

- [4] a) S. C. O'Neal, J. W. Kolis, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1971; b) S. C. O'Neal, W. T. Pennington, J. W. Kolis, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 2780.

[5] L. C. Roof, W. T. Pennington, J. W. Kolis, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8172.

[6] a) D. A. Lesch, T. B. Rauchfuss, *Inorg. Chem.* **1981**, *20*, 3583; b) L. E. Bogan, Jr., D. A. Lesch, T. B. Rauchfuss, *J. Organomet. Chem.* **1983**, *250*, 429; c) P. Mathur, B. H. S. Thimmappa, A. L. Rheingold, *Inorg. Chem.* **1990**, *29*, 4658; d) B. W. Eichhorn, R. C. Haushalter, *ibid.* **1990**, *29*, 728.

[7] Die Messungen wurden bei Raumtemperatur ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) auf einem Nicolet-R3mV-Diffraktometer durchgeführt, Mo_{Ka} -Strahlung ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$), Graphitmonochromator, ω -Scans, $2\theta \leq 45.0^\circ$, Lorentz- und Polarisationskorrektur, empirische Absorptionskorrektur. Kristalldaten: $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{-1}$: monoklin, $C2/c$, $a = 14.968(3)$, $b = 20.232(4)$, $c = 22.336(5) \text{ \AA}$, $\beta = 106.41(2)^\circ$, $V = 6488(2) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.90 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu(\text{Mo}_{\text{Ka}}) = 2.97 \text{ mm}^{-1}$ (Transmission 0.84–1.00). Verfeinerung mit 2792 beobachteten Reflexen [$I > 3\sigma(I)$], $R(F_0) = 0.0734$, $R_w(F_0) = 0.0851$. Alle Nichtwasserstoffatome wurden anisotrop verfeinert, 7.086 beobachtete Reflexe pro Parameter. $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{-2}$: triklin, $P\bar{1}$, $a = 13.037(3)$, $b = 14.913(3)$, $c = 24.041(4) \text{ \AA}$, $\alpha = 76.70(2)$, $\beta = 86.90(2)$, $\gamma = 66.75(2)^\circ$, $V = 4176(2) \text{ \AA}^3$, $Z = 2$, $\rho_{\text{ber.}} = 2.36 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu(\text{Mo}_{\text{Ka}}) = 4.89 \text{ mm}^{-1}$ (Transmission 0.58–1.00). Verfeinerung mit 8609 beobachteten Reflexen [$I > 3\sigma(I)$], $R(F_0) = 0.0423$, $R_w(F_0) = 0.0539$. Die Kohlenstoffatome des Kations wurden isotrop, alle anderen Schweratome anisotrop verfeinert, Wasserstoffatome wurden nicht lokalisiert, 11.74 beobachtete Reflexe pro Parameter. Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, W-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-56092, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

[8] a) D. A. Lesch, T. B. Rauchfuss, *Organometallics* **1982**, *1*, 499; b) P. Mathur, D. Chakrabarty, Md. M. Hossain, *J. Organomet. Chem.* **1991**, *401*, 167; c) P. Mathur, I. J. Mavunkel, A. L. Rheingold, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 382.

[9] L. E. Bogan, T. B. Rauchfuss, A. L. Rheingold, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3843.

[10] a) W. Hieber, J. Gruber, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1958**, *296*, 91; b) C. F. Campana, F. Y.-K. Lo, L. F. Dahl, *Inorg. Chem.* **1979**, *18*, 3060.

[11] a) V. W. Day, D. A. Lesch, T. B. Rauchfuss, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1290; b) P. Mathur, V. D. Reddy, *J. Organomet. Chem.* **1990**, *385*, 363; c) D. Seydel, R. S. Henderson, L.-C. Song, *Organometallics* **1982**, *1*, 125; d) K. S. Bose, E. Sinn, B. A. Averill, *ibid.* **1984**, *3*, 1126.

