

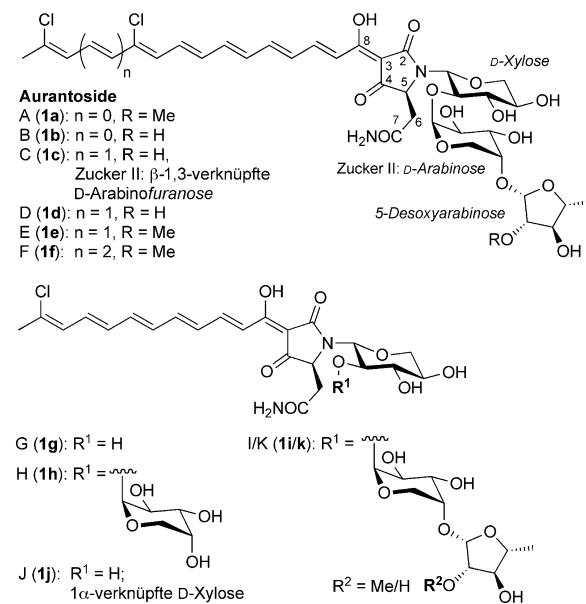
Totalsynthese von Aurantosid G, einer N- β -glycosylierten 3-Oligoenoyltetramssäure aus *Theonella swinhoei*

Markus Petermichl, Sebastian Loscher und Rainer Schobert*

Abstract: Erstmals wurde eine natürliche N-glycosyierte 3-Acyltetramssäure synthetisiert. Aurantosid G ist ein tiefroter, in Reinsubstanz höchst empfindlicher Metabolit des Meereschwamms *Theonella swinhoei*. Es hat eine chlorsubstituierte Dodecapentaenoyl-Seitenkette an einer L-Asparagin-abgeleiteten Tetramssäure, deren Lactam-Stickstoffatom eine β -konfigurierte D-Xylose trägt. Die Seitenkette wurde über konsekutive Wittig- und HWE-Olefinitionen aufgebaut und für die N-Acylierung eines Asparaginats verwendet, dessen Aminogruppe bereits vorher über eine Fukuyama-Mitsunobu-Reaktion mit einer D-Xylose verknüpft worden war. In diesem N-Acylierungsschritt wurde auch die für die fungizide Aktivität essenzielle β -Konfiguration der Xylose festgelegt, wofür große, elektronenreiche PMB-Schutzgruppen am Zucker verantwortlich sind. Der Heterocyclus wurde zuletzt quantitativ durch eine basische Lacey-Dieckmann-Kondensation eines vollständig entschützten N-(β -Ketoacyl)aminosäureesters geschlossen.

Natürliche 3-Acyltetramssäuren (d.h. 3-Acylpyrrolidin-2,4-dione) sind hybride Polyketid-Aminosäure-Metaboliten, die von Bakterien, Schimmelpilzen, höheren Pilzen und Schwämmen produziert werden und die häufig ein breites Spektrum biologischer Aktivitäten zeigen.^[1] Wegen der Flexibilität der Polyketidbiosynthese kommen sie in vielen Struktur- und Komplexitätsvarianten vor. Etliche von ihnen enthalten Zuckerreste. Die Mehrzahl von ihnen ist am Ende der 3-Acylseitenkette O-glycosyliert, etwa die Epicoccamide^[2] und Ancorinoside,^[3] andere weisen C-Glycosylierung an dieser Stelle auf, z.B. die Aflastatine,^[4] oder aber N-Glycosylierung am Lactam-Stickstoffatom, wie bei den Aurantosiden^[5] und Rubrosiden.^[6] Bisher wurden erst wenige Totalsynthesen solcher Glycotetramate publiziert, allerdings noch keine von N-glycosylierten Tetramssäuren.^[7] Alle bekannten Aurantoside A–K (**1a–k**) wurden als orange-rote Pigmente aus marinen Steinschwämmen der Genera *Theonella* (**1a**,^[5a,b] **1b**,^[5a] **1g–i**,^[5d] **1j**,^[5e] *Homophymia* (**1c**),^[5c] *Siliquariaspongia* (**1d–f**)^[5f] oder *Melophlus* (**1k**)^[5g] isoliert. Sie haben eine Asparagin-abgeleitete Tetramssäure gemein, die einen mono- oder dichlorierten Polyyenoylrest an C-3 trägt und die N-glycosyliert ist, entweder mit D-Xylose oder mit Di- und Trisacchariden, die D-Xylose, D-Arabinose und 5-

