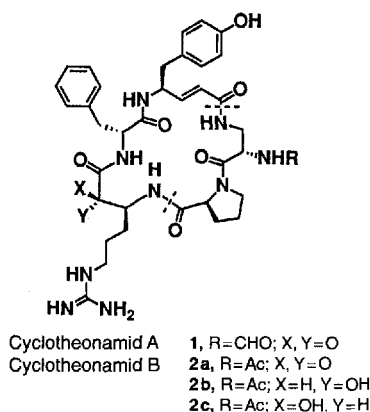


## Synthese von Cyclotheonamid B und Derivaten\*\*

Jingen Deng, Yasumasa Hamada, Takayuki Shioiri\*, Shigeki Matsunaga und Nobuhiro Fusetani

Die Cyclotheonamide A (**1**; R = CHO; X, Y = O) und B (**2a**; R = Ac; X, Y = O) wurden aus dem marinen Schwamm *Theonella* isoliert, der vor der japanischen Insel Hachijo-jima gefunden wurde<sup>[1]</sup>. Diese makrocyclischen Pentapeptide inhibieren einige Proteasen, insbesondere Thrombin, stark und sind damit die ersten makrocyclischen Thrombin-Inhibitoren mit zwei neuartigen Aminosäuren: einem vinylogenen Tyrosin und einem Arginin, das durch eine Carbonylgruppe in der  $\alpha$ -Position verlängert ist ( $\alpha$ -carbonylhomologes Arginin) (Schema 1). Wegen der Einzigartigkeit der Struktur von **1** und **2a** sowie wegen ihrer biologischen Aktivität wurden Totalsynthesen erarbeitet<sup>[2–5]</sup> und der Mechanismus der Inhibierung von Serinproteasen aufgestellt<sup>[4, 6]</sup>.



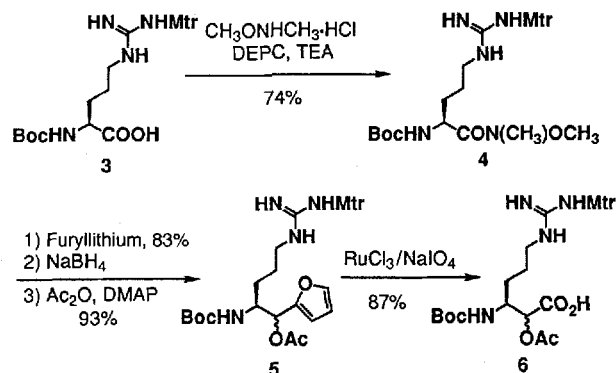
Schema 1. Die makrocyclischen Pentapeptide **1** und **2** mit Angabe der für die konvergente Synthese wichtigen Schnittstellen.

Wir berichten nun über eine effektive Totalsynthese von Cyclotheonamid B **2a** und von den an der  $\alpha$ -Ketogruppe des carbonylhomologen Arginins in Cyclotheonamid B reduzierten Verbindungen **2b** und **2c**. In unserer Strategie wurden die Organophosphorreagentien Diethylphosphonocyanidat,  $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CN}$  (DEPC)<sup>[7]</sup>, und Pentafluorphenyl-diphenylphosphinat,  $\text{Ph}_2\text{P}(\text{O})\text{OC}_6\text{F}_5$  (FDPP)<sup>[8]</sup>, für die Bildung der Pep-

tidbindungen mit zufriedenstellender Effizienz verwendet. In einer konvergenten Strategie wurden zwei Fragmente an Positionen verknüpft (siehe Schema 1), an denen keine Epimerisierung eintreten kann. Bemerkenswert ist die hohe Ausbeute (>80%) der Makrolactamisierung unter Verwendung von FDPP und die Nutzung der 2-Furylgruppe als Synthesebaustein für die Carbonylgruppe<sup>[9]</sup>.

Da von der  $\alpha$ -Carbonylamidfunktion bekannt ist, daß sie mit Serinproteasen tetraedrische Hemiketale bildet<sup>[4, 6]</sup> und daß sie für die Affinität von **1** zu den Enzymen eine wichtige Rolle spielt, sollte mit den beiden Dihydroanaloga **2b** und **2c** die biologische Bedeutung der  $\alpha$ -Carbonylamideinheit bestätigt werden können.