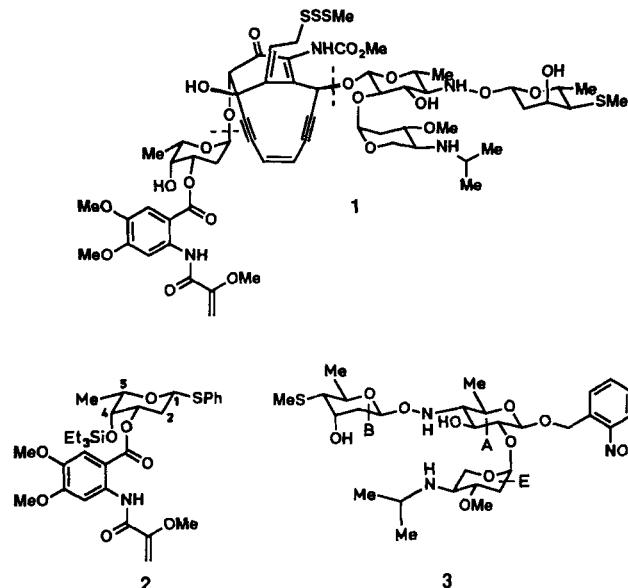
[12] W. Simon, A. Wilk, B. Krebs, G. Henkel, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 1039; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 1009.

[13] Neuere Übersichten: a) R. H. Holm, S. Ciurli, J. A. Weigel, *Prog. Inorg. Chem.* **1990**, *38*, 1; b) D. Coucounavis, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 1.

[14] L. L. Nelson, F. Y.-K. Lo, A. D. Rae, L. F. Dahl, *J. Organomet. Chem.* **1982**, *225*, 309.

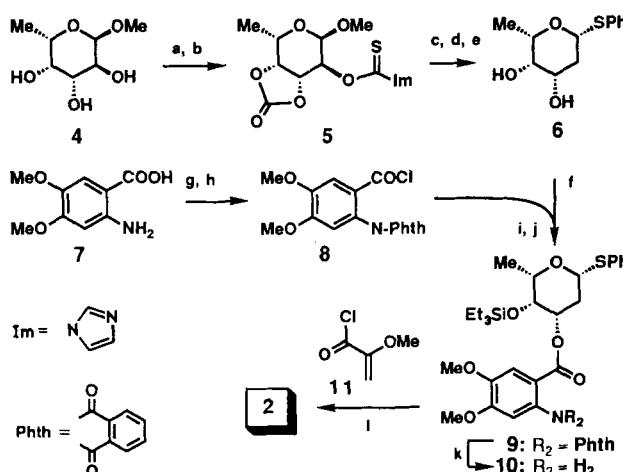
[15] a) W. Bronger, M. Kimpel, D. Schmitz, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 562; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 544; b) P. Barbaro, A. Bencini, I. Bertini, F. Briganti, S. Midollini, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7238.

[16] a) J. C. Huffman, R. C. Haushalter, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1984**, *518*, 203; b) R. G. Teller, R. C. Krause, R. C. Haushalter, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 1809.



Schema 1. Die Strukturen von Esperamicin A₁ **1** und den Kohlenhydratbausteinen **2** und **3**.

Schema 2 stellt die Synthese von **2** aus den leicht zugänglichen Verbindungen **4** und **7** dar. Methyl- α -L-fucopyranosid **4**^[4] wurde regioselektiv durch Reaktion mit Carbonyldiimidazol und mit Thiocarbonyldiimidazol zu **5**^[5] umgesetzt. Diese geschützte Verbindung wurde in 2-Stellung desoxygiert und anschließend durch Phenylthioglycosidierung (nach Hanessian et al.^[6]) und baseninduzierte Carbonatabspaltung in **6** übergeführt. Der zur Kupplung erforderliche zweite Baustein, **8**, wurde aus 4,5-Dimethoxyanthranilsäure **7**, Phthaloylchlorid und Oxalylchlorid erhalten. Zur Kupplung der Komponenten **6** und **8** wurde zunächst ein cyclisches Dialkoxyzinnderivat von **6** hergestellt und dann **8** in Gegenwart von Et₃N zugegeben. Nach Silylierung der ver-



