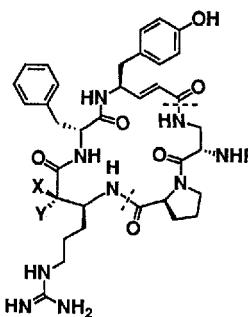


Synthese von Cyclotheonamid B und Derivaten**

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^[1]. Diese makrocyclischen Pentapeptide inhibieren einige Proteasen, insbesondere Thrombin, stark und sind damit die ersten makrocyclischen Thrombin-Inhibitoren mit zwei neuartigen Aminosäuren: einem vinylogen Tyrosin und einem Arginin, das durch eine Carbonylgruppe in der α -Position verlängert ist (α -carbonylhomologes Arginin) (Schema 1). Wegen der Einzigartigkeit der Struktur von 1 und 2a sowie wegen ihrer biologischen Aktivität wurden Totalsynthesen erarbeitet^[2-5] und der Mechanismus der Inhibition von Serinproteasen aufgestellt^[4, 6].



Cyclotheonamid A 1, R=CHO; X, Y=O
Cyclotheonamid B 2a, R=Ac; X, Y=O
2b, R=Ac; X=H, Y=OH
2c, R=Ac; X=OH, Y=H

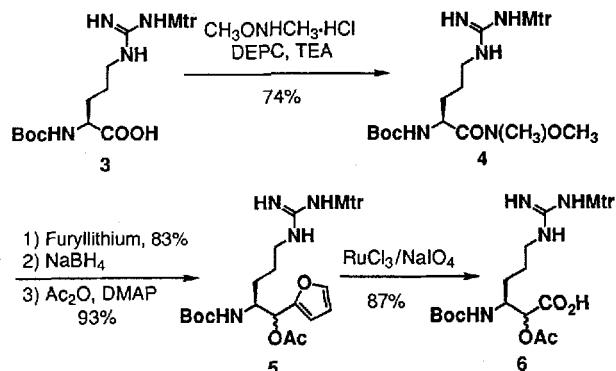
Schema 1. Die makrocyclischen Pentapeptide 1 und 2 mit Angabe der für die konvergente Synthese wichtigen Schnittstellen.

Wir berichten nun über eine effektive Totalsynthese von Cyclotheonamid B 2a und von den an der α -Ketogruppe des carbonylhomologen Arginins in Cyclotheonamid B reduzierten Verbindungen 2b und 2c. In unserer Strategie wurden die Organophosphorreagentien Diethylphosphonocyanidat, $(C_2H_5O)_2P(O)CN$ (DEPC)^[7], und Pentafluorphenyl-diphenylphosphinat, $Ph_2P(O)OC_6F_5$ (FDPP)^[8], für die Bildung der Pepti-

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^[9].

Da von der α -Carbonylamidfunktion bekannt ist, daß sie mit Serinproteasen tetraedrische Hemiketale bildet^[4, 6] 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 α -Carbonylamideinheit bestätigt werden können.

Die Synthese des westlichen Teils ging von *N*^α-*tert*-Butoxycarbonyl-*N*^ω-(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 °C, 1 h; 0 °C, 4 h), kondensiert, reduziert ($NaBH_4$, MeOH, -10 °C, 0.5 h) und dann zu 5 acetyliert (Ac_2O , 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), CH_2Cl_2 , Raumtemperatur, 12 h). Das Furan 5 wurde als Gemisch der *syn*- und *anti*-Isomere im Verhältnis von 61:39 erhalten^[10]. Die Ruthenium-katalysierte Oxidation ($RuCl_3/NaIO_4$, $CH_3CN/CCl_4/H_2O$, 1.5 h)^[9, 11] von 5 lieferte glatt die α -Acetoxykarbonsäure 6, eine Vorstufe des α -carbonylhomologen Arginins.



