

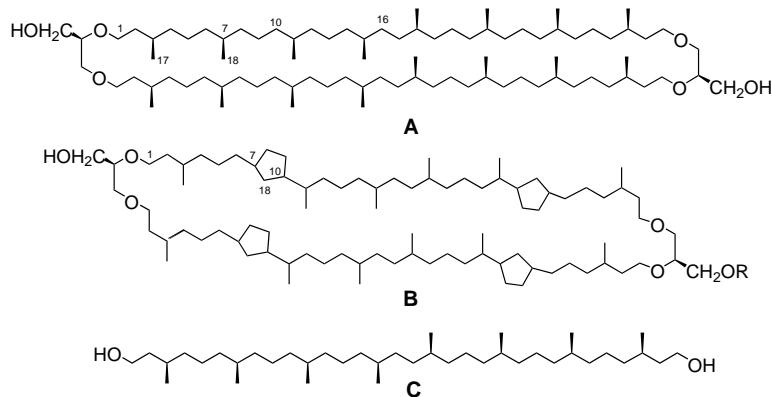
Archaea-Membranlipide

Bestimmung der Konfiguration eines Cyclopentanringe enthaltenden Archaea-Membranlipids durch Totalsynthese**

Elvira Montenegro, Bert Gabler, Gesa Paradies,
Matthias Seemann und Günter Helmchen*

Professor Kurt Mislow zum 80. Geburtstag gewidmet

Die *Archaea* sind Mikroorganismen, die sich unter extremen Lebensbedingungen vermehren können, zum Beispiel unter stark sauren Bedingungen, bei hoher Temperatur und/oder hoher Salzkonzentration.^[1] Die *Archaea* werden nach ihren Lebensräumen in drei Phänotypen eingeteilt: methanogene, halophile und thermoacidophile *Archaea*. Zu den charakteristischen Merkmalen der letzten gehören ihre Membranen. Diese enthalten Lipide, welche Mischungen von 72-gliedrigen, makrocyclischen Tetraethern sind, in denen Glycerin oder höhere Zucker mit gesättigten isoprenoïden Ketten verbunden sind.^[2] Ferner wurden Verbindungen mit bis zu acht Cyclopentanringen isoliert. Typische Tetraether sind die Verbindungen **A** und **B**.^[3] Man beachte, dass zwischen **A** und **B** insofern eine Beziehung besteht, als die Fünfringe von **B** formal durch Verknüpfung jeweils einer CH₃-Gruppe mit einer CH₂-Gruppe von **A**, zum Beispiel C18 mit C10, gebildet werden können.

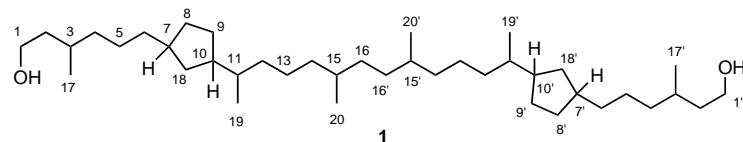


[*] Prof. Dr. G. Helmchen, Dr. E. Montenegro, Dr. B. Gabler, G. Paradies, Dr. M. Seemann
Organisch-Chemisches Institut
Universität Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 270, 69120 Heidelberg (Deutschland)
Fax: (+49) 6221-54-4205
E-mail: en4@ix.urz.uni-heidelberg.de

[**] Wir danken der Alexander-von-Humboldt-Stiftung für ein Postdoktoranden-Stipendium für E. Montenegro, T. Weiss und W. Haseloff für die Aufnahme der NMR-Spektren, K. Brödner und O. Tverskoy für experimentelle Unterstützung, Dr. C. Kühl (Bernina Biosystems) für eine Probe einer *Archaea*-Tetraetherlipid-Mischung und Dr. T. Netscher (Hoffmann-La Roche) für eine Spende von (R)-Citronellal.

