

- [10] a) M. Mutter, G. Tuchscherer, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1988**, *9*, 437; b) G. Tuchscherer, C. Servis, G. Corradin, U. Blum, J. Rivier, M. Mutter, *Protein Sci.* **1992**, *1*, 1377.
- [11] a) M. Mutter, G. Tuchscherer, C. Miller, K.-H. Altmann, R. I. Carey, D. F. Wyss, A. M. Labhardt, J. E. Rivier, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1463; b) G. Tuchscherer, L. Scheibler, P. Dumy, M. Mutter, *Biopolym. Pept. Sci.* **1998**, *47*, 63.
- [12] P. Dumy, I. M. Eggleston, S. E. Cervigni, U. Sila, X. Sun, M. Mutter, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1255.
- [13] M. Mutter, P. Dumy, P. Garrouste, C. Lehmann, M. Mathieu, C. Peggion, S. Peluso, A. Razanane, G. Tuchscherer, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1587; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1482.
- [14] K. Rose, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 30.
- [15] a) G. Tuchscherer, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8419; O. Nyanguile, M. Mutter, G. Tuchscherer, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, *1*, 9.
- [16] P. E. Dawson, S. B. H. Kent, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7263.
- [17] C. F. Liu, J. P. Tam, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 6584.
- [18] S. F. Michael, V. J. Kilfoil, M. H. Schmidt, B. T. Amann, J. M. Berg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 4796.
- [19] E. Rebar, C. O. Pabo, *Science* **1994**, *263*, 671.
- [20] J. Miller, A. D. McLachlan, A. Klug, *EMBO J.* **1985**, *4*, 1609.
- [21] R. S. Brown, C. Sanders, P. Argos, *FEBS Lett.* **1985**, *186*, 271.
- [22] P. R. Gerber, K. Müller, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1995**, *9*, 251C.
- [23] D. Grell, C. Lehmann, M. Mathieu, G. Tuchscherer, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [24] J. M. Stewart, J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, Pierce Chemical, Rockford, IL, **1984**.
- [25] a) P. Dumy, I. M. Eggleston, G. Esposito, S. Nicula, M. Mutter, *Biopolymers* **1996**, *39*, 297; b) G. V. Nikiforovich, C. Lehmann, M. Mutter, *Biopolymers*, im Druck.
- [26] J. M. Berg, D. L. Merkle, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3759.
- [27] I. Bertini, C. Luchinat, *Adv. Inorg. Biochem.* **1984**, *6*, 71.
- [28] B. Rohwedder, Dissertation, Universität Lausanne (Schweiz), **1997**.
- [29] N. P. Pavletich, C. O. Pabo, *Science* **1991**, *252*, 809.
- [30] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787.
- [31] M. Mergler, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4005.

## Studien zur Totalsynthese von Himastatin: Korrektur der stereochemischen Zuordnung\*\*

Theodore M. Kamenecka und Samuel J. Danishefsky\*

*Professor Elias J. Corey gewidmet*

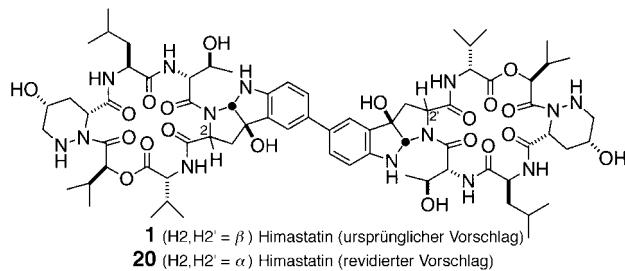
Auf der Suche nach neuen Antibiotika und Cytostatika untersuchten Wissenschaftler von Bristol Myers Squibb den Actinomyceten-Stamm ATCC 53653 aus dem indischen Bundesstaat Himachal Pradesh. Dabei stießen sie auf eine neue Verbindung mit der Summenformel  $C_{72}H_{104}N_{14}O_2$ , die sie

[\*] Prof. S. J. Danishefsky,<sup>[+]</sup> T. M. Kamenecka  
Laboratory for Bioorganic Chemistry  
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research  
1275 York Avenue, Box 106, New York, NY 10021 (USA)  
Fax: (+1) 212-772-8691  
E-mail: c-kandell@ski.mskcc.org