Die Synthese des westlichen Teils ging von *N*<sup>tert</sup>-Butoxycarbonyl-*N*<sup>ω</sup>-(4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzolsulfonyl)-(*S*)-arginin **3** (Boc-(*S*)-Arg(Mtr)-OH) aus, das mit *N,O*-Dimethylhydroxylamin (DEPC, Triethylamin (TEA), Dimethylformamid (DMF), Raumtemperatur, 4 h) gekuppelt wurde. Das entstandene Weinreb-Amid **4** wurde mit 2-Furyllithium, das aus Furan gebildet wurde (*t*BuLi, THF,  $-78^\circ\text{C}$ , 1 h;  $0^\circ\text{C}$ , 4 h), kondensiert, reduziert ( $\text{NaBH}_4$ , MeOH,  $-10^\circ\text{C}$ , 0.5 h) und dann zu **5** acetyliert ( $\text{Ac}_2\text{O}$ , 4-Dimethylaminopyridin (DMAP),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Raumtemperatur, 12 h). Das Furan **5** wurde als Gemisch der *syn*- und *anti*-Isomere im Verhältnis von 61:39 erhalten<sup>[10]</sup>. Die Ruthenium-katalysierte Oxidation ( $\text{RuCl}_3/\text{NaIO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CCl}_4/\text{H}_2\text{O}$ , 1.5 h)<sup>[9, 11]</sup> von **5** lieferte glatt die  $\alpha$ -Acetoxycarbonsäure **6**, eine Vorstufe des  $\alpha$ -carbonylhomologen Arginins.

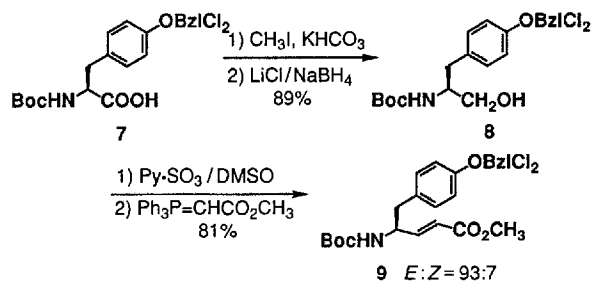


Die Synthese des (*E*)-vinylogenen (*S*)-Tyrosins **9** gelang stereoselektiv aus dem Aminoalkohol **8** durch eine Eintopfreaktion in guter Ausbeute<sup>[12]</sup>. *N*-*tert*-Butoxycarbonyl-*O*-2,6-dichlorbenzyl-(*S*)-tyrosin **7** (Boc-(*S*)-Tyr( $\text{Cl}_2\text{Bzl}$ )-OH) wurde durch Bildung des Methylesters ( $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{KHCO}_3$ , DMF, Raumtemperatur, 4 h) und anschließende Reduktion ( $\text{LiCl}/\text{NaBH}_4$ , THF/EtOH, Raumtemperatur, 12 h) nach unserer Methode<sup>[13]</sup> zu **8** umgesetzt. Die Oxidation von **8** (Dimethylsulfoxid (DMSO), Schwefelttrioxid/Pyridin-Komplex, TEA, 0.5 h) und die anschließende Wittig-Reaktion mit Methoxycarbonylmethyltriphenylphosphoran lieferten den (*E*)-vinylogenen Tyrosinester **9** (Schmp.  $125\text{--}126^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +4.3$  ( $c = 1.03$  in MeOH)) als Hauptprodukt (*E*:*Z* = 93:7).