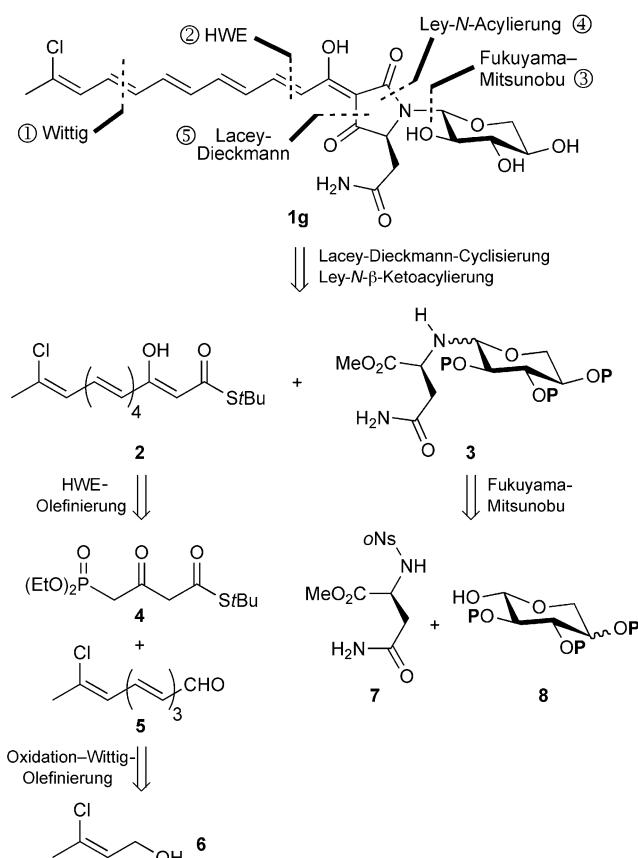
Desoxyarabinofuranose enthalten. Einige Aurantoside haben fungizide Eigenschaften, die aber keine klare Strukturabhängigkeit aufweisen. Die Aurantoside A, B, E und I zeigten Wirkung gegen *Candida albicans* (Wildtyp) mit minimal inhibitorischen Konzentrationen (MICs) von $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ oder weniger, während die Aurantoside D, G und K MIC-Werte zwischen 2 und $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ erforderten. Die Aurantoside F, H und J waren praktisch unwirksam, und Aurantosid C wurde noch nicht getestet. Der Mechanismus der fungiziden Wirkung könnte dem der Polyenmakrolide vom Nystatin-Typ ähnlich sein. Die wenigen bisherigen Tests auf antimikrobielle Aktivität waren eher enttäuschend.



[*] M. Sc. M. Petermichl, Dr. S. Loscher, Prof. Dr. R. Schobert
Lehrstuhl für Organische Chemie
Universität Bayreuth
Universitätsstraße 30, 95447 Bayreuth (Deutschland)
E-Mail: Rainer.Schobert@uni-bayreuth.de

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter:
<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201604912> zu finden.