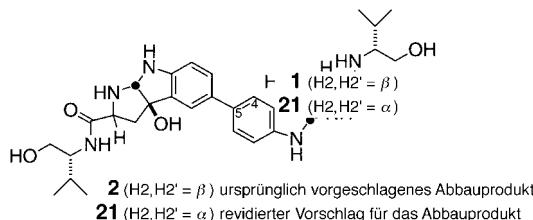
[+] Weitere Adresse:  
Department of Chemistry, Columbia University  
Havemeyer Hall, New York, NY 10027 (USA)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health unterstützt (Förder-Nr.: CA-28824 (SSD) und CA-08748 (SKI Core Grant)). T.M.K. dankt den NIH für ein Postdoktorandenstipendium (Förder-Nr.: AI-09355). Wir danken Bristol Myers Squibb für eine authentische Probe von Himastatin und Dr. George Sukenick sowie dem NMR Core Facility Laboratory, Sloan-Kettering Institute for Cancer Research, für die Durchführung von MS- und NMR-Analysen.

Himastatin nannten.<sup>[1]</sup> Nach ausgiebigen Optimierungsarbeiten mit dem Stamm wurde Himastatin in ausreichenden Mengen erhalten, um chemische und biologische Untersuchungen durchzuführen zu können. Himastatin hat zwar noch nicht das Stadium der klinischen Forschung erreicht, aber seine Wirkung gegen Gram-positive Mikroorganismen und in einer Reihe von Tumor-Testsystemen ist beeindruckend. Nach Ergebnissen spektroskopischer Untersuchungen und gestützt auf einige Abbaustudien wurde **1** als Struktur von



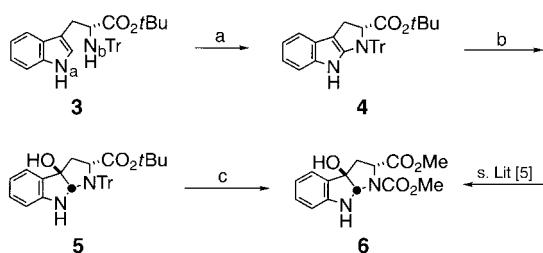
Himastatin vorgeschlagen. Dementsprechend wurde ein Abbauprodukt von Himastatin, das vom Peptidteil nur noch einen D-Valinol-Baustein enthält, als **2** formuliert.



Unser Interesse an Himastatin wurde zunächst durch die Herausforderung geweckt, die die chemische Synthese stellt. Lösungen von Problemstellungen dieser Komplexität gehen üblicherweise mit einem Lernprozeß einher, der von weitergehendem Nutzen sein kann. Darüber hinaus hatten wir auch eine klare biologische Fragestellung im Auge: Wir hofften, Monomere wie **17** untersuchen zu können, um festzustellen, ob die dimere Struktur für den Mikroorganismus irgendeinen identifizierbaren biologischen Vorteil hat.

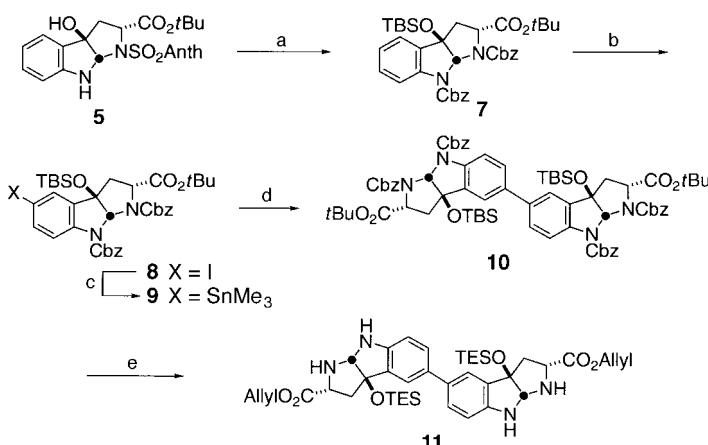
Eine der vielen strukturellen Herausforderungen von **1** ist eine 2,3,3a,8a-Tetrahydropyrrolo[2,3-*b*]indol-Einheit mit einer eliminierbaren benzylichen Hydroxygruppe an Position 3a. Beschränkt man sich nur auf das System, in dem die beiden Fünfringe *cis*-verknüpft sind, so gibt es zwei mögliche relative Anordnungen des Tryptophan-Carboxy-Äquivalents an C2 und der Ringverknüpfung. Unter der Annahme, daß Himastatin die Struktur **1** hat, konzentrierten wir uns auf die Klasse mit einer *anti*-Anordnung dieser Carboxygruppe.