Schem 2. Synthese der Esperamicin-A₁-Kohlenhydratkette **2**. Reagentien und Reaktionsbedingungen: a) 2.5 Äquiv. 1,1'-Carbonyldiimidazol, CH₃CN, Rückfluß, 2 h, 76%; b) 1.3 Äquiv. 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol, CH₃CN, 25 °C, 2 h, 80%; c) 2.0 Äquiv. *n*Bu₄SnH, Azobisisobutyronitril (AIBN, Kat.), Toluol/Dimethoxyethan(DME) 1/1, 110 °C, 1 h, 84%; d) 5.0 Äquiv. PhSSiMe₃, 3.0 Äquiv. ZnI₂, 1.2 Äquiv. *n*Bu₄NI, 1,2-Dichlorethan, 2.5 h, 70 °C; e) 0.05 Äquiv. NaH, THF/Ethylenglycol 20/1, 25 °C, 2 h, 63% für d + e; f) 1.2 Äquiv. *n*Bu₄SnO, MeOH, 65 °C, 1.5 h, danach Austausch des Lösungsmittels gegen wasserfreies THF; g) 1.1 Äquiv. Phthaloylchlorid, 2 Äquiv. Et₃N, THF, 25 °C, 2 h, 50%; h) 1.2 Äquiv. Oxalylychlorid, CH₂Cl₂/Dimethylformamid(DMF) 100/1, 25 °C, 0.5 h; i) 1.5 Äquiv. 8, 2.0 Äquiv. Et₃N, THF, 25 °C, 0.75 h, 65% für h + i; j) 1.2 Äquiv. Et₃SiOTf, 1.5 Äquiv. 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 0 °C, 0.2 h, 100%; k) 2.0 Äquiv. Hydrazin, 1.0 Äquiv. AcOH, MeOH/CH₂Cl₂, 5/1, 25 °C, 5 h, 83%; l) 3.0 Äquiv. **11** [7], 5.0 Äquiv. Et₃N, THF, 25 °C, 85%.

Die Totalsynthese der Kohlenhydratbausteine von Esperamicin A₁**

Von *K. C. Nicolaou** und *David Clark*

Esperamicin A₁ ^[1] ist eines der bekanntesten in der Natur vorkommenden Endin-Cytostatica/Antibiotica ^[2]. Wir berichten hier über die Totalsynthese der Kohlenhydratketten **2** und **3** (Schema 1) ^[3] in optisch aktiver Form und mit Schutzgruppen, die sie für eine Totalsynthese des Naturstoffs geeignet machen sollten.

[*] Prof. Dr. K. C. Nicolaou, D. Clark

1161; Dr. R. C. Nicolau, D. Clark
Department of Chemistry, The Scripps Research Institute
10666 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
und

Department of Chemistry, University of California
San Diego, La Jolla, CA 92093 (USA)

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health und dem Scripps Research Institute gefördert. Unser besonderer Dank gilt Dr. Dee Huang und Dr. Gary Siuzdak vom Scripps Research Institute für ihre hervorragende Hilfe bei der Aufnahme und Auswertung der NMR- und Massenspektren.

bliebenen 4-Hydroxygruppe wurde regioselektiv gebildetes **9** erhalten. Die schonende Entfernung der Phthalsäuregruppe mit Hydrazin lieferte das freie Amin **10**. Dieses wurde mit dem Säurechlorid **11**^[7] in Gegenwart von Et₃N zum gewünschten Zielmolekül **2** (Tabelle 1) umgesetzt.