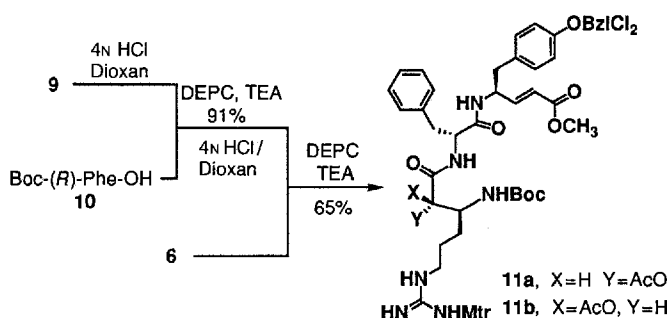
[\*] Prof. Dr. T. Shioiri, J. Deng, Prof. Dr. Y. Hamada  
Department of Synthetic Organic Chemistry  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University  
Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467 (Japan)  
Telefax: Int. + 52/834-4172

Dr. S. Matsunaga, Prof. Dr. N. Fusetani  
Laboratory of Marine Biochemistry  
Faculty of Agriculture, The University of Tokyo  
Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113 (Japan)

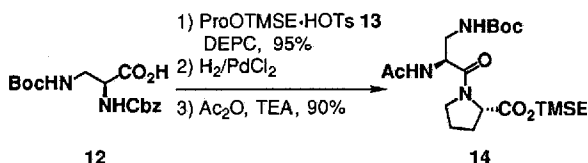
[\*\*] Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Erziehung, Wissenschaft und Kultur gefördert. J. D. dankt der japanischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften für ein Promotionsstipendium.



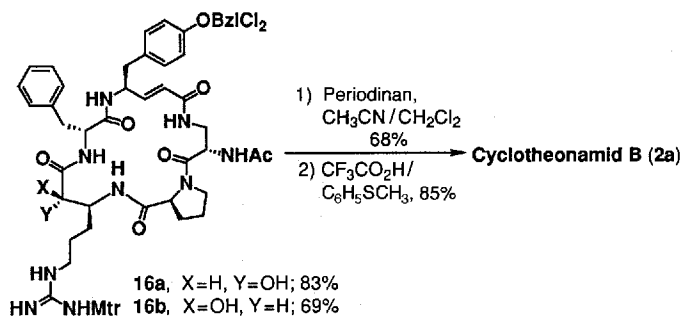
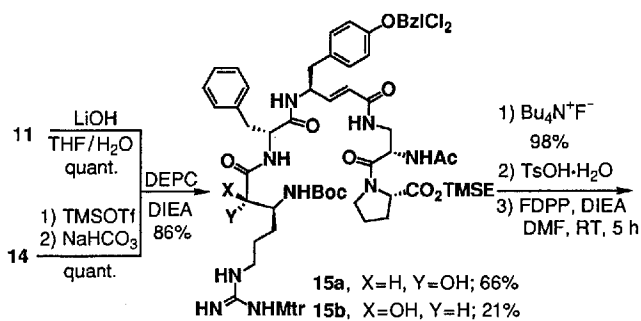
Das erforderliche westliche Fragment **11** wurde aus **9** durch Anknüpfung von Boc-(*R*)-Phenylalanin **10** (Boc-(*R*)-Phe-OH) sowie von **6** hergestellt, wobei die N-terminalen Boc-Schutzgruppen jeweils durch Säure abgespalten (4 *N* HCl/Dioxan, 0 °C, 2 h, dann Raumtemperatur, 0.5 h) und die Kupplungen mit DEPC (TEA, DMF, 0 °C, 12 h) durchgeführt wurden. **11** wurde als Gemisch der *syn*- und *anti*-Isomere **11a** und **11b** (69:31) erhalten.



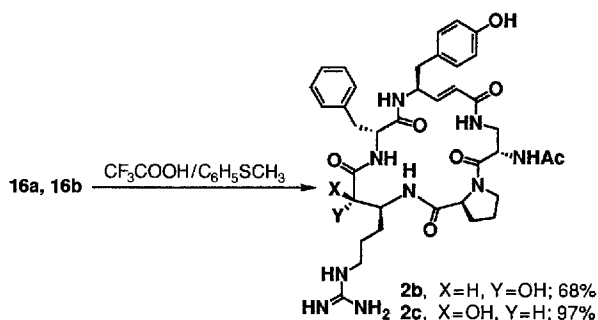
Das östliche Fragment **14** (Schmp. 88–89 °C,  $[\alpha]_D^{22} = -42.3$  ( $c = 1.05$  in  $\text{CHCl}_3$ )) wurde durch Kondensation von *N*<sup>α</sup>-Cbz-*N*<sup>β</sup>-Boc-(*S*)-2,3-Diaminopropionsäure **12**<sup>[14]</sup> (Cbz = Benzyl-oxy-carbonyl) mit dem (*S*)-Prolintrimethylsilylester/Toluolsulfonsäure-Komplex **13** (TMSE = Trimethylsilylethyl) in Gegenwart von DEPC (TEA, DMF, 0 °C, 12 h) und durch anschließende hydrogenolytische Entfernung der Cbz-Schutzgruppe ( $\text{H}_2$ ,  $\text{PdCl}_2$ , MeOH, 0.5 h) sowie Acetylierung der freien Aminogruppe ( $\text{Ac}_2\text{O}$ , TEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Raumtemperatur, 12 h) synthetisiert.



