

mit Polyalanin beschichtete Träger wurde dann in diese Lösung eingetaucht und periodisch herausgenommen; er wurde mit Wasser und Ethanol gespült und IR-spektroskopisch (mit polarisiertem Licht unter streifendem Einfall) analysiert. Zuzätzliches Enzym wurde in Intervallen von 10 h zugegeben. Die kommerzielle Lösung von Leucin-Aminopeptidase wurde bei 37 °C in der von der Firma Sigma erhaltenen Form eingesetzt. Nach jeder Messung wurde eine frisch angesetzte Lösung verwendet.

Eingegangen am 13. Oktober 1993 [Z 6416]

- [1] J. K. Whitesell, H. K. Chang, *Science* **1993**, *261*, 73.
- [2] Der mittlere Abstand zwischen Si-OH-Gruppen auf einer Glasoberfläche beträgt ungefähr 10 Å, und dieser Abstand wird auch von helicalem Polyalanin benötigt. Da jedoch diese Gruppen nicht gleichförmig verteilt sind, sind die Schichten auf Indium-zinn-oxid-Glas nicht so gut geordnet wie die auf Gold.
- [3] D. F. Eaton, *Science* **1991**, *253*, 281.
- [4] *Non-Linear Optical Properties of Organic Molecules and Crystals*, Vol. 1, 2 (Hrsg.: D. S. Chemla, J. Zyss), Academic Press, New York, **1987**.
- [5] *Non-Linear Optical Properties of Organic and Polymeric Materials* (Hrsg.: D. J. Williams) (ACS Symp. Ser. **1983**, 233).
- [6] D. J. Williams, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 637; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 690.
- [7] K. Riedling, *Ellipsometry for Industrial Applications*, Springer, Wien, **1988**. R. Collins, Y.-T. Kim, *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 887 A.
- [8] W. L. Starnes, F. J. Behal, *Biochemistry* **1974**, *13*, 3221. Das Enzym wurde aus der Darmschleimhaut von Rindern (bovine intestinal mucosa) gewonnen (Sigma).
- [9] Die Menge an eingesetztem Enzym war viel größer als zum Entfernen der kompletten Peptidschicht notwendig gewesen wäre.
- [10] M. M. Bradford, *Anal. Biochem.* **1974**, *13*, 3221. Das Enzym wurde aus Schweineleber gewonnen (Typ III-CP, Sigma).
- [11] Dieser Vergleich ist nicht ideal, da die von uns sequentiell aufgebauten Schichten nicht denselben hohen Grad an Helizität aufweisen wie die über Polymerisation erhaltenen. Wir erklären diesen Unterschied mit einer geringen Racemisierung während der mehrstufigen Darstellung; eine einzige enantiomere Aminosäure verhindert die Bildung einer helicalen Sekundärstruktur im Bereich mehrerer Aminoäuren zu beiden Seiten des Fehlers.
- [12] A. W. Adamson, *Physical Chemistry of Surfaces*, 5. Aufl., Wiley Interscience, New York, **1990**, S. 332–368; R. H. Dettre, R. E. Johnson, Jr., *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 1507.
- [13] S. K. Burley, P. R. David, A. Taylor, W. N. Lipscomb, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 6878. Diese Kristallstrukturanalyse wurde an einer aus dem Rinderauge stammenden Peptidase durchgeführt. Die in unseren Experimenten verwendete Peptidase wurde aus Schweineleber isoliert. Die beiden Enzyme sind sehr ähnlich oder sogar gleich; siehe hierzu: F. Jurnak, A. Rich, L. van Loon-Klassen, H. Bloemendal, A. Taylor, F. H. Carpenter, *J. Mol. Biol.* **1977**, *112*, 149 sowie Lit. [14].
- [14] W. N. Lipscomb, H. Kim, *Biochemistry* **1993**, *32*, 8465; W. N. Lipscomb, persönliche Mitteilung.

