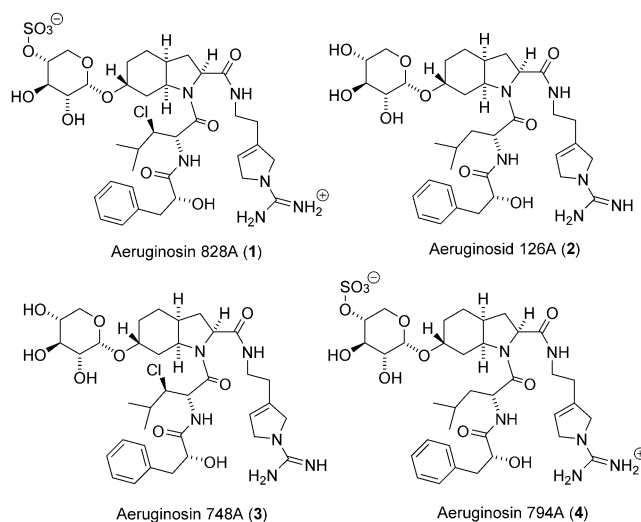


Abbildung 1. Aeruginosin 828A (1), Aeruginosin 126A (2) sowie synthetische Analoga Aeruginosin 748A (3) und 794A (4).

tensiv durch Studien mit synthetischen Kongeneren untersucht worden sind,^[5] wurden bisher nur aus natürlichen Produzenten isolierte Chlorsulfopeptide erforscht.^[4] Da jedoch bei Verbindungen, die aus natürlichen Quellen stammen, eine Kontamination durch andere Toxine oder anderweitig biologisch aktive Moleküle nicht ausgeschlossen werden kann, war es unser Ziel, die Giftigkeit von synthetischen Toxinen zu untersuchen und In-vivo-Studien durchzuführen. Wir waren besonders interessiert daran, 1) Peptide mit allen Permutationen hinsichtlich der Chlorid- und Sulfat-Substituenten zu synthetisieren und zu charakterisieren (Abbildung 1) und 2) die Rolle dieser funktionellen Gruppen hinsichtlich der Toxizität der Verbindungen zu evaluieren. Hier berichten wir über die Synthese von vier Naturstoffen und deren Kongeneren sowie die damit durchgeführten Toxizitätsstudien mit dem Krebstier *Thamnocephalus platyurus*.

Als erste synthetische Zielstrukturen wählten wir das natürlich vorkommende Chlorsulfopeptid Aeruginosin 828A (1), das eine sulfatierte Xylose (Xyl)-Gruppe sowie eine Chlorleucin (Cleu)-Einheit enthält, sowie Aeruginosin 126A (2),^[6] das weder Sulfat- noch Chlorid-Substituenten enthält. Es ist bemerkenswert, dass Chlorsulfopeptid 1 aus einem Microcystin-defizienten toxischen *Planktothrix*-Stamm isoliert wurde, während Peptid 2 von einem *Planktothrix*-Stamm produziert wird, der auch Microcystin herstellt.^[7] Diese Beobachtungen legen nahe, dass Chlorsulfopeptid 1 den toxischen Phänotyp des Cyanobakteriums wiederherstellt, wäh-

[*] M. Scherer, D. Bezold, Prof. Dr. K. Gademann
Departement Chemie, Universität Basel
St. Johannis-Ring 19, 4056 Basel (Schweiz)
M. Scherer, Prof. Dr. K. Gademann
Institut für Chemie, Universität Zürich
Winterthurerstrasse 190, 8057 Zürich (Schweiz)
E-Mail: karl.gademann@uzh.ch

Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummer (ORCID) eines Autors sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201602755> zu finden.