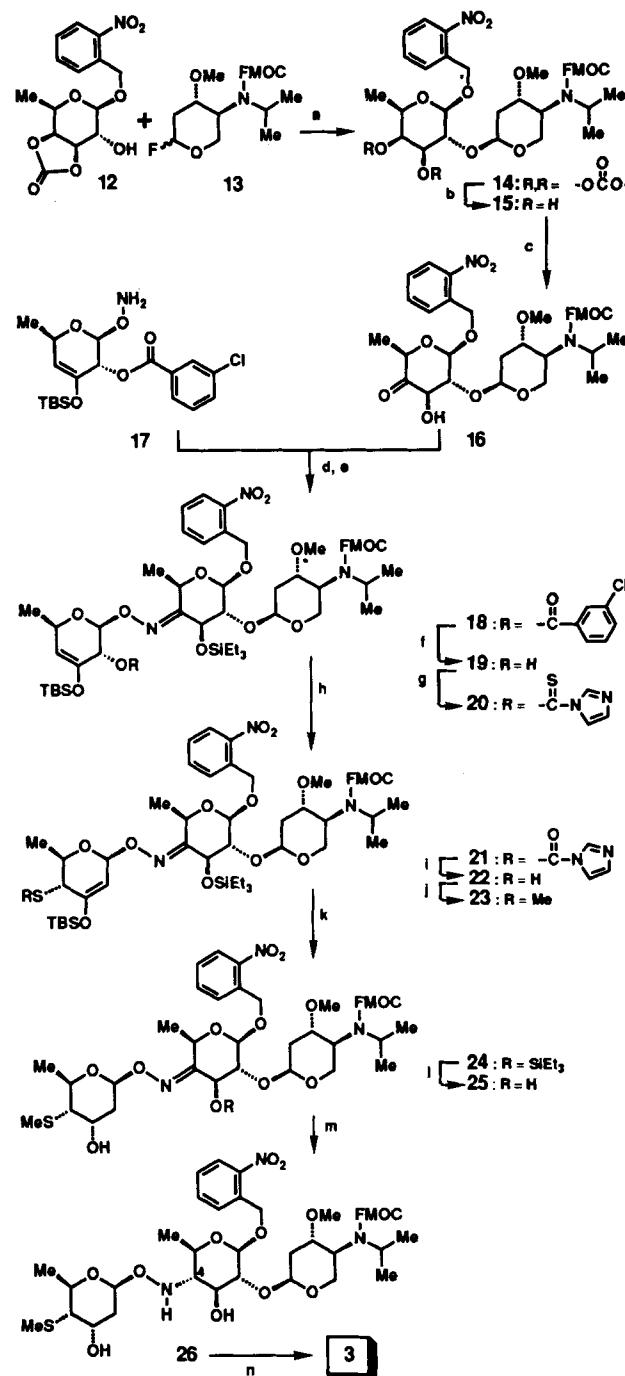
Tabelle 1. Ausgewählte physikalische Eigenschaften und spektroskopische Daten von **2** und **3**.

2: $R_f = 0.35$ (Kieselgel, 5% Ethylacetat in Benzol); $[\alpha]_D^{26} = -166$ ($c = 0.42$, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): $\delta = 11.96$ (s, 1 H, NH), 8.63 (s, 1 H, aromatisches H), 7.50–7.48 (m, 2 H, SpH), 7.47 (s, 1 H, aromatisches H), 7.32–7.28 (m, 2 H, SpH), 7.26–7.22 (m, 1 H, SpH), 5.77 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, an C-1), 5.49 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H, Vinyl-H), 5.40 (ddd, $J = 12.6, 4.5, 2.5$ Hz, 1 H, an C-3), 4.58 (d, $J = 2.5$ Hz, 1 H, Vinyl-H), 4.45 (q, $J = 6.5$ Hz, 1 H, an C-5) 4.11 (br.m, 1 H, an C-4), 3.99 (s, 3 H, OCH₃), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 3.83 (s, 3 H, OCH₃), 2.81 (pst, d, $J = 12.6, 12.6, 5.4$ Hz, 1 H, H_{an} an C-2), 2.03 (dd, $J = 12.6, 4.5$ Hz, 1 H, H_{an} an C-2), 1.24 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H, an C-6), 0.90 (t, $J = 7.9$ Hz, 9 H, SiCH₂CH₃), 0.58–0.52 (m, 6 H, SiCH₂CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, C₆D₆): $\delta = 167.0, 161.0, 154.5, 154.0, 144.0, 137.2, 135.1, 128.9, 126.9, 112.3, 107.4, 103.8, 90.6, 83.9, 71.5, 70.5, 67.9, 56.1, 56.0, 30.2, 17.1, 6.9, 5.2$; IR (CDCl₃): $\tilde{\nu}_{max} = 3262, 2955, 2875, 1682, 1594, 1518, 1464, 1308, 1252, 1212, 1155, 1088, 1057, 1037, 1006, 734$ cm⁻¹; hochauflötes MS: m/z ber. für C₃₁H₄₃O₈NSSi (M⁺Cs⁺) 750.1533; gef. 750.1536; passende C, H, N, S, Si-Analyse