Eine kurze Totalsynthese von (±)-Mamanuthachinon über eine *exo*-Diels-Alder-Reaktion**

Taeyoung Yoon, Samuel J. Danishefsky* und Susan de Gala

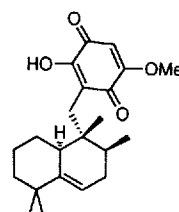
Sesquiterpenchinone und -hydrochinone aus Schwämmen marinen Ursprungs sind eine interessante Klasse von Verbindungen^[1]. Einige sind cytotoxisch^[2], zeigen ein antimikrobielles

[*] Prof. S. J. Danishefsky^[+], T. Yoon
Department of Chemistry, Yale University
New Haven, CT 06511 (USA)
S. de Gala
Yale Chemical Instrumentation Center
New Haven, CT 06511 (USA)

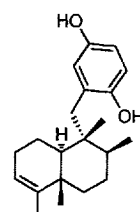
[**] Diese Arbeit wurde vom Public Health Service (Grant CA28824) gefördert. Die NMR-Spektren wurden mit Unterstützung der Northeast regional National Science Foundation (NSF)/NMR Facility an der Yale University erhalten, die von der NSF, Chemistry Division, (Grant CHE 7916210) gefördert wurde.

[+] Neue Adresse: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
1275 York Avenue, New York, NY 10021 (USA)
Telefax: Int. + 212/772-8691
und
Department of Chemistry, Havemeyer Hall
Columbia University
New York, NY 10027 (USA)

Verhalten^[2b, 3] oder inhibieren die Reverse Transkriptase^[4]. Zu dieser Klasse von Verbindungen gehört auch Mamanuthachinon **1**^[5], das aus *Fasciospongia sp.*, einem Schwamm von der Fidschiinsel Mamanutha isoliert wurde. Mamanuthachinon ist gegenüber menschlichen Dickdarm-Tumorzellen (HCT-116) mäßig cytotoxisch. Das strukturell verwandte Avarol **2** und dessen Chinonanalogon wurden als vielversprechende Anti-AIDS-Wirkstoffe diskutiert^[4a], wenngleich ihr klinischer Nutzen noch nicht erwiesen ist^[6].

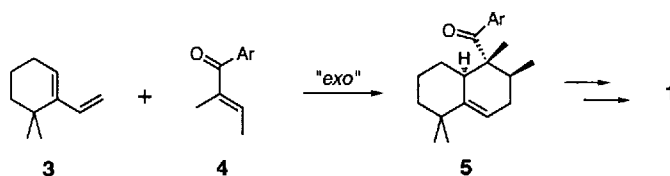


1 Mamanuthachinon



2 Avarol

Bei der Planung einer Totalsynthese von **1** drängt sich eine offensichtliche, wenn auch spekulative Möglichkeit auf (Schema 1). Prinzipiell kann das Gerüst **5** aus dem Dien **3** und dem Dienophil **4** konstruiert werden. Mit einer passend gewählten Aroylfunktion könnte **1** dann schnell aus dem Addukt **5** ableitbar sein. Für die Diels-Alder-Reaktion ist jedoch ein *exo*-Übergangszustand erforderlich, um die für **1** notwendige Konfiguration zu erreichen.



Schema 1. *exo*-Diels-Alder-Route für die Synthese von **1**.

Die bekannte Bevorzugung der *endo*-Topologie bei Diels-Alder-Reaktionen^[7] ist bei relativ ungehinderten cyclischen Dienophilen (Maleinsäureanhydrid, *p*-Benzochinon etc.) und homoannularen Dien^[8] besonders ausgeprägt. Bei den meisten anderen intermolekularen Diels-Alder-Reaktionen wird die *endo*-Orientierung bevorzugt, oder die Cycloaddition verläuft stereochemisch uneinheitlich. Die anziehenden Kräfte der sekundären Orbitalwechselwirkung, auf die die Selektivität im allgemeinen zurückgeführt wird^[9], sind jedoch sehr schwach und können leicht durch kleine Strukturänderungen überspielt werden^[10]. Tatsächlich reagiert Cyclopentadien mit acyclischen Dienophilen, die einen Alkylsubstituenten an dem Kohlenstoffatom haben, das die aktivierende Gruppe trägt (z. B. Methacrolein), fast ausschließlich in einer *exo*-Addition^[11]. Der Ursprung dieser anomalen Tendenz ist nicht klar; sie ist hauptsächlich auf Reaktionen mit Cyclopentadien als Dien-Komponente beschränkt. Es ist durchaus denkbar, daß sich die Methylengruppe des Cyclopentadiens und der α -Substituent des Dienophils im Übergangszustand, der zum *endo*-Addukt führt, abstoßen^[12]. Beispielsweise ergibt die Cycloaddition von Methacrolein mit Cyclopentadien nur das *exo*-Addukt^[13], während – bei Einsatz des gleichen Katalysatorsystems – mit acyclischen Dien^{en} wie 1-Methoxybutadien nahezu ausschließlich das *endo*-Produkt gebildet wird^[13].