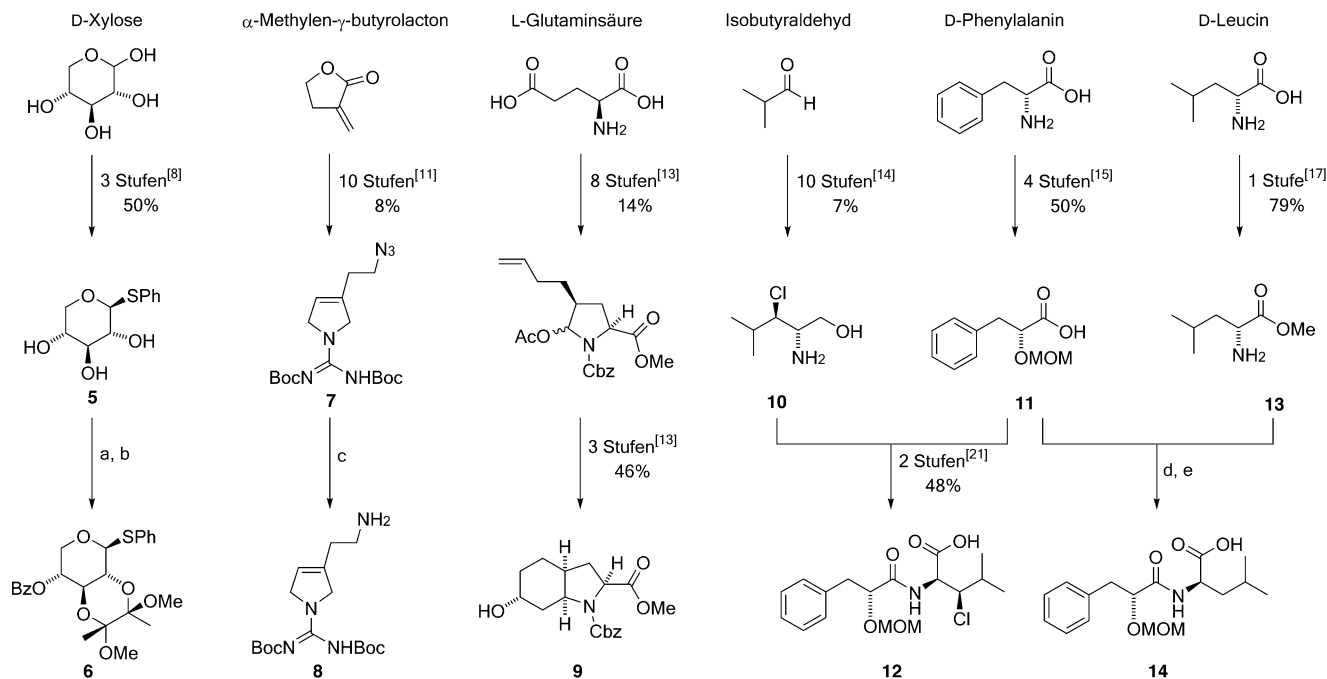
rend **2** weniger toxisch sein sollte. Weitere experimentelle Hinweise, die diese Hypothese stützen, stammen von der Gruppe um Blom, die die hohe Toxizität von **1** beschrieb.^[4] Überraschenderweise wurde nichts über die Giftigkeit von **2** berichtet, was ein weiterer Ansporn für unsere Arbeiten war. Um die dargelegte Hypothese zu evaluieren und die strukturellen Grundlagen für die Toxizität der Verbindungen zu untersuchen, wählten wir Aeruginosin 748A (**3**) und 794A (**4**) als weitere Zielstrukturen für synthetische Analoga, da **3** zwar die Chlorleucin-, aber nicht die Sulfat-Gruppe, und **4** die Sulfat-Gruppe, jedoch nicht den Chlorid-Substituenten enthält.

Zunächst stellten wir die benötigten Synthesebausteine für die verschiedenen Chlorsulfopeptide her (Schema 1). Die selektive Anbringung der Sulfat-Gruppe an der O4-Position des Xylosyl-Substituenten erforderte eine orthogonale Schutzgruppenstrategie hinsichtlich der Positionen O2 und O3, sodass wir für O4 eine basenlabile und für O2 und O3 eine säurelabile Schutzgruppe wählten. Die Synthese der Xylose-Einheit geht von dem bereits bekannten Xylosid **5** aus, das in drei Stufen aus kommerziell erhältlicher D-Xylose hergestellt wird.^[8] An der Position O4 konnte durch Reaktion mit Benzoylchlorid und Me₂SnCl₂ als Katalysator regioselektiv eine Benzoyl(Bz)-Schutzgruppe angebracht werden (81 % Ausbeute).^[9] Die Hydroxygruppen an Position 2 und 3 wurden durch Reaktion mit 2,3-Butandion und Trimethylorthoformiat in Gegenwart von Camphersulfonsäure als Butandiacetal (BDA) geschützt.^[10] Vorausgegangene Versuche zur Anbringung der BDA-Schutzgruppe hatten stets zu einer Mischung verschiedener Isomere geführt; erst

durch Optimierung der Reaktionsbedingungen konnte das Xylose-Derivat **6** diastereomerenrein erhalten werden.

Der 1-(N-Amidino-Δ³-pyrrolino)ethyl(Adc)-Seitenkettenbaustein **8** wurde durch Modifikation einer Vorschrift von Hanessian et al. erhalten,^[11] die ausgehend von kommerziell erhältlichem α-Methylen-γ-butyrolacton in zehn Stufen mit 8 % Gesamtausbeute zum Dihydropyrrol-Intermediat **7** führt. Während die Gruppe um Hanessian eine Staudinger-Reduktion für die Umwandlung des Azids zum Amin wählte, entschieden wir uns für eine katalytische Hydrierung mit dem Lindlar-Katalysator.^[12] Durch diese Modifikation wurde die Bildung von Nebenprodukten unterbunden und eine höhere Ausbeute von 96 % erzielt. Es ist hierbei bemerkenswert, dass die Dihydropyrrol-Einheit unter den angewendeten Reaktionsbedingungen intakt blieb.