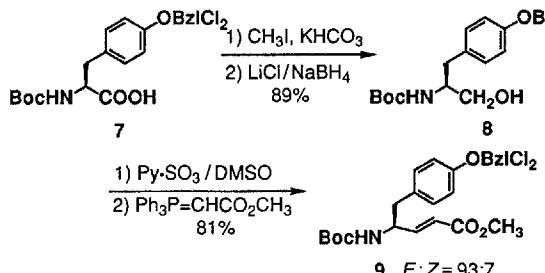
Die Synthese des (*E*)-vinylogen (S)-Tyrosins 9 gelang stereoselektiv aus dem Aminoalkohol 8 durch eine Eintopfreaktion in guter Ausbeute^[12]. *N*-*tert*-Butoxycarbonyl-*O*-2,6-dichlorbenzyl-(S)-tyrosin 7 (*Boc*-(S)-Tyr(Cl₂Bz)-OH) wurde durch Bildung des Methylesters (CH_3I , $KHCO_3$, DMF, Raumtemperatur, 4 h) und anschließende Reduktion ($LiCl/NaBH_4$, THF/EtOH, Raumtemperatur, 12 h) nach unserer Methode^[13] zu 8 umgesetzt. Die Oxidation von 8 (Dimethylsulfoxid (DMSO), Schwefeltrioxid/Pyridin-Komplex, TEA, 0.5 h) und die anschließende Wittig-Reaktion mit Methoxycarbonylmethyltriphenylphosphoran liefern den (*E*)-vinylogen Tyrosinester 9 (Schmp. 125–126 °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

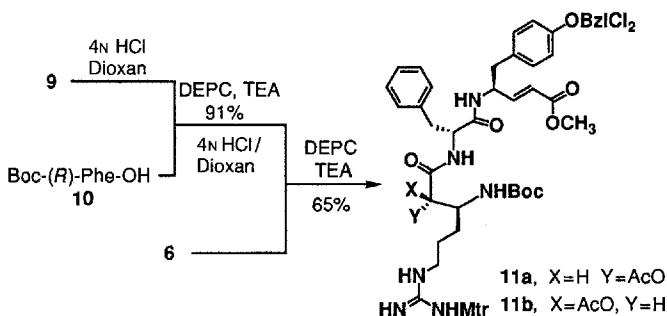
Department of Synthetic Organic Chemistry
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University
Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467 (Japan)
Telefax: Int. + 52/834-4172

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

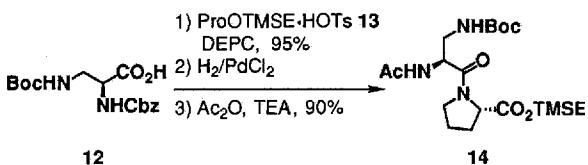
[**] Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Erziehung, Wissenschaft und Kultur gefördert. J. D. dankt der japanischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften für ein Promotionsstipendium.



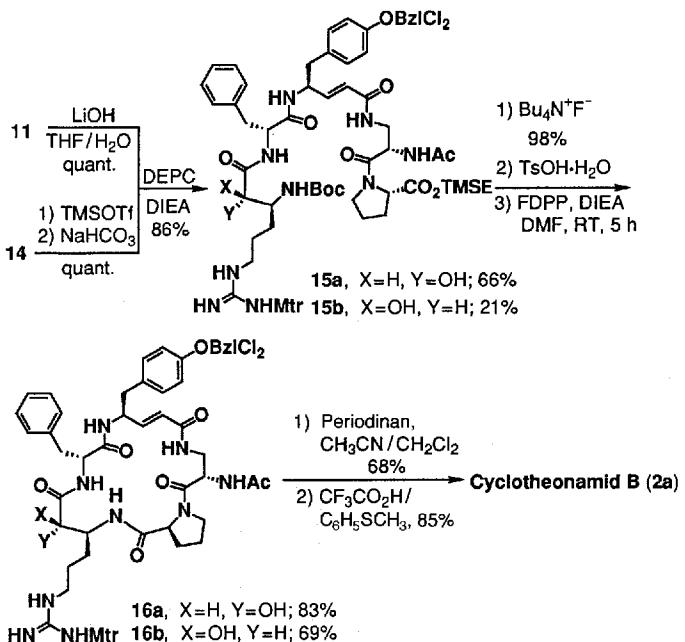
Das erforderliche westliche Fragment **11** wurde aus **9** durch Anknüpfung von Boc-(*R*)-Phenylalanin **10** (Boc-(*R*)-Phe-OH) sowie von **6** hergestellt, wobei die N-terminalen Boc-Schutzgruppen jeweils durch Säure abgespalten (4 N HCl/Dioxan, 0 °C, 2 h, dann Raumtemperatur, 0.5 h) und die Kupplungen 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.