Die prinzipielle Möglichkeit der oxidativen Cycloaromatierung verschiedener Tryptophanderivate (siehe Verbindung **4**) ist seit den Pionierarbeiten von Witkop et al. bekannt.<sup>[2]</sup> Für unsere Synthese erwies sich die *N*<sub>b</sub>-Anthracensulfonyl-Schutzgruppe am Tryptophan-*tert*-butylester (**3**, Schema 1)<sup>[3]</sup> als sehr vorteilhaft.<sup>[4]</sup> Die Umsetzung von **3** zu **4** erfolgte ebenso problemlos wie die von **4** zu **5**. Zur weiteren Bestätigung der Struktur wurde **5** in **6** überführt. Diese Verbindung korreliert mit einer zuvor der *anti-cis*-Reihe zugeordneten Substanz.<sup>[5]</sup>



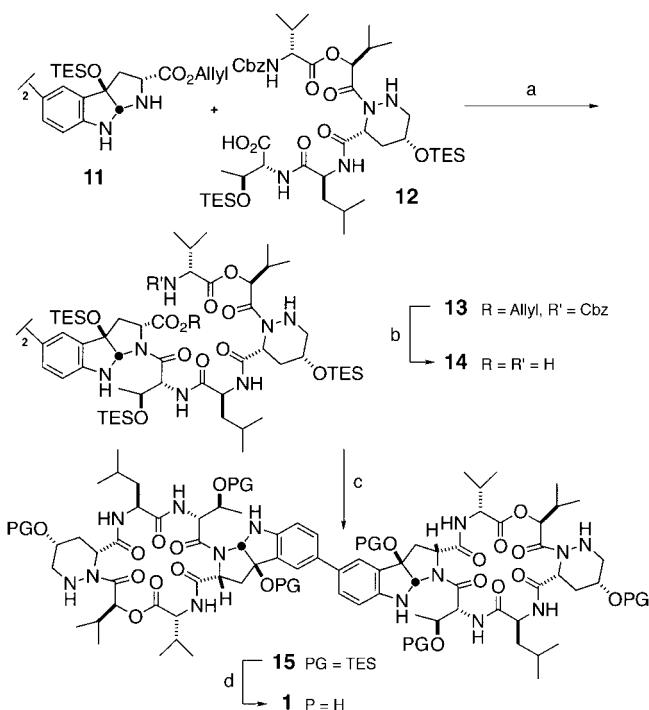
Schema 1. Synthese von **6**. a) NBS, TEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 80%; b) 1. DMDO,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-78^\circ\text{C}$ ; 2.  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{MeOH}$ , 75% (2 Stufen); c) 1. TFA; 2.  $\text{CH}_2\text{N}_2$ ; 3.  $\text{Al}(\text{Hg})$ ; 4.  $\text{ClCO}_2\text{Me}$ , Pyridin, 50% (4 Stufen). DMDO = 3,3-Dimethyl-dioxiran, NBS = *N*-Bromsuccinimid, Tr = Trityl.

Für die C-C-Verknüpfung der beiden Indolyl-Einheiten wurde die Stille-Kupplung in Betracht gezogen.<sup>[6]</sup> Dazu wurde **5** in einer dreistufigen Sequenz in **7** umgewandelt (Schema 2). Mit dem so gewählten Schutzgruppenmuster erfolgte die Iodierung mit Iodchlorid regioselektiv an C5. Aus einem Teil des Iodindols **8** wurde das Indolylstannan **9** hergestellt. Eine Palladium-vermittelte Kupplung von **8** mit **9** lieferte **10**. In umfangreichen Vorversuchen fanden wir heraus, daß das Schutzgruppenmuster der Verbindung **11**, die wie gezeigt synthetisiert wurde, die vollständige Entschützung beider Hälften des Dimers ermöglichen sollte.