Die L-2-Carboxy-6-octahydroindol(L-Choi)-Gruppe wurde unter Anwendung der Aza-Prins-Route aus der Totalsynthese von Oscillarin hergestellt,^[13,14] sodass der Synthesebaustein **9** in 6.4 % Ausbeute über elf Stufen erhalten werden konnte. Das Chlorleucin-Derivat **10** wurde ausgehend von Isobutyraldehyd in zehn Stufen mit einer Gesamtausbeute von 7 % gemäß der Vorschrift aus der Totalsynthese von Chlordysinosin A synthetisiert.^[15] Peptidkupplung des Chlorleucin-Derivats **10** mit dem Methoxymethyl(MOM)-geschützten Phenylmilchsäure(Pla)-Derivat **11**^[16] und anschließende Oxidation des Alkohols zur Carbonsäure führten zum Cleu/Pla-Baustein **12**. Der entsprechende Synthesebaustein ohne Chlorid-Substituenten für das Dechlorderivat von Aeruginosin 828A wurde durch Kupplung des Phenylmilchsäure-Derivats **11** mit Leucinmethylester (Leu) **13** herge-



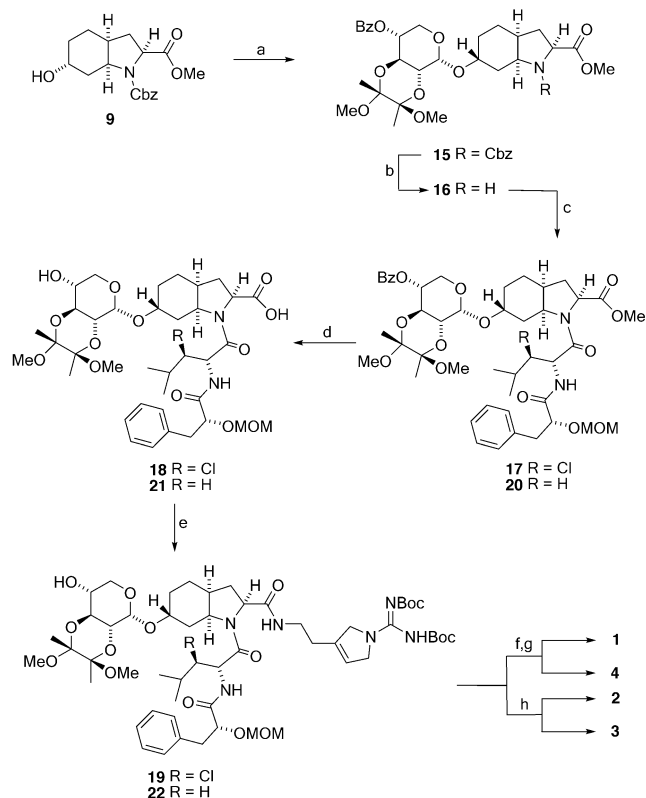
Schema 1. Synthese der verschiedenen Synthesebausteine. Reagentien und Reaktionsbedingungen: a) Benzoylchlorid, Me₂SnCl₂, DIPEA, THF/H₂O (9:1), 25 °C, 81 %; b) 2,3-Butandion, HC(OCH₃)₃, CSA, MeOH, 67 °C, 69 %; c) Lindlar-Kat., H₂, MeOH, 25 °C, 96 %; d) PyBOP, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 25 °C, 81 %; e) LiOH, THF/H₂O (5:3), 25 °C, 98 %. DIPEA = N,N-Diisopropylethylamin; THF = Tetrahydrofuran; CSA = Camphersulfonsäure; PyBOP = (Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat.

stellt.^[17] Durch Hydrolyse des Methylesters wurde Intermediat **14** in exzellenter Ausbeute erhalten.

Nach der Herstellung aller benötigten Synthesebausteine starteten wir mit deren Verknüpfung zu den Zielmolekülen (Schema 2). Unsere Strategie begann mit der anspruchsvollen α -Xylosylierung der zentralen L-Choi-Einheit **9**. Ausgehend von Synthesebaustein **6** wurden verschiedene Glykosyl-Donor-Moleküle synthetisiert, bei denen die Sulfat-Gruppe an der O4-Position als Trichlorethylester geschützt war.^[18] Jedoch zeigten alle Versuche zur Glykosylierung mit der geschützten Sulfat-Gruppe keinen Erfolg, da die elektronenziehende Wirkung des Sulfats einen zu starken „entwaffnenden“ Einfluss auf den Glykosyl-Donor hat,^[19] sodass entweder nur geringe Umsetzung oder die bevorzugte Bildung des β -Anomers beobachtet wurde. Wir entschieden uns daher dafür, die Sulfat-Gruppe erst in einem späteren Stadium einzuführen und konzentrierten uns auf Glykosyl-Donoren mit einer Benzoyl-Schutzgruppe an der O4-Position und