Wir berücksichtigten auch, daß man mit dem unsubstituierten 1-Vinylcyclohexen in Diels-Alder-Reaktionen ausschließlich

zum *endo*-Produkt gelangt^[14]. Im vorliegenden Fall (3 + 4) hofften wir, daß der „Cyclopentadienyleffekt“ durch das quartäre Kohlenstoffatom im Dien und eine sperrige Arylgruppe im Dienophil ebenfalls zum Tragen kommt. In einer derartigen Cycloaddition wird der *endo*-Übergangszustand wegen der Abstoßung zwischen der Arylgruppe und der Dimethylcyclohexenyleinheit stark benachteiligt sein (Abb. 1). Daher erschien eine

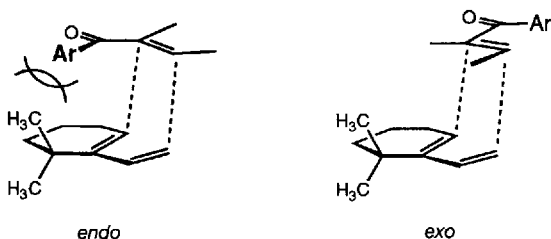


Abb. 1. Die *exo*-Addition von 3 an 4 ist gegenüber der *endo*-Addition bevorzugt.

möglichst hoch substituierte Arylfunktion günstig für die *exo*-Selektivität zu sein und versprach gleichzeitig, die letzten Schritte auf dem Weg nach 1 zu vereinfachen. In dieser Zuschrift beschreiben wir die erste, bemerkenswert kurze Totalsynthese von Mamanuthachinon 1 auf der Grundlage dieser Überlegungen (Schema 2).

Das Dienophil 7 wurde in einem Schritt (77% Ausbeute) aus dem lithiierten 1,2,4,5-Tetramethoxybenzol^[15] und 6 erhalten. 6 war durch die Umsetzung von Tigloylchlorid mit *N,O*-Dimethylhydroxylamin nach Weinreb et al.^[16] hergestellt worden. Die Cycloaddition von 7 mit 3^[17] unter Zusatz von Ethylaluminiumdichlorid/THF in Dichlormethan ergab ein einziges Cycloaddukt in 85% Ausbeute. Das THF führte zu einer Verdopplung der Ausbeute; ohne THF zersetzt sich ein großer Teil des Diens, was mit anderen Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-Ether oder Titantetrachlorid so drastisch war, daß die gewünschte Cycloaddition nicht eintrat. Die Regiochemie der Cycloaddition war in guter Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen; es wurden

keine weiteren Regio- oder Stereoisomere gefunden. 8 wurde röntgenstrukturanalytisch charakterisiert^[18].