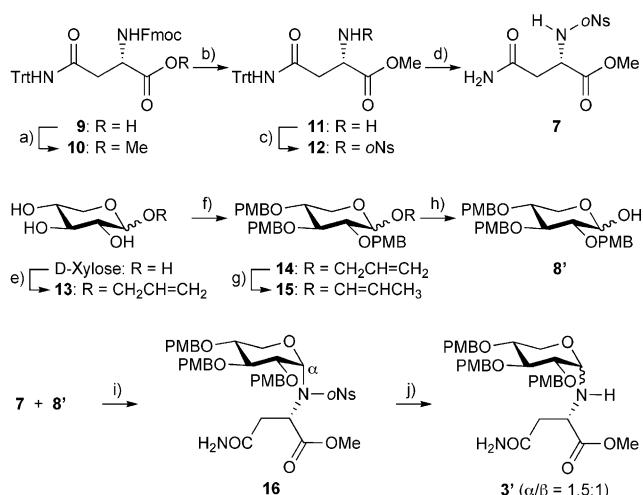
Jede Synthese der Aurantoside muss deren inhärente Instabilität^[5e] und die Notwendigkeit der β -Konfiguration der N-glycosidischen Bindung berücksichtigen. Diese Bindung scheint eine bestimmende Rolle für die fungizide Wirkung zu spielen, wie man am Aktivitätsunterschied der Epimere **1g** und **1j** sieht. Wir haben nun eine Syntheseroute für Aurantosid G (**1g**) entwickelt, deren Schlüsselschritte auch für die komplexeren Aurantoside anwendbar sein dürften. Die Retrosynthese ist in Schema 1 skizziert. Um die üblichen Probleme mit der hohen Polarität und Metallionen-Affinität von 3-Acyltetramssäuren zu vermeiden, sollte diese Funktionalität erst im letzten Schritt, einer baseninduzierten Lacey-Dieckmann-Cyclisierung^[8] eines vollständig funktionalisierten N-(D-Xylosyl)-N-(β -ketotetradecapentaenoyl)asparaginats, generiert werden. Letzteres entstünde durch Aminolyse des



Schema 1. Retrosynthese für Aurantosid G (**1g**). oNs = *o*-(O₂N)C₆H₄SO₂; P = Schutzgruppe; optimal: *p*-Methoxybenzyl.

Thioester **2**, der bereits die komplette 3-Acylseitenkette enthält, mit Methyl-*N*-D-xylosylasparaginat (**3**), wie von Ley et al.^[9] allgemein beschrieben. Thioester **2** sollte über eine Horner-Wadsworth-Emmons(HWE)-Olefinierung des bekannten β -Ketophosphonats **4** mit dem Chlortetraenal **5** aufgebaut werden, der wiederum über eine Wittig-Reaktion von Carboethoxymethyltriphenylphosphoran mit 3-Chlorbut-(2Z)-enal, am besten *in situ* durch Oxidation von Alkohol **6** generiert, zugänglich ist. Für die Synthese von *N*-Xylosylasparaginat **3** war eine Fukuyama-Mitsunobu-Reaktion einer geeigneten dreifach geschützten D-Xylose **8** mit N-nosyliertem Methylasparaginat **7** vorgesehen. Zu diesem Zeitpunkt war unklar, ob die sterisch anspruchsvolle *o*-Nosylgruppe zu einer α - oder β -Glycosylierung führen würde und ob eine solche bevorzugte Konfiguration im weiteren Verlauf der Synthese Bestand haben würde.

Zunächst wurde das unbekannte Methyl-*N*-(*o*-nosyl)asparaginat **7** ausgehend von käuflichem, geschütztem Asparagin **9** in vier Stufen und 80 % Ausbeute hergestellt.^[10] Die bekannten Intermediate, d.h. der geschützte Methylester **10** und der α -Aminoester **11**, wurden dabei zum ersten Mal in reiner, kristalliner Form und nicht als Öle^[11] erhalten (Schema 2, obere Reihe). Es bedurfte sodann etlicher Versuche, um *p*-Methoxybenzyl (PMB) als die optimale Schutzgruppe für Xylose zu identifizieren. PMB liefert einerseits genügend Elektronendichte für die Fukuyama-Mitsunobu-Reaktion mit dem elektronenarmen Amin **7** und ist ander-