In den letzten zehn Jahren haben mehrere Arbeitsgruppen über Synthesen von Tetraethern mit Bezug zu *Archaea*-Membranen berichtet.^[4] So wurde die Konfiguration des makrocyclischen Tetraethers **A** durch Totalsynthese des Diols **C** sowie Vergleich mit einer Probe von **C** bestimmt, welche durch Abbau von natürlichem **A** erhalten worden war.^[5] Vor wenigen Jahren gelang auch eine Synthese des Tetraethers **A**.^[6]

Im Gegensatz dazu sind die Konfigurationen von Verbindungen mit Cyclopentanringen weitgehend unbekannt, weshalb noch keine stereoselektive Synthese eines Lipids mit Cyclopentanringen unternommen wurde. De Rosa et al. konnten verschiedene Diole mit Cyclopentanringen, unter ihnen **1**, durch Abbau von natürlichen Etherlipiden erhalten

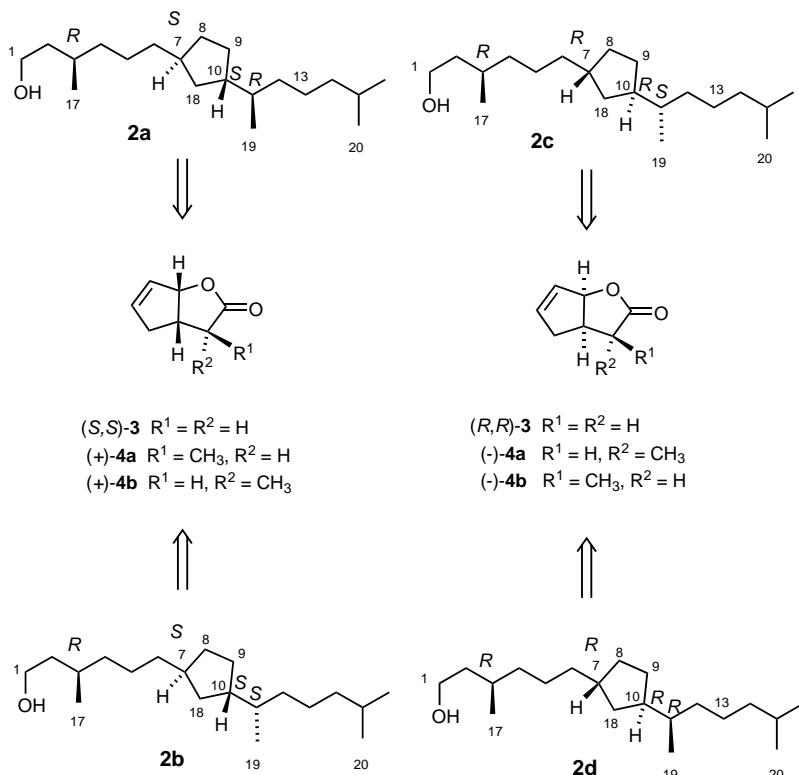


und bestimmten ihre Konstitution durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie.^[7] Wesentliche Aspekte, aus den ¹³C-NMR-Daten ermittelt, sind die C₂-Symmetrie der Struktur von **1** und die *trans*-Konfiguration der Ringe, welche durch Vergleich der ¹³C-NMR-Daten mit denen von *cis*- und *trans*-1,3-Dimethylcyclopentan abgeleitet wurde.^[8] Wir berichten nun über die Bestimmung der vollständigen relativen und der absoluten Konfiguration des Diols **1** durch dessen stereoselektive Synthese.