verschiedenen Abgangsgruppen an C1. Im Rahmen unserer Testreihe schnitt Xylosid **6** mit der Thiophenyl-Abgangsgruppe in Kombination mit NIS als Aktivator und AgOTf als Promotor hinsichtlich Selektivität und Reaktivität am besten ab.^[20] Nach Optimierung der Xylosylierung wurden ein Anomerenverhältnis α/β von 5:3 sowie eine gute Ausbeute von 81 % erzielt. Die nun angestrebte Abspaltung der Benzoyloxycarbonyl(Cbz)-Gruppe fand unter den Bedingungen der katalytischen Hydrierung (Pd/C oder Pd(OH)₂ mit H₂)^[11] gar nicht oder nur mit geringem Umsatz statt. Durch Reaktion mit Triethylsilan in Gegenwart von PdCl₂ und NEt₃ gemäß einer Vorschrift von Birkofer et al. gelang die Umsetzung zum freien Amin **16** aber schließlich in 88 % Ausbeute.^[21]

Im nächsten Schritt wurde das freie Amin **16** mit dem Cleu-Seitenkettenbaustein **12** gekuppelt. Erste Versuche zu dieser Reaktion mit 3-(Diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on (DEBPT) als Kupplungsreagens und 2,6-Lutidin als Base führten zur Eliminierung von HCl.^[22] Ein ähnliches Reaktionsverhalten oder die Racemisierung der Ausgangsverbindung wurden bereits bei Synthesen anderer Aeruginosine beschrieben.^[15,23] Diese Beobachtungen sind auf die geringe Reaktivität des sekundärenamins in der L-Choi-Einheit zurückzuführen, aufgrund derer die Reaktionszeiten für die Kupplung mehrere Tage betragen. Die Eliminierung kann mechanistisch durch die Bildung eines Oxazoloni-Intermediats erklärt werden, das leicht deprotoniert werden kann, sodass schließlich HCl eliminiert wird.^[24] Auch durch Kombination des Kupplungsreagens DEBPT mit anderen Basen wie NMM, DIPEA oder NaHCO₃ konnte dieses Problem nicht gelöst werden. Eine Änderung der Reaktionstemperatur hatte ebenfalls keinen entscheidenden Einfluss auf den Ausgang der Reaktion. Wir testeten daraufhin verschiedene Kupplungsreagentien [z.B. PyBOP, Bromtrypyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBroP), N-[(Dimethylamino)-1H-1,2,3-triazol[4,5-b]pyridin-1-ylmethyl]-N-methylmethanaminiumhexafluorophosphat (HATU)] und identifizierten DMTMM als am besten geeigneten Promotor für die angestrebte Kupplung.^[25] Bei Kombination von DMTMM als Kupplungsreagens und NMM als Base war die Peptidkupplung bereits nach zwei Stunden ohne Eliminierung von HCl und in einer exzellenten Ausbeute von 87 % abgeschlossen. Die Hydrolyse des Methylesters **17** zur Säure **18** wurde in 0.1 N wässriger LiOH-Lösung durchgeführt. Mithilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (UHPLC) konnte der Reaktionsfortschritt verfolgt und die Reaktion rechtzeitig beendet werden, um die bei längeren Reaktionszeiten wiederum beobachtete Eliminierung von HCl zu vermeiden. Mit PyBOP als Kupplungsreagens und 2,6-Lutidin als Base wurde die freie Säure **18** mit dem Adc-Seitenkettenbaustein **8** in moderater Ausbeute von 60 % zum Tetrapeptid **19** gekuppelt. Sulfatierung der OH-Gruppe in 4-Position an der Xylose-Einheit wurde durch Reaktion mit im Überschuss zugegebenem SO₃-Pyridin-Komplex in Pyridin erreicht. Die globale Entschützung der *tert*-Butoxycarbonyl(Boc)-, MOM- und 2,3-BDA-Gruppe wurde mit Trifluoressigsäure in CH₂Cl₂ durchgeführt. Aeruginosin 828A (**1**) wurde auf diese Weise in einer Ausbeute von 72 % über die letzten beiden Stufen erhalten. Ebenso konnte Aerugino-