3: $R_f = 0.20$ (Kieselgel, 50% Aceton in Dichlormethan); $[\alpha]_D^{26} = -42.3$ ($c = 0.104$, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): δ [a]: 8.12 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, aromatisches H), 7.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, aromatisches H), 7.20 (dd, $J = 7.8, 7.5$ Hz, 1 H, aromatisches H), 6.70 (dd, $J = 8.1, 7.5$ Hz, 1 H, aromatisches H), 6.01 (br.m, 1 H, E-1), 5.78 (br.m, 1 H, ONH) (des Signal der zweiten NH-Gruppe wurde nicht beobachtet), 5.36 (d, $J = 15.5$ Hz, 1 H, Nitrobenzyl-CH₂), 5.08 (d, $J = 15.5$ Hz, 1 H, Nitrobenzyl-CH₂), 5.03 (dd, $J = 10.1, 1.8$ Hz, 1 H, B-1), 4.49 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, A-1), 4.26 (dd, $J = 9.7, 9.3$ Hz, 1 H, A-3), 4.08 (dd, $J = 9.3, 7.8$ Hz, 1 H, A-2), 4.04 (dd, $J = 11.2, 9.4$ Hz, 1 H, E-5), 3.83 (dd, $J = 11.2, 4.7$ Hz, 1 H, E-5), 3.70 (ddd, $J = 9.5, 9.3, 4.2$ Hz, 1 H, E-3), 3.63 (q, $J = 6.3$ Hz, 1 H, B-5), 3.61 (m, 1 H, B-3), 3.56 (dq, $J = 9.5, 6.2$ Hz, 1 H, A-5), 3.14 (s, 3 H, OCH₃), 2.89 (ddd, $J = 9.4, 9.3, 4.7$ Hz, 1 H, E-4), 2.65 (Septett, $J = 6.3$ Hz, 1 H, NCHMe₂), 2.49 (ddd, $J = 12.5, 4.2, 2.2$ Hz, 1 H, E-2eq), 2.20 (dd, $J = 9.7, 9.5$ Hz, 1 H, A-4), 2.10 (ddd, $J = 13.1, 3.2, 1.8$ Hz, 1 H, B-2eq), 2.00 (dd, $J = 10.5, 2.4$ Hz, 1 H, B-4), 1.70 (ddd, $J = 12.5, 9.5, 3.5$ Hz, 1 H, E-2ax), 1.44 (s, 3 H, SCH₃), 1.39 (ddd, $J = 13.1, 10.1, 3.2$ Hz, 1 H, B-2ax), 1.36 (d, $J = 6.2$ Hz, 1 H, B-3-OH), 1.10 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, B-6), 1.07 (d, $J = 6.2$ Hz, 3 H, A-6), 0.91 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, CHMe₂), 0.85 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, CHMe₂); ¹³C-NMR (125 MHz, C₆D₆): $\delta = 147.3, 135.5, 133.4, 129.4, 127.5, 124.6, 101.9, 100.0, 98.9, 78.1, 77.8, 72.1, 69.5, 68.9, 68.8, 67.5, 64.9, 63.8, 57.0, 55.9, 55.7, 46.8, 35.8, 34.5, 24.7, 23.0, 20.0, 17.6, 13.3$; IR (CHCl₃): $\tilde{\nu}_{max} = 3444, 2966, 2925, 1526, 1446, 1341, 1305, 1154, 1064, 1015, 990, 960$ cm⁻¹; hochauflötes MS: m/z ber. für C₂₉H₄₇O₁₁N₃S (M⁺Cs⁺) 778.1986, gef. 778.1986

[a] A, B, E bezeichnen die Ringe in **3**; E-2eq beispielsweise steht für das äquatoriale H an C-2 im Ring E.