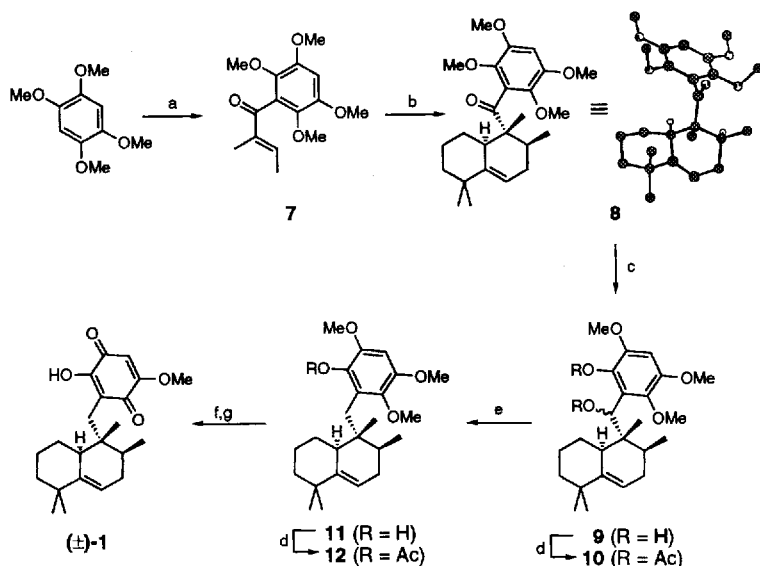
Mit drei Stereozentren in der gewünschten Konfiguration wurde eine einfache „Endspielsequenz“ vorgezeichnet. Mit Lithiumaluminiumhydrid wurde in 8 nicht nur die Ketofunktion reduziert, sondern auch eine der *ortho*-Methoxygruppen demethyliert. Acetylierung der Diastereomere 9 ergab 10, dessen Desacetoxylierung lieferte 11, das dann zu 12 acetyliert wurde (55% Ausbeute bezogen auf 8). Die oxidative Demethylierung von 12 mit Cerammoniumnitrat und die Desacetylierung mit K₂CO₃ in MeOH ergab (±)-Mamanuthachinon 1 (85% bezogen auf 12; Schmp. 114–116 °C, enantiomerenreiner Naturstoff^[5]: 108.5–109.5 °C)^[19].

Die Totalsynthese von racemischem 1 gelang damit in acht Stufen in 32% Gesamtausbeute ausgehend von 1,2,4,5-Tetramethoxybenzol. Als nächstes gilt es, die Einflußfaktoren für die *exo*-Selektivität dieser Diels-Alder-Reaktion zu ergründen. Für die Planung weiterer Synthesen wäre es sehr nützlich, die Bedeutung des geminalen Dimethylzentrums in 3 und der zwei Vinylmethylgruppen in 7 im Übergangszustand dieser Reaktion zu kennen. Untersuchungen dazu sowie zur Wirkungsweise von Mamanuthachinon 1 werden durchgeführt.

Experimentelles

8: Zu einer eiskühlten Lösung von 7 (208 mg, 0.74 mmol) und THF (0.06 mL, 1 Äquiv.) in CH₂Cl₂ (5 mL) wurde 1.8 M EtAlCl₂ in Toluol (0.60 mL, 1.5 Äquiv.) zugefügt. Nach langsamer tropfenweiser Zugabe einer Lösung von 3 (0.20 g, 2 Äquiv.) in CH₂Cl₂ (2 mL) ließ man die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmen und rührte 6 h. Die Reaktion wurde bei 0 °C durch vorsichtige Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung beendet. Die wäßrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen getrocknet (Na₂SO₄), im Vakuum eingedunstet und an Kieselgel chromatographiert (Hexan/EtOAc 10/1 bis 4/1). 263 mg 8 wurden als weißer Feststoff erhalten (84%); Schmp. 122–124 °C (CH₂Cl₂/Hexan); IR (CDCl₃): $\bar{\nu}_{\text{max}}$ 2939, 1680, 1484, 1465, 1424, 1257, 1225, 1197 cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.55 (s, 1 H, Phenyl), 5.43 (d, *J* = 4.3 Hz, 1 H, Vinyl), 3.87 (s, 6 H), 3.73 (s, 3 H), 3.70 (s, 3 H), 2.60 (d, *J* = 12.3 Hz, 1 H), 2.25 (m, 1 H), 2.0–1.7 (m, 3 H), 1.2–1.0 (m, 3 H), 1.07 (s, 3 H), 1.02 (s, 3 H), 0.92 (d, *J* = 6.9 Hz), 0.89 (s, 3 H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 213.2, 149.2, 148.8, 145.7, 138.9, 138.5, 132.8, 115.6, 99.6, 62.0, 61.5, 56.6, 54.9, 42.5, 41.2, 36.5, 33.9, 31.2, 30.3, 29.8, 28.0, 22.7, 17.1, 12.0; MS (20 eV EI): *m/z* (%): 416 (1) [M⁺], 280 (1), 225 (100) [Aroyl⁺], 210 (6), 191 (4); Hochauflösungs-FAB-MS für C₂₃H₃₀O₅: ber. 416.2564, gef. 416.2540; korrekte C,H-Analyse.