Schema 2. Synthese von **11**. a) 1.  $\text{Al}(\text{Hg})$ , THF; 2.  $\text{CbzCl}$ , Pyridin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 80%; 3.  $\text{TBSCl}$ ,  $\text{DBU}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $50^\circ\text{C}$ , 90%; b)  $\text{ICl}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 2,6-Di-*t*Bu-Pyridin, 90%; c)  $\text{Sn}_2\text{Me}_6$ , THF,  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ ,  $60^\circ\text{C}$ , 85%; d)  $[\text{Pd}_3\text{dba}_2]$ ,  $\text{AsPh}_3$ , **8**,  $45^\circ\text{C}$ , DMF, 50–70%; e) 1.  $\text{TBAF}$ ; 2.  $\text{TESCl}$ ,  $\text{TEA}$ ; 3.  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{EtOAc}$ ; 4. FMOC-HOSu, Pyridin; 5.  $\text{TESOTf}$ , 2,6-Lutidin; 6. Allylalkohol, EDCI, DMAP; 7. Piperidin,  $\text{CH}_3\text{CN}$ , 30% (7 Stufen). Cbz = Benzoxycarbonyl, dba = 1,5-Diphenylpenta-1,4-dien-3-on, DBU = 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en, EDCI = 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide, FMOC = (9H-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl, HOSu = *N*-Hydroxysuccinimid, TBAF = Tetrabutylammoniumfluorid, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl, TES = Triethylsilyl, Tf = Trifluoromethansulfonyl.

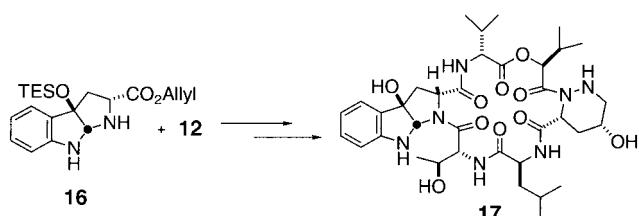
In einer weiteren Untersuchungsreihe wurde das Estertripeptid **12**<sup>[7]</sup> synthetisiert, das eine freie Carboxygruppe am terminalen  $\alpha$ -Threonin-Rest enthält (Schema 3). Die Kupplung von **11** mit **12** unter den angegebenen Bedingungen ergab nach Schützung **13**.<sup>[8]</sup> Die Abspaltung der Carboxy- und Aminoschutzgruppen führte zu **14**, an der die kritische Makrolactamisierung durchgeführt wurde. Diese Reaktion führte zu **15**, das nach Entschützen synthetisches **1** lieferte. Zu



Schema 3. Synthese von *epi*-Himastatin **1**. a) 1. HATU, HOAt, Collidin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $-10^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$ , 65%; 2. TESOTf, 2,6-Lutidin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 63%; b) 1.  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ ,  $\text{PhSiH}_3$ , THF; 2.  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/C}$ ,  $\text{EtOAc}$ , 40%; c) HOAt, HATU,  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , DMF; d) TBAF, THF, HOAc, 25% (ausgehend von **14**). HATU = *N*-(Dimethylamino)-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridin-1-ylmethylen]-*N*-methylmethanaminium-hexafluorophosphat, HOAt = 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol.

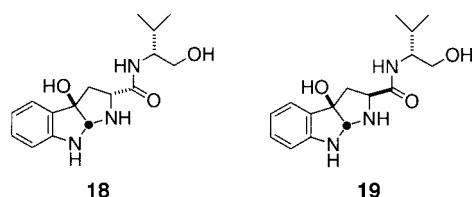
diesem Zeitpunkt wurde klar, daß das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **1**, das von uns synthetisiert worden war, nicht mit dem von natürlichem Himastatin übereinstimmte.<sup>[1c]</sup> Besonders auffällig waren im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **1** die der Valin-Isopropylgruppe entsprechenden Signale bei  $\delta = 0.55$  und 0.35, die im Spektrum von Himastatin nicht vorkommen.