Schema 3 faßt den Aufbau des Trisaccharids **3** zusammen. Zunächst wurde das *o*-Nitrobenzylglucosid **12**^[8] mit dem Glycosylfluorid **13**^[9] stereoselektiv zum Disaccharid **14** verknüpft, aus dem das Diol **15** durch selektive Abspaltung des Carbonatrestes unter basischen Bedingungen erhalten wurde. Dieses wurde in das Hydroxyketon **16** übergeführt^[10], das mit dem Hydroxylaminlderivat **17**^[11] unter sauren Bedingungen kondensiert wurde. Anschließende Silylierung er gab das Trisaccharid **18**^[12]. Mit Diisobutylaluminiumhydrid wurde die Arylesterbindung in **18** gespalten und **19** erhalten, das mit Thiocarbonyldiimidazol in die Thioxoverbindung **20** umgewandelt wurde. Wie vorhergesagt^[11], führte die Thermolyse von **20** über eine [3,3]-sigmatrope Umlagerung zur Thioverbindung **21**, aus der das Thiol **22** durch Behandlung mit NaSEt freigesetzt wurde. Durch anschließende Reaktion mit Methyljodid im Überschluß konnte das Methylthioderivat **23** erhalten werden. Selektive Entfernung des Silylrestes an der Enolgruppe ergab die entsprechende Carbonylverbindung, die stereoselektiv mit K-Selectride zur gewünschten Hydroxyverbindung **24** reduziert wurde. Deren Desilylierung mit HF · py führte zum Hydroxyoxim **25**, dessen C=N-Bindung mit NaBH₃CN reduziert wurde. Dabei entstand das gewünschte Produkt **26** zusammen mit seinem C4-Epimer^[13]. Abschließend wurden nach chromatographischer



Schema 3. Totalsynthese des Esperamicin-A₁-Kohlenhydratbausteins **3**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) 1.35 Äquiv. **13**, 1.0 Äquiv. **12** [8], 2.5 Äquiv. AgClO₄, 2.5 Äquiv. SnCl₂, Molekularsieb 4 Å, THF, -78 → -20 °C, 7 h, ($x:b \approx 3:1$); b) 0.04 Äquiv. NaH, THF/Ethylenglycol 20/1, 25 °C, 0.5 h, 60% für a + b; c) 1.0 Äquiv. nBu₂SnO, MeOH, Rückfluß, 1.2 h, dann 1.0 Äquiv. nBu₂SnOMe, 1.0 Äquiv. Br₂ [10], CH₂Cl₂, 25 °C, 76%; d) 0.1 Äquiv. Pyridinium-*para*-toluolsulfonat, 1.5 Äquiv. 17 [11], Benzol, 25 °C, 3 h, 70%; e) 1.2 Äquiv. Et₃SiOTf, 1.5 Äquiv. 2,6-Lutidin, CH₂Cl₂, 0 → 25 °C, 0.5 h, 100%; f) 3.0 Äquiv. iBu₂AlH, CH₂Cl₂, -78 °C, 0.5 h, 95%; g) 3.0 Äquiv. 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol, CH₃CN, 25 °C, 1.5 h, 86%; h) Toluol, 100 °C, 1 h, 100%; i) 1.0 Äquiv. NaSEt, 40 °C, EtSH, CH₂Cl₂, 25 °C, 1.5 h, 95%; j) 50 Äquiv. MeI, 2.5 Äquiv. iPr₂EtN, CH₂Cl₂, 25 °C, 1 h, 90%; k) 5.0 Äquiv. AcOH, 1.0 Äquiv. nBu₄NF, THF, -40 → 0 °C, dann 3.0 Äquiv. K-Selectride, DME/THF 7/1, -78 °C, 0.7 h, 67%; l) Überschuß an HF · py, CH₂Cl₂/THF 7/1, -20 → 0 °C, 3 h, 85%; m) 13 Äquiv. NaBH₃CN, 13 Äquiv. OEt₂ · BF₃, CH₂Cl₂/THF/Et₂O 2/1/1, -60 → -40 °C, 2 h, 90%; (26:epi-26 ca. 2:1); n) THF/Et₂NH, 1/1, 25 °C, 2 h, 81%. Fmoc = Fluorenylmethoxycarbonyl, TBS = iBuMe₂Si.

Reinigung die Schutzgruppen entfernt, wodurch die Zielverbindung **3** (Tabelle 1) erhalten werden konnte.