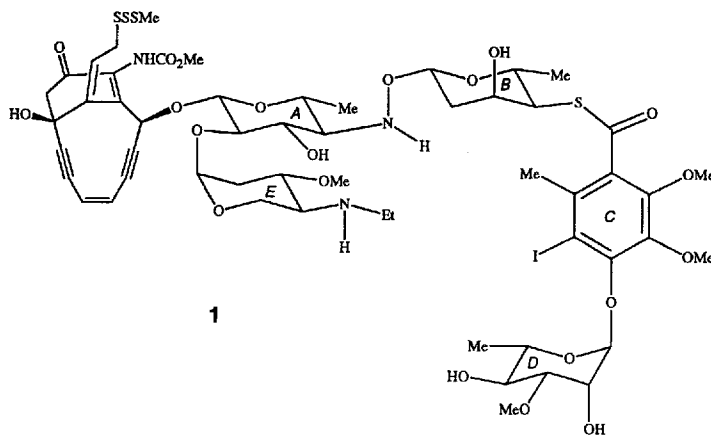
Eingegangen am 26. November 1993 [Z6516]



Schema 2. Synthese von (±)-Mamanuthachinon 1. a) *n*BuLi, LiCl, THF, 0 °C → Raumtemperatur, 1 h; dann (E)-CH₃CH=CCH₃CON(CH₃)OCH₃ 6, –78 °C → Raumtemperatur, 12 h. b) 3 (2 Äquiv.), EtAlCl₂ (1.5 Äquiv.), THF (1 Äquiv.), CH₂Cl₂, Raumtemperatur, 6 h. c) LiAlH₄, THF, Rückfluß, 2.5 d. d) Ac₂O, Et₃N, kat. 4-Dimethylaminopyridin, CH₂Cl₂, Raumtemperatur, 4 h. e) Li (10 Äquiv.), NH₃, –78 °C, 10 min; NaOBz; NH₄Cl. f) (NH₄)₂Ce(NO₃)₆ (2.5 Äquiv.), wäbr. MeCN. g) K₂CO₃, MeOH, Raumtemperatur, 1 h.

- Übersichten zu marinen Naturstoffen, einschließlich zu solchen aus Schwämmen; D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* **1992**, 9, 323, zit. Lit.
- a) M. Kondracki, M. Guyot, *Tetrahedron* **1989**, 45, 1995; b) *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 5815; c) J. Rodriguez, E. Quinoa, R. Rigueira, B. M. Peters, L. M. Abrell, P. Crews, *Tetrahedron* **1992**, 48, 6667.
- B. W. Sullivan, D. J. Faulkner, G. K. Matsumoto, H. Cun-heng, J. Clardy, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 4568.
- a) P. S. Sarin, D. Sun, A. Thornton, W. E. G. Müller, *JNCI, J. Natl. Cancer Inst.* **1987**, 78, 633; b) S. Loya, A. Hizi, *FEBS Lett.* **1990**, 269, 131.
- J. C. Swersey, L. R. Barrows, C. M. Ireland, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6687.
- Vgl. Fußnote 3 aus Lit. [2c].
- K. Alder, G. Stein, *Angew. Chem.* **1937**, 50, 510.
- „Intermolecular Diels-Alder Reactions“; W. Oppolzer in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 5, (Hrsg.: B. M. Trost), Pergamon, London, **1991**, Kap. 4.1.
- R. B. Woodward, T. J. Katz, *Tetrahedron* **1959**, 5, 70.
- J. G. Martin, R. K. Hill, *Chem. Rev.* **1961**, 61, 537.
- a) Y. Kobuke, T. Fueno, J. Furukawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 6548; neuere Beispiele zum Einsatz von Lewis-Säure-Katalysatoren: b) F. Rebière, O. Riant, H. B. Kagan, *Tetrahedron Asymmetry* **1990**, 1, 199; c) K. Furuta, S. Shimizu, Y. Miwa, H. Yamamoto, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1483; d) H. Takemura, N. Komeshima, I. Takahashi, S. Hashimoto, N. Ikota, K. Tomioka, K. Koga, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 5687; e) M. Reetz, S. Kyung, C. Bolm, T. Zierke, *Chem. Ind. London* **1986**, 834.