Die Strategie zur Synthese des Dimers **1** wurde auch auf die Synthese des Monomers **17** angewendet (Schema 4). Dafür verwendeten wir **16**, das aus **5** leicht erhältlich ist, und das zuvor beschriebene **12**. Die Synthese erfolgte weitgehend wie



Schema 4. Synthese des *epi*-Himastatin-Monomers **17**.

für **1** beschrieben. Wieder zeigten sich im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Monomers **17** zwei Signale bei hohem Feld ( $\delta = 0.55$  und 0.35), die im Spektrum von Himastatin nicht vorkommen.<sup>[9]</sup> Daß diese Diskrepanz ihre Ursachen im Pyrroloindolin-Teil des Moleküls hat, zeigte sich, als wir **18** und **19** herstellten. Die gemessenen chemischen Verschiebungen für die Isopropylmethylgruppen des synthetischen *syn-cis*-Monomers **19** ( $\delta = 0.92$  und 0.88)<sup>[7]</sup> stimmen viel besser ( $\delta = 0.94$  und 0.89)<sup>[1c]</sup> mit



denen des Abbauproduktes von Himastatin (bisher als *anti-cis*-Verbindung **2** formuliert) überein als die des synthetischen *anti-cis*-Monomers **18** ( $\delta = 0.78, 0.62$ ).

Daher postulieren wir, daß die stereochemische Beziehung des Brückenkopfzentrums und der C2-Carboxamidogruppe in natürlich vorkommendem Himastatin *syn* statt wie bisher vorgeschlagen *anti* ist. Auf der Grundlage der bei den Bristol-Myers-Squibb-Untersuchungen ermittelten chiroptischen Daten<sup>[1c]</sup> schlagen wir außerdem eine Revision der Zuordnung des Tryptophan-Teils zur L-Tryptophan-Reihe vor. Somit verbleibt die absolute Konfiguration der funktionellen Gruppen der Pyrroloindolin-Verknüpfung unverändert. Allerdings hat sich die stereochemische Zuordnung der tricyclischen Carboxamidozentren geändert (*S,S* statt *R,R*). Die Struktur von Himastatin kann nun als **20** und die seines Valinol-Abbauprodukts als **21** angegeben werden. Wir stellen fest, daß in dem neuen Strukturvorschlag für Himastatin die Komponenten in der Depsipeptid-Domäne alternierend D- und L-konfiguriert sind.<sup>[10]</sup> Alle diese Annahmen wurden durch die Totalsynthese von Himastatin bestätigt.<sup>[11]</sup>

Eingegangen am 5. Juni 1998 [Z11949]

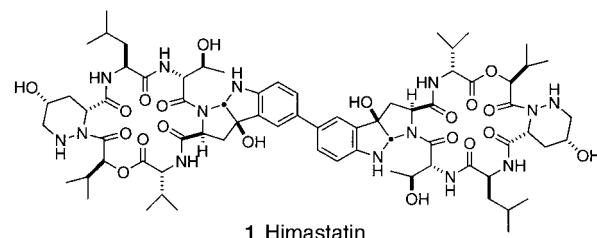
**Stichwörter:** Alkaloide • Antibiotica • Himastatin • Strukturaufklärung • Totalsynthesen

- [1] a) K. S. Lam, G. A. Hesler, J. M. Mattel, S. W. Mamber, S. Forenza, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 956; b) J. E. Leet, D. R. Schroeder, B. S. Krishnan, J. A. Matson, *J. Antibiot.* **1990**, *961*; c) J. E. Leet, D. R. Schroeder, J. Golik, J. A. Matson, T. W. Doyle, K. S. Lam, S. E. Hill, M. S. Lee, J. L. Whitney, B. S. Krishnan, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 299.
- [2] M. Ohno, T. F. Spande, B. Witkop, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 6521.
- [3] Hergestellt aus D-Tryptophan: 1) AnthSO<sub>2</sub>Cl, TEA, THF, H<sub>2</sub>O; 2) N,N'-Diisopropyl-O-*tert*-butyloxoharnstoff, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (65%).
- [4] a) Das Anthracensulfonamid wurde mit Al(Hg) bei 20 °C leicht gespalten; b) der *tert*-Butylester lieferte eine viel höhere *anti/syn*-Stereoselektivität (>15:1) als der entsprechende Methylester (3:1).
- [5] M. Nakagawa, S. Kato, S. Kataoka, S. Kodato, H. Watanabe, H. Okajima, T. Hino, B. Witkop, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 1013.
- [6] J. K. Stille, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 504; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 508.
- [7] Die Synthese von **12** ist in Lit. [11] beschrieben und verlief analog der von **20**.
- [8] J. M. Humphrey, A. R. Chamberlin, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2243.
- [9] So sind die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren von synthetischem **1** und **17** bei  $\delta < 6.0$  weitgehend identisch.
- [10] Gemäß M. R. Ghadiri, R. J. Granja, R. A. Milligan, D. E. McRee, N. Khazanovich, *Nature* **1993**, *366*, 324.
- [11] T. M. Kamenecka, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 3166–3168; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2995–2998.