Vor dem konvergenten Aufbau des gesamten Kohlenstoffgerüsts von **2a** wurde die Schutzgruppe am C-Terminus von **11** unter alkalischen Bedingungen (LiOH, THF/ $\text{H}_2\text{O}$ , 0 °C, 3.5 h, dann Raumtemperatur, 3.5 h) und die Schutzgruppe am *N*<sup>β</sup>-Terminus von **14** mit Trimethylsilyltriflat (TMSOTf) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und dann mit gesättigter wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung abgespalten. TMSOTf war dabei effektiver als  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  oder *p*-TsOH. Die Kupplung der beiden geschützten Fragmente (DEPC, Diisopropylethylamin (DIEA), DMF, 0 °C, 12 h) lieferte die linearen Pentapeptide **15a** und **15b**, die leicht säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt wurden<sup>[15]</sup>, in 66 bzw. 21% Ausbeute. Nach Abspalten der Schutzgruppen am C-Terminus ( $\text{Bu}_4\text{NF} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , THF, 0 °C, 3.5 h, dann Raumtemperatur,



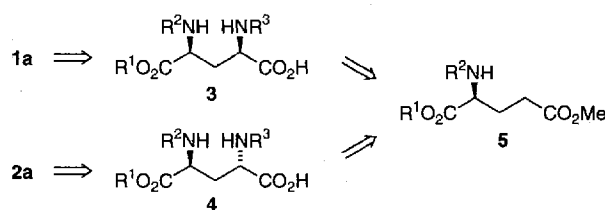
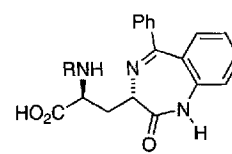
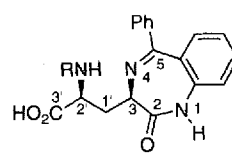
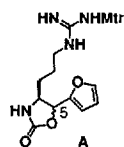
1.5 h) und am N-Terminus (*p*-TsOH· $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Raumtemperatur, 12 h) gelang die Makrolactamisierung effizient mit FDPP in Gegenwart von DIEA in DMF unter Bildung von **16a** und **16b** in 83 bzw. 69% Ausbeute. **16a** wurde mit dem Dess-Martin-Periodinan<sup>[16]</sup> ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1/2), 50 °C, 6 h) zur Oxo-Verbindung oxidiert. Nach Entfernen sowohl der 2,6-Dichlorbenzyl- als auch der 4-Methoxy-2,3,6-trimethylbenzolsulfonylgruppe mit Trifluoressigsäure/Thioanisol (Raumtemperatur, 20 h) wurde **2a** ( $[\alpha]_D^{24} = -13.1$  ( $c = 0.2$  in MeOH)) durch präparative HPLC gereinigt und durch Vergleich seiner Spektren mit denen des Naturstoffs identifiziert. Analog gab die Abspaltung der Schutzgruppen von **16a** und **16b** nach der Reinigung (HPLC) die Hydroxyverbindungen **2b** und **2c** in 68 bzw. 97% Ausbeute (**2b**:  $[\alpha]_D^{25} = -7.9$  ( $c = 0.21$  in MeOH); **2c**:  $[\alpha]_D^{25} = -4.2$  ( $c = 0.22$  in MeOH)).