- [12] Schon früh wurde vorgeschlagen, daß die bevorzugte *endo*-Orientierung der Methylgruppen durch eine σ -Wechselwirkung zustande kommt [11a]. Die im Text gegebene Erklärung, die sterische Wechselwirkungen annimmt, ist wahrscheinlicher, da eine ähnliche *exo*-Bevorzugung bei α -Halogenacrylsäuren gefunden wurde (siehe [10]). Ebenso wurde kürzlich über die Lewis-Säure-abhängige Steuerung der *endo/exo*-Selektivität in einer Hetero-Diels-Alder-Reaktion berichtet: L. F. Tietze, C. Schneider, *Synlett* **1992**, 755.
- [13] K. Mikami, M. Terada, Y. Motoyama, T. Nakai, *Tetrahedron Asymmetry* **1991**, 2, 643.
- [14] E. J. Corey, M. C. Desai, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 5747.
- [15] F. Benington, R. D. Morin, L. C. Clark, Jr., *J. Org. Chem.* **1955**, 20, 102.
- [16] S. Nahm, S. M. Weinreb, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3815.
- [17] S. P. Tanis, Y. M. Abdallah, *Synth. Commun.* **1986**, 251.
- [18] Kristallstrukturanalyse von **8**: $C_{25}H_{36}O_5$, triklin, Raumgruppe *P1* (Nr. 2), $a = 9.9014(6)$, $b = 10.322(1)$, $c = 12.188(1)$ Å, $\alpha = 85.161(7)^\circ$, $\beta = 69.095(6)^\circ$, $\gamma = 87.714(7)^\circ$, $V = 1159.4(4)$ Å³, $Z = 2$, $\rho_{\text{verf.}} = 1.193$ g cm⁻³, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0.8$ cm⁻¹, 4548 Reflexe, davon 4294 unabhängig, 2526 Reflexe verfeinert ($I > 3\sigma(I)$), $R = 0.045$, $R_w = 0.055$. Restelektronendichte < 0.15 e Å⁻³, Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer, $\text{MoK}\alpha$ -Strahlung, $2\theta_{\text{max}} = 50^\circ$, Strukturbestimmung mit Direkten Methoden (MITHRIL), sämtliche Wasserstoffatome wurden auf berechneten Positionen einbezogen, ausgenommen die der Methylgruppen: je ein Wasserstoffatom wurde in der Differenzkarte positioniert und damit die Position der beiden anderen festgelegt. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Direktor des Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, GB-Cambridge CB2 1EZ, unter Angabe des vollständigen Literaturzitats angefordert werden.
- [19] Obwohl uns keine Probe des Naturstoff zum Vergleich zur Verfügung stand, ist unsere Zuordnung mit der kristallographisch belegten Struktur von **8** und durch die vollständige Übereinstimmung der Hochfeld-¹H- und -¹³C-NMR-Daten des synthetisierten **1** mit denen aus der Literatur abgesichert.



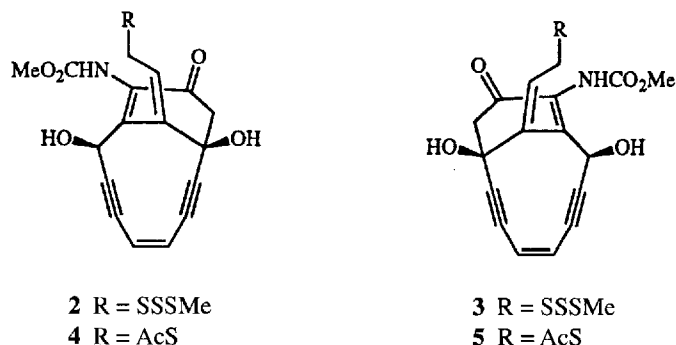
bei diesem Endiin-Wirkstoff ausgeprägter als bei vielen anderen DNA-Spaltungsreagentien^[6]. Beim racemischen Aglycon **2/3** ist diese Fähigkeit drastisch reduziert^[5] und die Sequenzselektivität von **1** verlorengegangen. Das Verhältnis von Doppelstrang- zu Einzelstrang-Spaltungen beträgt bei **2/3** ca. 1:30^[5]. Unter Bedingungen, bei denen die Endiineinheit reaktiv cyclisiert wird, tritt nur eine 10proz. Übertragung von Wasserstoff von der DNA auf das Aglycon auf^[5]. Bei **1** wird hingegen ein 80–90proz. Einbau von Wasserstoff aus Desoxyriboseestern bei der reduktiven Aromatisierung gefunden^[7].