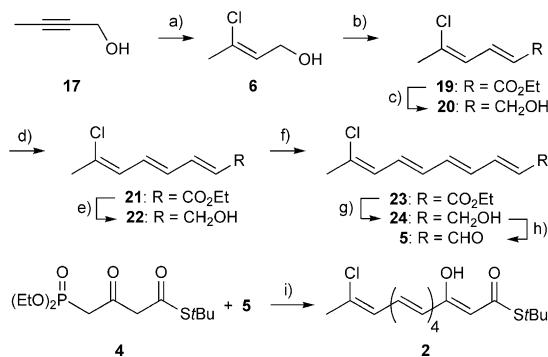


Schema 2. Synthese von **3'**. Reagenzien und Bedingungen: a) K₂CO₃, Mel, DMF, 0 °C → RT, 1 h; 99 %. b) Piperidin, DMF, RT, 1 h; 99 %. c) oNsCl, NEt₃, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h; 92 %. d) F₃CCO₂H, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 1 h; 89 %. e) Allylalkohol, BF₃·OEt₂, Rückfluss, 16 h; 77 %. f) PMBCl, NaH, DMF, 0 °C → RT, 72 h; 86 %. g) KOtBu, DMF, 70 °C, 2 h. h) 0.1 M HCl, Aceton, Rückfluss, 1 h; 87% (2 Stufen). i) DIAD, PPh₃, THF, -78 °C → RT, 16 h; 69%. j) DIPEA, PhSH, DMF, RT, 4 h; 77%. DIAD = Azodicarsäurediisopropylester, DIPEA = Diisopropyl-ethylamin, Fmoc = Fluorenylmethoxycarbonyl, Trt = Triphenylmethyl.

erseits sterisch so anspruchsvoll, dass es die spätere N-Acylierung von **3** zugunsten der β -Konfiguration lenken sollte. Die neue PMB-geschützte Xylose **8'** wurde ausgehend von D-Xylose in vier Stufen und 58 % Ausbeute als 1.7:1.0 Mischung von α - und β -Anomeren erhalten. Die selektive 1-O-Allylierung^[12] von D-Xylose und anschließende Benzylierung des gebildeten Glycosids **13** mit PMBCl lieferte die geschützte Xylose **14**. Ihr Allylether wurde gespalten,^[13] indem er zuerst mit Base zum entsprechenden Enolether **15** isomerisiert wurde, der anschließend sofort mit Salzsäure unter Bildung von Baustein **8'** hydrolysiert wurde (Schema 2, mittlere Reihe).

Die Fukuyama-Mitsunobu-Reaktion^[14] von **8'** mit Sulfonamid **7** verlief schnell und vollständig. Das N-nosylierte Amin **16** wurde in 69 % Ausbeute als reines α -Anomer isoliert, wie das NMR-Spektrum zeigte. Die chemischen Verschiebungen von C-1 der Xylose differieren um ca. $\Delta\delta$ = 20 ppm für die α - und β -Anomere, und die Kopplungskonstanten ³J_{HH} für 1-H betragen 3–4 Hz für das α -Anomer und 7–8 Hz für das β -Anomer. Die Entnosylierung von **16** mit Thiophenol und Hünig-Base ergab das Schlüsselamin **3'** (**P** = PMB) in 77 % Ausbeute, allerdings als 1.5:1.0-Mischung von α - und β -Anomeren (Schema 2, untere Reihe).