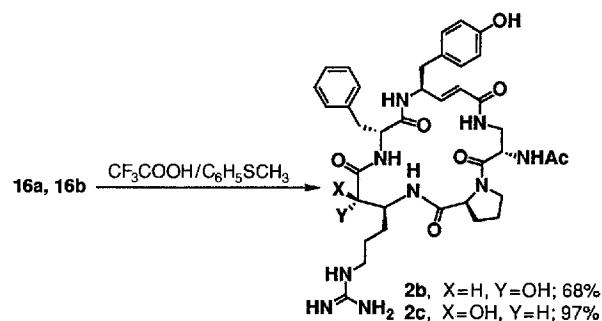
Das östliche Fragment **14** (Schmp. 88–89 °C, $[\alpha]_D^{22} = -42.3$ ($c = 1.05$ in CHCl_3)) wurde durch Kondensation von N^{α} -Cbz- N^{β} -Boc-(*S*)-2,3-Diaminopropionsäure **12**^[14] (Cbz = Benzylxycarbonyl) mit dem (*S*)-Prolintrimethylsilylylester/Toluolsulfonsäure-Komplex **13** (TMSE = Trimethylsilylethyl) in Gegenwart von DEPC (TEA, DMF, 0 °C, 12 h) und durch anschließende hydrogenolytische Entfernung der Cbz-Schutzgruppe (H_2 , PdCl_2 , MeOH , 0.5 h) sowie Acetylierung der freien Aminogruppe (Ac_2O , TEA, CH_2Cl_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, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 0 °C, 3.5 h, dann Raumtemperatur, 3.5 h) und die Schutzgruppe am N^{β} -Terminus von **14** mit Trimethylsilyltriflat (TMSOTf) in CH_2Cl_2 und dann mit gesättigter wässriger NaHCO_3 -Lösung abgespalten. TMSOTf war dabei effektiver als $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ oder *p*-TsOH. Die Kupplung der beiden entschützten Fragmente (DEPC, Diisopropylethylamin (DIEA), DMF, 0 °C, 12 h) lieferte die linearen Pentapeptide **15a** und **15b**, die leicht säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt wurden^[15], 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· H_2O , CH_2Cl_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^[16] ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (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)).



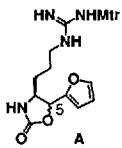
Die Enzyminhibitierungsaktivität des synthetisierten Cyclotheonamids **2a** und der Hydroxyverbindungen **2b** und **2c** wurde gegenüber Thrombin und Trypsin untersucht und mit der von natürlichem Cyclotheonamid **A 1** verglichen. Während **2a** gegenüber Thrombin und Trypsin hohe Aktivität zeigte^[17],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

Eingegangen am 24. März 1994 [Z 6797]