Schema 2. Synthese von Aeruginosin 828A (**1**), Aeruginosid 126A (**2**) sowie den Derivaten **3** und **4**. Reagentien und Reaktionsbedingungen: a) **6**, NIS, AgOTf, Et₂O, 25 °C, 50 %; b) PdCl₂, Et₃SiH, Et₃N, 25 °C, 88 %; c) **12** oder **14**, DMTMM, NMM, CH₂Cl₂, 0–25 °C, (**17**, 87 % ausgehend von **16**; **20**, 58 % ausgehend von **16**); d) 0.1 N LiOH, THF/H₂O (5:3), 25 °C, (**18**, 77 % ausgehend von **17**; **21**, 95 % ausgehend von **20**); e) **8**, PyBOP, 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 25 °C, (**19**, 60 % ausgehend von **18**; **22**, 64 % ausgehend von **21**); f) SO₃-Pyridin, Pyridin, 50 °C; g) CH₂Cl₂/TFA (10:1), 25 °C, (**1**, 72 % ausgehend von **19**; **4**, 75 % ausgehend von **22**); h) CH₂Cl₂/TFA (10:1), 25 °C, (**3**, 70 % ausgehend von **19**; **2**, 73 % ausgehend von **22**). NIS = *N*-Iodosuccinimid; OTf = Trifluormethansulfonat; DMTMM = 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholiniumchlorid; THF = Tetrahydrofuran; NMM = 4-Methylmorpholin; TFA = Trifluoressigsäure.

sin 748A (**3**), das Analog ohne Sulfat-Gruppe, durch Überspringen des Sulfatierungsschritts ausgehend von Intermediat **19** durch globale saure Entschützung in 70 % Ausbeute hergestellt werden. Der gleichen Route wie für Aeruginosin 828A folgend konnten auch die Analoga Aeruginosid 126A (**2**) sowie Aeruginosin 794A (**4**) synthetisiert werden. Kupplung des Leu/Pla-Dipeptids **14** mit der L-Choi/Xyl-Einheit **16** führte in moderater Ausbeute zu Tripeptid **20**. Esterhydrolyse von **20** und anschließende Kupplung mit dem Adc-Seitenkettenbaustein **8** ergab Tetrapeptid **21**, von dem ausgehend Aeruginosid 126A (**2**) und das synthetische Analog **4** jeweils in guter Ausbeute hergestellt werden konnten. Beim Vergleich der NMR-Spektren des synthetischen Materials mit den in der Literatur gezeigten Spektren des isolierten Aeruginosids 126A (**2**) fallen geringe Unterschiede hinsichtlich der chemischen Verschiebung der Signale auf. Diese Unterschiede könnten auf den verschiedenen Wassergehalt oder auf die Anwesenheit eines Gegenions nach Aufreinigung durch HPLC zurückzuführen sein. Ein solches Phänomen ist von unserer Gruppe bereits in Zusammenhang mit anderen Naturstoffen beschrieben worden.^[26] Die Übereinstimmung des isolierten und des synthetischen Materials kann NMR-spektroskopisch jedoch nur durch Mischung äquimolarer Mengen der beiden Proben oder chromatographisch durch Coinjektion an der HPLC definitiv bewiesen werden. Es ist außerdem zu erwähnen, dass die absolute Konfiguration der Xylose-Einheit ausgehend vom isolierten Naturstoff bisher nicht geklärt worden ist. Allerdings sollten die Unterschiede in den NMR-Spektren im Falle zweier stereoisomerer Xylose-Einheiten deutlich größer ausfallen.

Aus den ¹H-NMR-Spektren wird auch ersichtlich, dass die fortgeschrittenen Intermediate mit der Cleu-Seitenkette ebenso wie Aeruginosin 828A (**1**) und Aeruginosin 748A (**3**) mit einem großen Überschuss (> 50:1) oder ausschließlich als ein Rotamer vorliegen (Abbildung 2). Eine Analyse der ROESY-Spektren von **1** und **3** ergibt, dass es sich um das *trans*-Rotamer handelt, denn es werden Kern-Overhauser-Effekt(NOE)-Wechselwirkungen zwischen Cleu-H2 und Choi- (H7, H7' und H7a) beobachtet. Im Unterschied dazu liegen die Intermediate ohne Chlorid-Substituent ebenso wie Aeruginosid 126A (**2**) und Aeruginosin 794A (**4**) als Gemisch

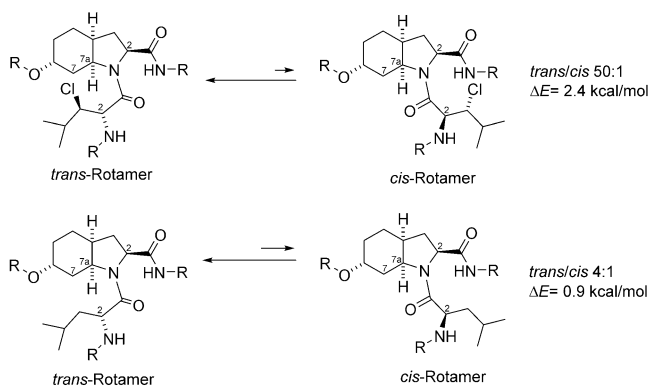


Abbildung 2. Gleichgewicht zwischen den Rotameren durch Drehung um die Amidbindung in der L-Choi-Cleu- und der L-Choi-Leu-Einheit.