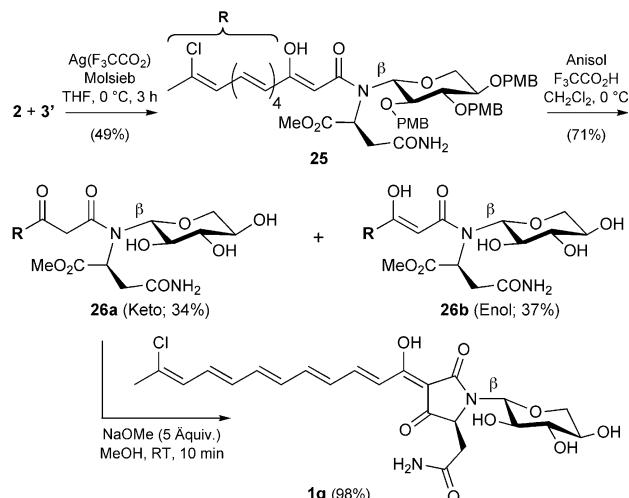
Die Herstellung des benötigten Thioesters **2** erfolgte nach einem verbesserten Verfahren nach Poulter und Heaps^[15] ausgehend von 3-Chlorbut-(2Z)-en-1-ol (**6**), das selbst durch Umsetzung von But-2-in-1-ol (**17**) mit Red-Al und *N*-Chlorsuccinimid (NCS) erhalten wurde (Schema 3). Die schrittweise Kettenverlängerung von **6** erfolgte durch eine Domino-Oxidation-Wittig-Olefinierung, wie von Taylor und Wei^[16] beschrieben, unter Verwendung von MnO₂ und Carboethoxymethyltriphenylphosphoran (**18**), da der zu **6** gehörige Aldehyd sehr empfindlich ist. Das gebildete



Schema 3. Synthese von **2**. Reagentien und Bedingungen: a) 1. Red-Al, THF, 0°C → RT, 16 h; 2. NCS, THF, -78°C → 0°C, 3 h; 82 %. b) MnO₂, Ph₃P=CHCO₂Et (**18**), CH₂Cl₂, Rückfluss, 16 h; 63 %. c) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78°C, 1 h; 75 %. d) MnO₂, **18**, CH₂Cl₂, Rückfluss, 16 h; 77 %. e) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78°C, 1 h; 94 %. f) MnO₂, **18**, CH₂Cl₂, Rückfluss, 16 h; 60 %. g) DIBAL-H, CH₂Cl₂, -78°C, 1 h; 77 %. h) MnO₂, CH₂Cl₂, RT, 3 h. i) NaH, THF, 0°C, 3 h; 84 % (2 Stufen). DIBAL-H = Diisobutyl-aluminiumhydrid, Red-Al = Natriumbis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydrid.

Ethyldienoat **19** wurde zum Alkohol **20** reduziert, der in gleicher Weise durch Domino-Oxidation-Wittig-Olefinierung mit MnO₂ und Ylid **18** zum Ethyltrienoat **21** verlängert wurde. Eine dritte Sequenz von Reduktion und Domino-Oxidation-Wittig-Reaktion lieferte Ethyltetraenoat **23**, das zum entsprechenden Alkohol **24** reduziert wurde. Dieser wurde schließlich mit MnO₂ zum gewünschten Aldehyd **5** oxidiert. Dieser wurde wegen seiner Instabilität, selbst in Inertgasatmosphäre, im Dunklen bei -20°C sofort in einer HWE-Reaktion mit Leys *S-tert*-Butyl-4-(diethylphosphono)-3-oxobutanthioat (**4**)^[17] unter Bildung von Thioester **2** in 84 % Ausbeute umgesetzt (11 % über neun Stufen).

Die Aminolyse des Thioesters **2** mit der 1.5:1.0-Anomerenmischung von Methyl-N-D-xylosylasparaginat **3'** in Gegenwart von überschüssigem Silbertrifluoracetat nach Leys allgemeiner Vorschrift^[7a,9] erbrachte das β-Ketoamid **25** als reines β-Isomer in 49 % Ausbeute relativ zu nicht umgesetztem, rückisolierten **3'** (Schema 4). Wir nehmen an, dass wegen der sterischen Abschirmung durch die PMB-Gruppen an der Xylose nur das β-Anomer von **3'** schnell mit **2** reagiert und die Epimerisierung des restlichen α-Anomers unter den Reaktionsbedingungen zu langsam ist. Sie erfolgt definitiv unter den Bedingungen der Rückisolierung (Extraktion, Aufkonzentration), die wieder eine Mischung beider Anomere lieferte, die erneut eingesetzt werden kann. Mehrere Reaktionszyklen sind nötig, um alles **3'** zu β-Ketoamid **25** umzusetzen. Da alle anderen Aurantoside, außer **1j**, β-Xylosen mit großen Arabinoseresten an C-2 tragen, sollte unsere Route zu Aurantosid G (**1g**) auch für diese Aurantoside mit hoher β-Selektivität anwendbar sein. Die Abspaltung der PMB-Gruppen von **25** mit Trifluoressigsäure und Anisol lieferte das ungeschützte N-glycosyierte β-Ketoamid **26** als trennbare 1:1-Mischung von Keto- und Enolautomeren. Nur das Ketotautomer **26a** reagierte in der abschließenden Lacey-Dieckmann-Cyclisierung und lieferte, bei Abstoppen der Reaktion nach 10 min, chemisch und optisch reines Aurantosid G (**1g**) in quantitativer Ausbeute. Das Enolautomer **26b** kann mit Säure zur