Die Enzyminhibierungsaktivität des synthetisierten Cyclotheonamids **2a** und der Hydroxyverbindungen **2b** und **2c** wurde gegenüber Thrombin und Trypsin untersucht und mit der von natürlichem Cyclotheonamid **1** verglichen. Während **2a** gegenüber Thrombin und Trypsin hohe Aktivität zeigte<sup>[17]</sup>, wiesen **2b** und **2c** keine oder nur geringfügige Aktivität auf. Diese Ergebnisse beweisen klar, daß die α-Carbonylamideinheit die enzyminhibierende Aktivität von Cyclotheonamiden bestimmt. Detailliertere Untersuchungen zur Inhibierungsaktivität und die Synthese von Analoga von Cyclotheonamid **B** werden zur Zeit durchgeführt.

Eingegangen am 24. März 1994 [Z 6797]

- [1] N. Fusetani, S. Matsunaga, H. Matsumoto, Y. Takebayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7053.
- [2] Zur Neuordnung der Konfiguration und zur Totalsynthese von Cyclotheonamid B: M. Hagihara, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6570.
- [3] Zur Totalsynthese von Cyclotheonamid A: P. Wipf, H. Kim, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5592; Berichtigung: *ibid.* **1994**, *59*, 2914.
- [4] Zu Kristallstrukturanalysen an einem menschlichen  $\alpha$ -Thrombinkomplex, zu biologischen Aktivitäten und zur Totalsynthese von Cyclotheonamid A: B. E. Maryanoff, X. Qiu, K. P. Padmanabhan, A. Tulinsky, H. R. Almond, Jr., P. Andrade-Gordon, M. N. Greco, J. A. Kauffman, K. C. Nicolaou, A. Liu, P. H. Brungs, N. Fusetani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 8048.
- [5] Zur Synthese von Fragmenten von Cyclotheonamiden: a) P. Roth, R. Metternich, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3993; b) P. Wipf, H. Kim, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4275; c) J. Deng, Y. Hamada, T. Shioiri in *Peptide Chemistry 1992* (Proc. 2nd Jpn. Symp. Peptide Chem.) (Hrsg.: N. Yanaiharu), ESCOM, Leiden, **1993**, 72.
- [6] A. Y. Lee, M. Hagihara, R. Karmacharya, M. W. Albers, S. L. Schreiber, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12619.
- [7] S. Takuma, Y. Hamada, T. Shioiri, *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, *30*, 3147, zit. Lit.
- [8] S. Chen, J. Xu, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6711; J. Dudash, Jr., J. Jiang, S. C. Mayer, M. M. Joullie, *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 349.
- [9] Zu Arylgruppen als Synthesebausteine für Carbonylgruppen: F. Matsuura, Y. Hamada, T. Shioiri, *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 265; *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 733, zit. Lit.
- [10] Die Konfigurationen von **5** wurden aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der entsprechenden Oxazolidinone **A** bestimmt: Überschußisomer (*syn*):  $\delta(5\text{-H}) = 5.58$  ( $J = 8.25$  Hz); Unterschlußisomer (*anti*):  $\delta(5\text{-H}) = 5.09$  ( $J = 6.59$  Hz); M. A. Poss, J. A. Reid, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1411.
- [11] P. H. J. Carlsen, T. Katsuki, V. S. Martin, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936; M. T. Nuñez, V. S. Martin, *ibid.* **1990**, *55*, 1928.
- [12] Der entsprechende vinyloge (*R*)-Tyrosinester wurde analog erhalten (89% Ausbeute,  $E:Z = 95:5$ ). Siehe auch Lit.[5c].
- [13] Y. Hamada, M. Shibata, T. Sugiura, S. Kato, T. Shioiri, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1252.
- [14] M. Waki, Y. Kitajima, N. Izumiya, *Synthesis* **1981**, 266.
- [15] **15a**: Schmp.  $87-88^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = -43.4$  ( $c = 1.06$  in  $\text{CHCl}_3$ ); **15b**: Schmp.  $105-106^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = -19.0$  ( $c = 1.09$  in  $\text{CHCl}_3$ ). Die Konfigurationen der Hydroxyfunktionen in **15a** und **15b** wurden aus denen ihrer Vorstufen **5** abgeleitet; vgl. Lit.[10].
- [16] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277.
- [17] Die  $\text{IC}_{50}$ -Werte ( $\text{IC} = \text{Inhibierungskonstante}$ ) betragen gegenüber Thrombin und Trypsin  $7.2$  bzw.  $17 \text{ ng mL}^{-1}$  für das synthetisierte Cyclotheonamid **2a** und  $7.2$  bzw.  $10 \text{ ng mL}^{-1}$  für das natürliche Cyclotheonamid **A** unter den gleichen Bedingungen. Da natürliches Cyclotheonamid **B** nicht in ausreichender Menge zur Verfügung stand, waren vergleichende Untersuchungen der Enzyminhibition nicht möglich.