Bedeutung der Kohlenhydratregion in Calicheamicin für die DNA-Erkennung: Vergleich der DNA-Spaltungsaktivität von enantiomeren Calicheamicinonen**

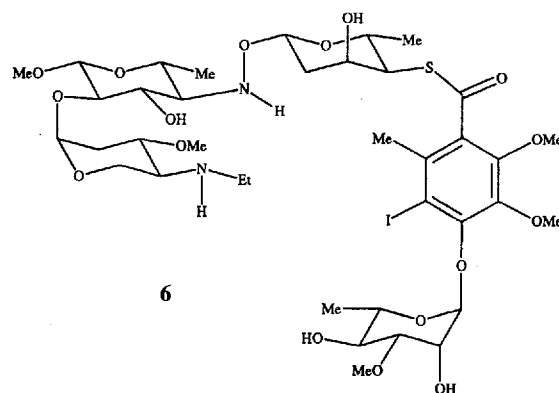
Jayshree Aiyar, Stephen A. Hitchcock, Derek Denhart, Kevin K. C. Liu, Samuel J. Danishefsky* und Donald M. Crothers

Die Antitumorwirkung des natürlich vorkommenden Wirkstoffs Calicheamicin γ_1 **1** beruht wahrscheinlich auf der effizienten hochsequenzselektiven Doppelstrang-Spaltung von Duplex-DNA^[1, 2]. Der Wirkstoff setzt sich aus einer Aryltetrasaccharid-Kohlenhydrat- und einer Endiin-Aglycon-Einheit zusammen. Das Aglycon Calicheamicinon wurde von uns als Racemat (**2/3**) synthetisiert^[3]; Nicolaou et al. stellten später das natürlich vorkommende Enantiomer **3** her^[4].

Calicheamicin γ_1 reagiert mit superspiralisierter Phagen-DNA unter Doppel- und Einzelstrang-Spaltung im Verhältnis 1:2^[5]. Die Fähigkeit zu genau festgelegten Doppelstrang-Schnitten ist



Durch Vorinkubation von linearer Duplex-DNA mit dem Methylglycosid des Aryltetrasaccharidbausteins des Calicheamicins, **6**^[8], und Inkubation mit racemischem Calicheamicinon ließ sich das im wesentlichen einheitliche Spaltungsmuster, das ohne das Saccharid **6** gefunden wurde^[9], beeinflussen^[9a]. Ähnliches gilt für das Racemat der *S*-Acetate **4/5** auch. Im Gegensatz zu Calicheamicinon, dessen Wirkung auf der Trisulfidgruppe beruht, ist das Thioacetat-Racemat **4/5** bei pH 8 für die Diylbil-



[*] Prof. S. J. Danishefsky^[+], Dr. J. Aiyar, Dr. S. A. Hitchcock, Dr. D. Denhart, Dr. K. K. C. Liu, Prof. D. M. Crothers
Department of Chemistry, Yale University
New Haven, CT 06511 (USA)

[**] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (Grants CA 28824 und GM 21966) gefördert. S. A. H. dankt für ein NATO/SERC-Stipendium (SERC = britischer Science and Engineering Research Council), D. D. für ein Doktorandenstipendium des kanadischen National Research Council.

[+] Neue Adresse: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
1275 York Avenue, New York, NY 10021 (USA)
Telefax: Int. + 212/772-8691
und
Department of Chemistry, Havemeyer Hall
Columbia University
New York, NY 10027 (USA)