Schema 4. Letzte Stufen der Synthese von Aurantosid G (**1g**): β-selektive Ley-N-(β-Keto)acylierung zu **25**, Entschützung und Lacey-Dieckmann-Cyclisierung.

1:1-Ausgangsmischung äquilibriert und so weiterverwendet werden. Ähnlich wie andere Polyenoyltetramäuren, z.B. β-Lipomycin,^[5c,7f] erwies sich reines, synthetisches Aurantosid G als instabil und zu rascher Zersetzung neigend, was weitere biologische Tests verhinderte.

Somit konnte der Schwammmetabolit Aurantosid G (**1g**) als erstes Beispiel einer N-glycosyierten 3-Acyltetramäure in 3.7 % Gesamtausbeute synthetisiert werden. Die β-Konfiguration des D-Xyloserestes, die essenziell für die biologische Aktivität zu sein scheint, wurde erst im Laufe des vorletzten Schritts, einer N-Acylierung mit einem Thioester nach Ley, festgelegt. Seine β-Selektivität beruht auf den sterisch anspruchsvollen PMB-Substituenten an der Xylose. Der ebenfalls wichtige elektronenschiebende Effekt dieser PMB-Gruppen wird bereits im vorgelagerten Schritt der Fukuyama-Mitsunobu-Glycosylierung des Asparaginbausteins genutzt. Wir erwarten, dass diese Synthesestrategie auch für die anderen Aurantoside mit sterisch anspruchsvollen Mono- oder Oligosacchariden an der C-2-Position der β-D-Xylose anwendbar sein wird. Wir konnten auch zeigen, dass sich die Lacey-Dieckmann-Cyclisierung als finaler Schritt in der Synthese auch empfindlicher Tetramäuren eignet, da sie nicht zu Racemisierung führt und auch mit ausgedehnt konjugierten Polyenfragmenten und ungeschützten Zuckern kompatibel ist.

Stichwörter: Aurantoside · Glykokonjugate · Naturstoffe · Tetramäuren · Totalsynthesen

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10122–10125
Angew. Chem. **2016**, *128*, 10276–10279

[1] Übersichtsartikel zu Tetramäuren: a) H.-G. Henning, A. Gelbin, *Adv. Heterocycl. Chem.* **1993**, *57*, 139–185; b) B. J. L. Royles, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1981–2001; c) E. L. Ghisalberti in *Studies in Natural Products Chemistry*, Bd. 28/1 (Hrsg.: Atta-ur-Rahman), Elsevier, Dordrecht, **2003**, S. 109–163; d) „Monopyrrolic natural compounds including tetrameric acid derivatives“: A. Gossauer in *Progress in the Chemistry of Organic Natural*