Eingegangen am 31. Januar 1992 [Z 5162]

1, 99674-26-7; 2, 141805-51-8; 3, 141805-52-9; 4, 14687-15-1; 5, 141805-53-0; 6, 141805-54-1; 7, 5653-40-7; 8, 141805-55-2; 9, 141805-56-3; 10, 141805-57-4; 11, 84537-07-5; 12, 132938-43-3; 13, 141805-58-5; 14, 141805-59-6; 15, 141805-60-9; 16, 141805-61-0; 17, 126900-87-6; 18, 141805-62-1; 19, 141805-63-2; 20, 141865-64-3; 21, 141805-65-4; 22, 141805-66-5; 23, 141805-67-6; 24, 141823-81-6; 25, 141823-82-7; 26, 141823-83-8; C4-Epimer von 26, 141900-21-2.

- [1] J. Golik, J. Clardy, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Konishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T. W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *109*, 3461; J. Golik, G. Dubay, G. Groenewold, H. Kawaguchi, M. Konishi, B. Krishnan, H. Ohkuma, K. Saitoh, T. W. Doyle, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3462.
- [2] Für eine Übersicht über die chemischen und biologischen Eigenschaften der Endiin-Antibiotika siehe K. C. Nicolaou, W.-M. Dai, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387.
- [3] Für frühere Synthesen von Systemen, die der Esperamicin-A₁-Trisaccharidkette 3 ähneln, siehe a) R. L. Halcomb, M. D. Wittman, S. H. Olson, S. J. Danishefsky, J. Golik, H. Wong, D. Vyas, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5080; b) D. Yang, S.-H. Kim, D. Kahne, *ibid.* **1991**, *113*, 4715.
- [4] U. Zehavi, N. Sharon, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2141.
- [5] Für alle neuen Verbindungen wurden passende spektroskopische sowie elementaranalytische und/oder massenspektrometrische Daten erhalten. Die Ausbeuteangaben beziehen sich auf spektroskopisch und chromatographisch reines Material.
- [6] S. Hanessian, Y. Guidon, *J. Carbohydr. Res.* **1980**, *86*, C3.
- [7] E. Wenkert, M. E. Alonso, B. L. Buckwalter, E. L. Sanchez, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2021.
- [8] K. C. Nicolaou, E. P. Schreiner, W. Stahl, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 566; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 585.
- [9] Hergestellt nach einer bereits beschriebenen Methode: K. C. Nicolaou, R. D. Groneberg, N. A. Stylianides, T. Miyazaki, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1275.
- [10] S. David, A. Thieffry, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, 1568.
- [11] K. Nicolaou, R. D. Groneberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4085.
- [12] Bei dieser Reaktion wurde ein einziges geometrisches Isomer bezüglich der Oxim-C=N-Bindung erhalten; seine Konfiguration ist jedoch unbekannt.
- [13] Die Konfiguration von C-4 wurde aus den Kopplungskonstanten für H-4 ($J_{3,4} = 9.5$, $J_{4,5} = 9.6$ Hz; 500 MHz, CDCl₃, $\delta = 2.21$) abgeleitet, die axialen Beziehungen dieses Protons zu seinen beiden benachbarten Protonen anzeigen. Das Epimer von 26 zeigt ein Dublett bei $\delta = 2.99$ für H-4 ($J_{4,5} = 4.7$ Hz).

werden ausschließlich Fragmente körpereigener Proteine, sogenannte Selbstpeptide, prozessiert und präsentiert. Wird die Zelle von Viren befallen, so erkennen die cytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) die Bruchstücke viraler Fremdproteine (CTL-Epitope) in der MHC-Antigenbindungsstasche und lysieren die erkrankte Zelle durch Ausschüttung von Perforinen.

Die hochauflösende Röntgenstrukturanalyse des menschlichen HLA-A2.1-Proteins^[1] ergab für die Antigenbindungsstasche zwei parallele α -helicale Domänen, die durch ein zentrales antiparalleles β -Faltblatt verbunden sind. In der Bindungsregion befinden sich sechs ausgeprägte Taschen, von denen angenommen wird, daß sie Aminosäureseitenketten der präsentierten antigenen Peptide aufnehmen können. Die nicht zu Bindungen zwischen HLA-A2-Atomen gehörende Restelektronendichte wurde einem Peptidgemisch zugeordnet, das mit den MHC-Molekülen cokristallisiert ist.