im Verhältnis von ungefähr 4:1 der beiden Rotamere vor, die durch Drehung um die L-Choi-Leu-Amidbindung ineinander übergehen. Das Auftreten zweier Rotamere von **2** war bereits von Dittmann et al. beschrieben worden^[6] und konnte sowohl für **2** als auch für **4** durch das Auftreten von Austausch-Kreuzpeaks zwischen den Methylgruppen-Signalen der rotameren Leucin-Gruppen im jeweiligen ROESY-Spektrum bestätigt werden. Die Spektren der jeweiligen *trans*-Rotamere von **2** und **4** zeigen die oben bereits beschriebenen NOE-Wechselwirkungen, wohingegen bei den *cis*-Rotameren NOE-Wechselwirkungen zwischen Leu-H2 und L-Choi-H2 beobachtet werden. Der Halogen-Substituent hat offenbar einen Einfluss auf die Konformation der verschiedenen Aeruginosine, indem er die Torsion um die Amidbindung zwischen der L-Choi- und der Leu-Einheit einschränkt. Ein ähnliches Phänomen wurde bereits von Hanessian et al. für artifizielle Aeruginosin-Hybride beschrieben. Darüber hinaus wurde vermutet, dass durch solche konformativen Effekte die Protease-Inhibition verstärkt wird.^[27]

Da nun vier synthetische Derivate zur Verfügung standen, sollte der Einfluss der Sulfat- und Chlorid-Substituenten auf die Bioaktivität untersucht werden. Experimente zur Umwelttoxizität wurden in standardisierten Assays mit dem empfindlichen Süßwasserkrebs *Thamnocephalus platyurus* durchgeführt. Hierfür wurde für jede Verbindung eine Konzentrationsreihe von 0.41 bis 100 μ M für **1** und von 1.2 bis 150 μ M für **2**, **3** und **4** für Tests zur akuten Toxizität vorbereitet (24 h). Pro Versuch wurden 10–16 Krebstiere eingesetzt und pro Konzentration drei bis vier unabhängige Versuche durchgeführt. Nach jeweils 24 Stunden wurden die lebenden und toten Tiere gezählt (Abbildung 3).

Für **1** hatten Blom und Mitarbeiter einen LC₅₀-Wert von 22.4 μ M bei *T. platyurus* bestimmt,^[4] der damit nur wenig höher liegt als derjenige des bekannten biologischen Toxins Microcystin.^[28] Unsere Versuche mit dem synthetischen Aeruginosin 828A ergaben eine vergleichbare Toxizität mit einem LC₅₀-Wert von 34.5 μ M. Verbindung **3**, die keine Sulfat-Gruppe enthält, weist einen LC₅₀-Wert von 24.2 μ M auf und wirkt damit ähnlich toxisch wie **1**. Bemerkenswert ist die im Vergleich dazu erhöhte Toxizität des chlorfreien Derivats **4**

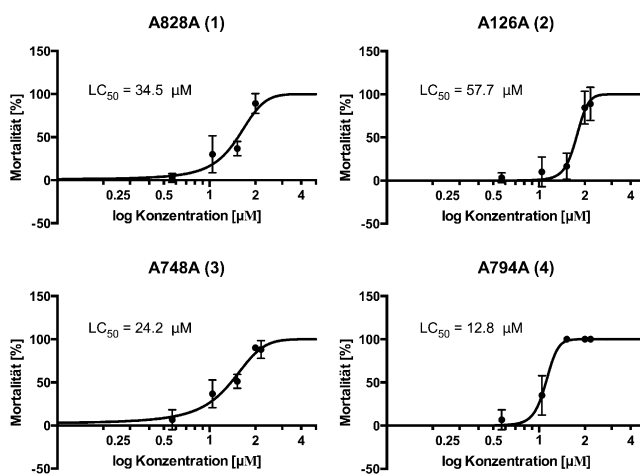


Abbildung 3. Zusammenhang zwischen Konzentration von **1–4** und Mortalität zur Untersuchung der akuten Toxizität für *T. platyurus*.