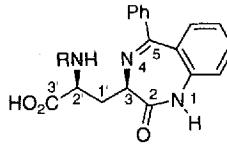
- [1] N. Fusetani, S. Matsunaga, H. Matsumoto, Y. Takebayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7053.
- [2] Zur Neuordnung der Konfiguration und zur Totalsynthese von Cyclotheonamid B: M. Hagihara, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6570.
- [3] Zur Totalsynthese von Cyclotheonamid A: P. Wipf, H. Kim, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5592; Berichtigung: *ibid.* **1994**, *59*, 2914.
- [4] Zu Kristallstrukturanalysen an einem menschlichen α -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 Ipn. Symp. Peptide Chem.) (Hrsg.: N. Yanaihara), 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. Joullié, *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: Überschüßisomer (*syn*): $\delta(5\text{-H}) = 5.58$ ($J = 8.25$ Hz); Unterschüßisomer (*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. Martín, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936; M. T. Nuñez, V. S. Martín, *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 °C, $[\alpha]_D^{25} = -43.4$ ($c = 1.06$ in CHCl_3); **15b**: Schmp. 105–106 °C, $[\alpha]_D^{25} = -19.0$ ($c = 1.09$ in 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 IC_{50} -Werte (IC = Inhibitierungskonstante) betragen gegenüber Thrombin und Trypsin 7.2 bzw. 17 ng mL^{-1} für das synthetisierte Cyclotheonamid B **2a** und 7.2 bzw. 10 ng mL^{-1} für das natürliche Cyclotheonamid A **1** unter den gleichen Bedingungen. Da natürliches Cyclotheonamid B nicht in ausreichender Menge zur Verfügung stand, waren vergleichende Untersuchungen der Enzyminhibition nicht möglich.

gebildete Peptidmimeticum ein peptidischer und ein nicht-peptidischer Rezeptorligand sein.

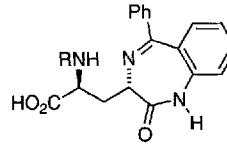
Unterschiedlich stark hydrierte Benzodiazepine haben sich als Rezeptorliganden bewährt^[3], so daß uns die Aminosäuren **1a** und **2a** als Bausteine für Peptidmimetica besonders geeignet erscheinen. Wegen des 1,3-Abstands der Aminofunktionen sollten einerseits Benzodiazepin und Peptidkette genügend voneinander getrennt, andererseits eine wechselseitige Beeinflussung möglich sein. Dieses Funktionalisierungsmuster von **1a** und **2a** ist analog denen von Arylalaninen, Histidin oder Tryptophan. Zur Synthese von 2,4-Diaminoglutaräuren ist wenig bekannt: Belokon et al. synthetisierten *anti*-(2S,4S)-Diaminoglutaräure über asymmetrisch stabilisierte Nickelkomplexe^[4]; die *syn*-Verbindung ist unbekannt. Zur Synthese der Zielverbindungen **1a** und **2a** kommt es vor allem auf die Differenzierung der beiden endständigen Aminocarbonsäureeinheiten an. Insbesondere bei der *syn*-Diaminoglutaräure ist diese wegen der *meso*-Symmetrie unabdingbar.



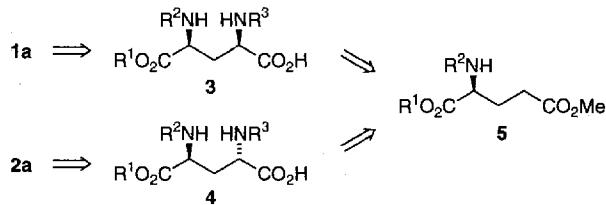
[11] P. H. J. Carlsen, T. Katsuki, V. S. Martín, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936; M. T. Nuñez, V. S. Martín, *ibid.* **1990**, *55*, 1928.



1a, R = H
1b, R = Fmoc



2a, R = H
2b, R = Fmoc



In unserer Retrosynthese werden **1** und **2** durch eine halbseitige Sternbach-Cyclisierung^[5] aus *syn*- bzw. *anti*-2,4-Diaminoglutaräure (**3** bzw. **4**) aufgebaut, die ihrerseits durch regioselektive elektrophile Aminierung von N-geschütztem (*S*)-Glutamat **5** gewonnen werden.

Schema 1 zeigt die Synthese. Die regioselektive Deprotonierung von C-4 im Glutaminsäuremethylester **6** erfordert einen effizienten Schutz der gleichfalls aciden 2-Position. Durch Rapoports 9-Phenylfluoren-9-yl(Phf)-Schutzgruppe^[6] 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^[7] 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^[8], 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 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^[1], muß der „Baukasten“ an nichtnatürlichen Aminosäuren^[2] ständig erweitert werden. Besonders attraktiv sind α -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