## Totalsynthese von Himastatin: Bestätigung der revidierten Konfiguration\*\*

Theodore M. Kamenecka und Samuel J. Danishefsky\*  
Professor Elias J. Corey gewidmet

In der vorangegangenen Zuschrift<sup>[1]</sup> haben wir den Hintergrund des Himastatin-Problems beschrieben und die Zuordnung der stereogenen Zentren am von Tryptophan abgeleiteten C2 beider Pyrroloindolin-Einheiten revidiert (siehe gesicherte, revidierte Struktur von Himastatin **1**). Hier beschreiben wir die Totalsynthese von **1** und bestätigen damit die Strukturannahmen.



Unsere erste Aufgabe war es, einen stereospezifischen Zugang zu *syn-cis*-Pyrrolo[2,3-*b*]indolin-Einheiten zu finden.<sup>[2]</sup> Zahlreiche von L-Tryptophan abgeleitete Substrate wurden bezüglich ihrer Eignung untersucht, eine stereospezifische oxidative Cyclisierung einzugehen. Der *N<sub>b</sub>*-Trityl-L-tryptophan-*tert*-butylester **2**<sup>[3]</sup> lieferte bei der Oxidation mit 2,2-Dimethyldioxiran ausschließlich die erwünschte *syn-cis*-Verbindung **3** in 70 % Ausbeute, ohne die Bildung des *anti-cis*-Diastereomers (Schema 1). Nach Abspaltung der Trityl-Schutzgruppe unter sauren Bedingungen wurden die beiden Aminogruppen von **4** als Benzyloxycarbamat (N-Cbz) geschützt und die tertiäre Hydroxygruppe silyliert. Mit ICI wurde **5** regioselektiv an C5 iodiert. Ein Teil der Iodverbindung **6** wurde in das Arylstannan **7** umgewandelt. Hier bewährte sich nun unsere Methode der erweiterten Stille-Reaktion, um komplexe Pyrroloindolin-Einheiten zu verknüpfen, die wir in der *anti-cis*-Reihe entwickelt hatten.<sup>[1]</sup> Unter diesen Bedingungen wurden **6** und **7** zu **8** gekuppelt.

Ein stereoselektiver Zugang zur 5-Hydroxypiperazin-3-carbonsäure geht vom Pentensäurederivat **9** aus;<sup>[4–6]</sup> dessen Na-Enolat reagierte mit Azodicarbonsäuredi-*tert*-butylester stereospezifisch zu **10** (Schema 2). Die *N*-Acyl-Bindung

[\*] Prof. S. J. Danishefsky,<sup>[+]</sup> T. M. Kamenecka  
Laboratory for Bioorganic Chemistry  
Sloan-Kettering Institute for Cancer Research  
1275 York Avenue, Box 106, New York, NY 10021 (USA)  
Fax: (+1)212-772-8691  
E-mail: c-kandell@ski.mskcc.org

[+] Weitere Adresse:  
Department of Chemistry, Columbia University  
Havemeyer Hall, New York, NY 10027 (USA)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health unterstützt (Förder-Nr.: CA-28824 (SSD) und CA-08748 (SKI Core Grant)). T.M.K. dankt den NIH für ein Postdoktorandenstipendium (Förder-Nr.: AI-09355). Wir danken Bristol Myers Squibb für eine authentische Probe von Himastatin und Dr. George Sukenick sowie dem NMR Core Facility Laboratory, Sloan-Kettering Institute for Cancer Research, für die Durchführung von MS- und NMR-Analysen.