mit einem deutlich niedrigeren LC_{50} -Wert von $12.8 \mu\text{M}$. Die oben beschriebenen NMR-Studien hatten gezeigt, dass der Chlorid-Substituent einen starken Einfluss auf die Konformation der Aeruginosine hat. Es ist außerdem bereits beschrieben worden, dass die Gegenwart des Chlorid-Substituenten in der Leucin-Gruppe wichtig für die Inhibition von Enzymen wie Thrombin ist.^[13b,27] Für die Toxizität ist dieser „Chlor-Substituenteneffekt“ nachteilig, höchstwahrscheinlich durch die Hinderung der Rotation um die Amidbindung zwischen der L-Choi- und der Leu-Gruppe, die mit einer „entropischen Strafe“ verbunden ist. Verbindung **2**, die weder die Sulfat-Gruppe noch den Chlorid-Substituenten enthält, zeigt eine sehr viel geringere Toxizität mit einem LC_{50} -Wert von $57.7 \mu\text{M}$. Damit stützen die biologischen Tests die Hypothese, dass 1) die Einführung entweder eines Chlorid-Substituenten oder der Sulfat-Gruppe die Toxizität erhöht und 2) die Kombination von Chlorid-Substituent und Sulfat-Gruppe in derselben Verbindung zu einer Abschwächung der Toxizität führt. Diese beiden Gesichtspunkte werden durch ökologische Beobachtungen gestützt: Chlorsulfopeptide wie **1** werden von Microcystin-defizienten, aber dennoch toxischen Cyanobakterien produziert,^[4] da diese Chlorsulfopeptide offenbar den toxischen Phänotyp wiederherstellen. Im Unterschied dazu wird das sehr viel weniger toxische Kongener **2**, das weder Sulfat- noch Chlorid-Substituenten enthält, aus einem Microcystin-produzierenden Stamm isoliert.^[7] Offenbar können Cyanobakterien, denen ein Gen für die Microcystin-Produktion abhandengekommen ist, ihre Toxizität durch Einführung einer Sulfat-Gruppe am Aeruginosin wiederherstellen (Übergang von **2** zu **4**).

Hier wurde die erste Totalsynthese von Aeruginosin 828A vorgestellt (längste lineare Synthesesequenz: 18 Stufen, Gesamtausbeute: 13 % ausgehend vom bekannten Synthesebaustein **9**). Mithilfe der hier vorgestellten Route konnten außerdem Aeruginosin 126A sowie die synthetischen Analoga Aeruginosin 748A und Aeruginosin 794A hergestellt werden. Die Schlüsselschritte der Synthese sind die α -Xylosylierung der zentralen L-Choi-Einheit **9** sowie die Peptidkupplung von Amin **16** mit der Cleu-Einheit **12**. Die synthetisierten Verbindungen wurden hinsichtlich ihrer Toxizität auf *T. platyurus* getestet. Diese Bioassays belegten den essenziellen Charakter der Sulfat-Gruppe für die toxische Wirkung. Damit stützen unsere Befunde die Hypothese, dass Chlorsulfopeptide den toxischen Phänotyp von Cyanobakterien wiederherstellen, die kein Microcystin produzieren können, und lassen darauf schließen, dass sich die Untersuchung der Toxizität von Cyanobakterien keinesfalls auf die Microcystin-Produktion beschränken sollte.

Danksagung

Wir bedanken uns bei Priv.-Doz. Dr. D. Häussinger und S. Jurt für NMR-spektroskopische Messungen sowie bei Dr. M. Neuburger für Röntgenstrukturanalysen.

Stichwörter: Algenblüte · Medizinische Chemie · Naturstoffe · Totalsynthesen · Toxikologie

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 9427–9431
Angew. Chem. **2016**, 128, 9575–9580