- Products, Bd. 86 (Hrsg.: W. Herz, H. Falk, G. W. Kirby), Springer, Wien, **2003**, S. 1–188; e) R. Schobert, *Naturwissenschaften* **2007**, *94*, 1–11; f) R. Schobert, A. Schlenk, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4203–4221.
- [2] a) A. D. Wright, C. Osterhage, G. M. König, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 507–510; b) H. V. K. Wangun, H.-M. Dahse, C. Hertweck, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1800–1803.
- [3] a) S. Ohta, E. Ohta, S. Ikegami, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6452–6453; b) M. Fujita, Y. Nakao, S. Matsunaga, M. Seiki, Y. Itoh, R. W. M. van Soest, N. Fusetani, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1229–1234; c) E. Ohta, S. Ohta, S. Ikegami, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4699–4703.
- [4] a) M. Ono, S. Sakuda, A. Suzuki, A. Isogai, *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 111–118; b) M. Ono, S. Sakuda, H. Ikeda, K. Furihata, J. Nakayama, A. Suzuki, A. Isogai, *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 1019–1028.
- [5] a) S. Matsunaga, N. Fusetani, Y. Kato, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9690–9692; b) E. W. Schmidt, M. K. Harper, D. J. Faulkner, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 779–782; c) D. Wolf, F. J. Schmitz, F. Qiu, M. Kelly-Borges, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 170–172; d) A. S. Ratnayake, R. A. Davis, M. K. Harper, C. A. Veltri, C. D. Andjelic, L. R. Barrows, C. M. Ireland, *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 104–107; e) R. F. Angawi, G. Bavestrello, B. Calcinai, H. A. Dien, G. Donnarumma, M. A. Tufano, I. Paoletti, E. Grimaldi, G. Chianese, E. Fattorusso, O. Taglialatela-Scafati, *Mar. Drugs* **2011**, *9*, 2809–2817; f) N. U. Sata, S. Matsunaga, N. Fusetani, R. W. M. van Soest, *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 969–971; g) R. Kumar, R. Subramani, K.-D. Feussner, W. Aalbersberg, *Mar. Drugs* **2012**, *10*, 200–208.
- [6] N. U. Sata, S. Wada, S. Matsunaga, S. Watabe, R. W. M. van Soest, N. Fusetani, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2331–2339.
- [7] a) S. V. Pronin, S. A. Kozmin, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14394–14396; b) J. J. Beiger, *Total Synthesis of Aflastatin A*. Dissertation, Harvard University, <http://nrs.harvard.edu/urn-3:HUL.InstRepos:10974701>; c) S. Loscher, R. Schobert, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 10619–10624; d) A. Yajima, A. Kawajiri, A. Mori, R. Katsuta, T. Nukada, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 4350–4354; e) M. L. Hofferberth, R. Brückner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7328–7334; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7456–7462; f) O. Hartmann, M. Kalesse, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7335–7338; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7463–7466.
- [8] a) R. N. Lacey, *J. Chem. Soc.* **1954**, 832–839; b) R. N. Lacey, *J. Chem. Soc.* **1954**, 850–854.
- [9] L. T. Burke, D. J. Dixon, S. V. Ley, F. Rodríguez, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 274–280.
- [10] E. Biron, H. Kessler, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5183–5189.
- [11] Z. Huang, M. Zhang, S. D. Burton, L. N. Katsakhyan, H. Ji, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 193–201.
- [12] a) B. K. Gorityala, J. Ma, K. K. Pasunooti, S. Cai, X.-W. Liu, *Green Chem.* **2011**, *13*, 573–577; b) T. K. M. Shing, H. M. Cheng, W. F. Wong, C. S. K. Kwong, J. Li, C. B. S. Lau, P. S. Leung, C. H. K. Cheng, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3145–3148.
- [13] F. Zhang, A. Vasella, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 2546–2556.
- [14] a) T. Fukuyama, C.-K. Jow, M. Cheung, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6373–6374; b) C. Huo, C. Wang, M. Zhao, S. Peng, *Chem. Res. Toxicol.* **2004**, *17*, 1112–1120.
- [15] N. A. Heaps, C. D. Poulter, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1838–1843.
- [16] X. Wei, R. J. K. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3815–3818.
- [17] S. V. Ley, P. R. Woodward, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 345–346.

Eingegangen am 19. Mai 2016

Online veröffentlicht am 15. Juni 2016