Durch Poolsequenzierung von Selbstpeptiden, die in unseren Laboratorien durch eine spezielle Säureelutionstechnik aus MHC-Proteinen isoliert wurden^[2], konnten allelenspezifische Oligopeptidmotive ermittelt werden (Tabelle 1), die im Falle des HLA-A2-Proteins hauptsächlich aus Nonapeptiden mit konservierten hydrophoben Seitenketten an den Positionen zwei und neun (Ankerpositionen^[2]) bestehen. Ein Alignment mit der Sequenz des Influenza-Matrixproteins ergab das Nonapeptid GILGFVFTL als potentiellen Kandidaten für ein natürlich prozessiertes antigenes Peptid, was zusammen mit den Ergebnissen der Röntgenstrukturanalyse dazu diente, ein Modell für die Bindung zwischen HLA-A2 und Antigen aufzustellen.

Tabelle 1. Peptidbindungsmotiv von HLA-A2, ermittelt durch Sequenzierung von Selbstpeptiden [2]. Nonapeptide aus viralen Proteinsequenzen sind zum Vergleich aufgelistet. Das Influenza-Matrixproteinmotiv stellt höchstwahrscheinlich das natürliche Epitop dar und wurde deshalb für die Modeling-Studien ausgewählt.

Aminosäureposition	1	2	3	4	5	6	7	8	9
entsprechende HLA-A2-Taschen[a]		„B“		„D“		„F“			
dominante Ankerposition	L				V				
stark	M	E	V	K	L				
schwach	I	A	G	I	I	A	E		
	L	Y	P	K	L	Y	S		
	F	F	D	Y	T	H			
	K	P	T	N					
	M	M	G						
	Y	S	F						
	V	R	V						
									H
Sequenzvergleich mit bekannten CTL-Epitopen[b]	I	L	K	E	P	V	H	G	V
									HIV-Reverse-Transkriptase 476-484
	G	I	L	G	F	V	F	T	L
									Influenza-Matrixprotein 58-66

[a] Taschen „A“-„F“ siehe Abbildung 1. [b] Sequenzvergleich an Ankerposition 2 (Ile, Leu, Met).

Wir führten dann eine Moleküldynamiksimulation über 28 ps in wässriger Umgebung durch, um die Stabilität und Mobilität des konstruierten Modells zu überprüfen und um potentielle T-Zell-Erkennungsregionen zu ermitteln^[3-5].

Ausgehend von einer minimierten β -Faltblattkonformation des Antigens wurden zunächst die hydrophoben Wechselwirkungen der dominanten Ankerpositionen an die ent-

Moleküldynamiksimulation für ein allelenspezifisches virales Nonapeptid aus dem Influenza-Matrixprotein in der Bindungsstasche eines menschlichen MHC-Klasse-I-Proteins**

Von Norbert Zimmermann, Olaf Rötzschke, Kirsten Falk, Didier Rognan, Gerd Folkers, Hans-Georg Rammensee und Günther Jung*

Professor Dietrich Brandenburg zum 60. Geburtstag gewidmet

MHC-Klasse-I-Proteine (Major Histocompatibility Complex = Gewebeverträglichkeitskomplex) befinden sich auf den Oberflächen der meisten menschlichen Zellen. Ihre Aufgabe im Immunsystem ist es, dem Killerzellrezeptor Bruchstücke von Proteinen des Zellinneren in einer Antigenbindungsstasche zu präsentieren. Ist die Körpierzelle gesund,

[*] Prof. Dr. G. Jung, Dipl.-Chem. N. Zimmermann
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, W-7400 Tübingen

O. Rötzschke, K. Falk, Priv.-Doz. Dr. H.-G. Rammensee
Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung für Immunogenetik
Correnstraße 42, W-7400 Tübingen
Dr. D. Rognan, Prof. Dr. G. Folkers
Departement Pharmazie der Eidgenössischen Technischen Hochschule
ETH-Zentrum
Clausiusstraße 25, CH-8092 Zürich (Schweiz)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert (SFB 323 und 120).