In unserer Retrosynthese werden **1** und **2** durch eine halbseitige Sternbach-Cyclisierung<sup>[5]</sup> aus *syn*- bzw. *anti*-2,4-Diaminoglutarinsäure (**3** bzw. **4**) aufgebaut, die ihrerseits durch regio-selektive elektrophile Aminierung von N-geschütztem (*S*)-Glutamat **5** gewonnen werden.

Schema 1 zeigt die Synthese. Die regio-selektive Deprotonierung von C-4 im Glutaminsäuremethylester **6** erfordert einen effizienten Schutz der gleichfalls aciden 2-Position. Durch Rapports 9-Phenylfluoren-9-yl(Phf)-Schutzgruppe<sup>[6]</sup> und die *tert*-Butylgruppe wird die 2-Position vollständig abgeschirmt, so daß aus **7** mit Kaliumhexamethyldisilazanid (KHMDS) ausschließlich das gewünschte 4-Enolat gebildet wird, das mit 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonsäure(Trisyl)-Azid<sup>[7]</sup> zu einem 1:3-Gemisch der diastereomeren Azide **8a** und **8b** abgefangen wird. Sicherlich hätte sich durch ein chirales Auxiliar an der benachbarten Carboxygruppe eine höhere Selektivität erzielen lassen<sup>[8]</sup>, doch wurde wegen der einfachen Diastereomerentrennung an späterer Stelle auf diese Komplizierung der Sequenz verzichtet. **8** wird in Gegenwart von *tert*-Butoxycarbonyl(Boc)-Anhydrid katalytisch hydriert. Dabei werden in einem Schritt die Phf-Schutzgruppe abgespalten, das Azid zum Amin hydriert und beide  $\text{NH}_2$ -Funktionen durch Boc-Gruppen geschützt. Die beiden Estergruppen in **9** sind in ihrer Reaktivität hinreichend differenziert. So läßt sich der Methylester mit Lithiumhydroxid selektiv verseifen und anschließend mit 2-Aminobenzophenon in das Amid **10** überführen. Die Diastereomere **10a** und **10b** können säulenchromatographisch leicht getrennt werden.

## Synthese einer neuen nichtnatürlichen Aminosäure mit einem Benzodiazepinrest in der Seitenkette und Einbau in ein Tripeptid

Johann Mulzer\*, Fridtjof Schröder, Alessandro Lobbia, Jürgen Buschmann und Peter Luger

Zur Synthese neuer physiologisch aktiver Peptidmimetica, die in der Therapie immer größere Bedeutung gewinnen<sup>[1]</sup>, muß der „Baukasten“ an nichtnatürlichen Aminosäuren<sup>[2]</sup> ständig erweitert werden. Besonders attraktiv sind  $\alpha$ -Aminosäuren mit einer Seitenkette, in der eine Einheit als Rezeptorligand fungieren kann. In diesem Fall kann das mit solchen Aminosäuren

[\*] Prof. Dr. J. Mulzer, Dr. F. Schröder  
Institut für Organische Chemie der Freien Universität  
Takustraße 3, D-14195 Berlin  
Telefax: Int. + 30/838-5163  
Dr. A. Lobbia  
Schering AG, Berlin  
J. Buschmann, P. Luger  
Institut für Kristallographie der Freien Universität Berlin