- [1] Übersichtsartikel: H. W. Paerl, J. Huisman, *Science* **2008**, 320, 57–58.
- [2] Übersichtsartikel: a) R. M. Dawson, *Toxicon* **1998**, 36, 953–962; b) S. Merel, D. Walker, R. Chicana, S. Snyder, E. Baurès, O. Thomas, *Environ. Int.* **2013**, 59, 303–327; c) K. Gademann, C. Portmann, *Curr. Org. Chem.* **2008**, 12, 326–341.
- [3] Übersichtsartikel: a) C. Wiegand, S. Pflugmacher, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2005**, 203, 201–218; b) M. E. van Apeldoorn, H. P. van Egmond, G. J. A. Speijers, G. J. I. Bakker, *Mol. Nutr. Food Res.* **2007**, 51, 7–60; c) G. A. Codd, L. F. Morrison, J. S. Metcalf, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2005**, 203, 264–272.
- [4] E. Kohler, V. Grundler, D. Häussinger, R. Kurmayer, K. Gademann, J. Pernthaler, J. F. Blom, *Harmful Algae* **2014**, 39, 154–160.
- [5] a) C. Nilewski, R. W. Geisser, E. M. Carreira, *Nature* **2009**, 457, 573–576; b) D. K. Bedke, G. M. Shibuya, A. Pereira, W. H. Gerwick, T. H. Haines, C. D. Vanderwal, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 7570–7572; c) A. M. Bailey, S. Wolfrum, E. M. Carreira, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 639–643; *Angew. Chem.* **2016**, 128, 649–653; d) D. K. Bedke, C. D. Vanderwal, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 15–25.
- [6] K. Ishida, G. Christiansen, W. Y. Yoshida, R. Kurmayer, M. Welker, N. Valls, J. Bonjoch, C. Hertweck, T. Börner, T. Hemscheidt, E. Dittmann, *Chem. Biol.* **2007**, 14, 565–576.
- [7] L. Tonk, P. M. Visser, G. Christiansen, E. Dittmann, E. O. F. M. Snelder, C. Wiedner, L. R. Mur, J. Huisman, *Appl. Environ. Microbiol.* **2005**, 71, 5177–5181.
- [8] S. Tamura, H. Abe, A. Matsuda, S. Shuto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 1021–1023; *Angew. Chem.* **2003**, 115, 1051–1053.
- [9] Y. Demizu, Y. Kubo, H. Miyoshi, T. Maki, Y. Matsumura, N. Moriyama, O. Onomura, *Org. Lett.* **2008**, 10, 5075–5077.
- [10] L. S. Khasanova, F. A. Gimalova, S. A. Torosyan, A. A. Fatykhov, M. S. Miftakhov, *Russ. J. Org. Chem.* **2011**, 47, 1125–1129.
- [11] S. Hanessian, R. Margarita, A. Hall, S. Johnstone, M. Tremblay, L. Parlanti, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 13342–13343.
- [12] a) P. G. Reddy, T. V. Pratap, G. D. K. Kumar, S. K. Mohanty, S. Baskaran, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3740–3743; b) S. Mukherjee, R. Sivappa, M. Yousufuddin, C. J. Lovely, *Org. Lett.* **2010**, 12, 4940–4943.
- [13] a) S. Hanessian, M. Tremblay, J. F. W. Petersen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 6064–6071; Übersichtsartikel zur Synthese und biologischen Aktivität von Oscillarin und anderen Aeruginosinen: b) K. Ersmark, J. R. Del Valle, S. Hanessian, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1202–1223; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 1220–1242.
- [14] Alternative Ansätze zur Synthese der Choi-Einheit finden sich unter anderem in: a) N. Valls, M. López-Canet, M. Vallribera, J. Bonjoch, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 11248–11249; b) S. Diethelm, C. S. Schindler, E. M. Carreira, *Org. Lett.* **2010**, 12, 3950–3953; c) B. M. Trost, T. Kaneko, N. G. Andersen, C. Tapertzhofen, B. Fahr, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 18944–18947; d) D. Dailier, G. Danoun, O. Baudoin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 4919–4922; *Angew. Chem.* **2015**, 127, 5001–5004.
- [15] S. Hanessian, J. R. Del Valle, Y. Xue, N. Blomberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 10491–10495.
- [16] P. Lin, A. Ganesan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 511–514.
- [17] N. Elders, R. F. Schmitz, F. J. J. de Kanter, E. Ruijter, M. B. Groen, R. V. A. Orru, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 6135–6142.
- [18] L. J. Ingram, S. D. Taylor, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3503–3506; *Angew. Chem.* **2006**, 118, 3583–3586.
- [19] a) D. R. Mootoo, P. Konradsson, U. Udodong, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5583–5584; b) B. Fraser-Reid, Z. Wu, U. E. Udodong, H. Ottosson, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 6068–

- 6070; c) Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734–753.
- [20] O. Kanie, Y. Ito, T. Ogawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 12073–12074.
- [21] a) L. Birkofer, E. Bierwirth, A. Ritter, *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 821–824; b) M. Sakaitani, M. Kurokawa, Y. Ohfuné, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3753–3754.
- [22] S. Hanessian, X. Wang, K. Ersmark, J. R. Del Valle, E. Klegraf, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4232–4235.
- [23] S. Diethelm, C. S. Schindler, E. M. Carreira, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 6071–6080.
- [24] a) M. Goodman, L. Levine, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 2918–2922; b) M. Goodman, W. J. McGahren, *Tetrahedron* **1967**, *23*, 2031–2050; c) D. S. Kemp, J. Rebek, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5792–5793.
- [25] A. Falchi, G. Giacomelli, A. Porcheddu, M. Taddei, *Synlett* **2000**, 275–277.
- [26] a) J. Hoecker, K. Gademann, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 670–673; b) H. Miyatake-Onozabal, E. Kaufmann, K. Gademann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1933–1936; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1953–1956.
- [27] S. Hanessian, K. Ersmark, X. Wang, J. R. Del Valle, N. Blomberg, Y. Xue, O. Fjellström, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3480–3485.
- [28] J. F. Blom, F. Jüttner, *Toxicon* **2005**, *46*, 465–470.

Eingegangen am 18. März 2016
Online veröffentlicht am 22. Juni 2016