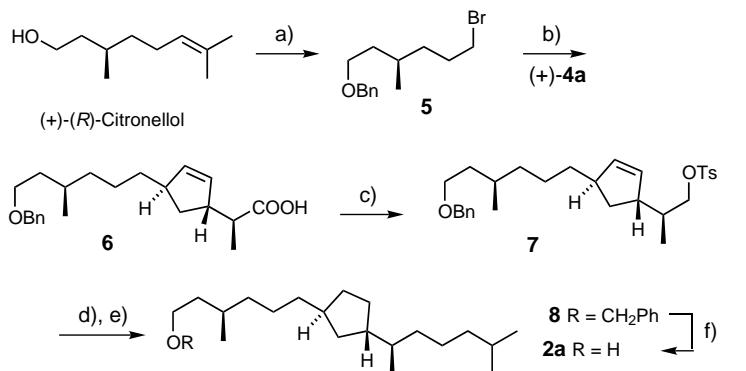
Es schien angebracht, vor Beginn der aufwändigen Synthese von **1** zunächst mögliche Konfigurationen auszuschließen, indem das aus dem natürlichen Tetraether **B** hergestellte C₄₀-Diol **1** mit C₂₀-Modellverbindungen verglichen wurde. Die C₂-Symmetrie von **1** nutzend, wurden die Diastereomere **2a-d** (Schema 1) als Modellverbindungen gewählt. Für die Konfiguration des methylierten Zentrums C3 wurde Analogie zu **C** angenommen, für den 1,3-*trans*-konfigurierten Ring und die dazu α -ständige Methylgruppe wurden jedoch alle möglichen Konfigurationen berücksichtigt.

Wir nutzten als Ausgangsverbindungen die Lactone (S,S)-**3** und (R,R)-**3**, die enantiomerenrein im 100-g-Maßstab über eine asymmetrische allylische Substitution zugänglich sind.^[9] Die Methylgruppe C(19)H₃ wurde durch Bildung des Enolats (Lithiumdiisopropylamid (LDA), THF, -78 °C) und dessen Alkylierung mit Methyliodid eingeführt, wobei eine Diastereoselektivität von **4a:4b = 6:1** erreicht wurde. Beide Lactone konnten durch Säulenchromatographie in reiner Form erhalten werden.^[10]

Die Verbindungen **2a-d** wurden über gleichartige Syntheserouten synthetisiert. Als repräsentatives Beispiel ist die Synthese des Alkohols **2a** in Schema 2 beschrieben. Das Bromid **5** wurde aus (R)-Citronellol (98% ee) hergestellt und in ein Organokupfer-Reagens überführt, welches in einer S_N2'-Reaktion mit dem Lacton (+)-**4a** gekuppelt wurde.^[11]



Schema 1. Die Modellverbindungen **2a–d** und Ausgangsverbindungen.



Schema 2. Synthese der Modellverbindung **2a**. Reagenzien und Bedingungen: a) 1. BnBr , NaH , DME , $0^\circ\text{C} \rightarrow$ Rückfluss, 4 h; 2. O_3 , NaBH_4 , $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:1), $-78^\circ\text{C} \rightarrow$ RT, ca. 12 h; 3. CBr_4 , Ph_3P , Et_2O , RT, ca. 12 h, 70% (3 Stufen); b) 1. Mg , THF , 65°C ; 2. CuBr-SMe_2 , THF/SMe_2 (5:1), -78°C ; 3. **(+)-4a**, $-78^\circ\text{C} \rightarrow$ RT, ca. 12 h, 80%; c) 1. LiAlH_4 , THF , 65°C ; 2. TsCl , Pyridin, 0°C , 77% (2 Stufen); d) 3-Methylbutylmagnesiumbromid (3 Äquiv.), 10 Mol-% Li_2CuCl_4 , THF , $-78^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$, ca. 12 h, 85%; e) TsNH_2 , DME , NaOAc , H_2O , Rückfluss, 2 h; f) $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$, H_2 , AcOEt/MeOH (1:1), 1.1 atm, RT, ca. 12 h, 88% (2 Stufen). $\text{Bn} = \text{Benzyl}$, $\text{Ts} = p\text{-Toluolsulfonyl}$, $\text{DME} = \text{Dimethoxyethan}$, RT = Raumtemperatur.

Die Reduktion der resultierenden Carbonsäure **6** mit LiAlH_4 ergab den entsprechenden Alkohol, der in das Tosylat **7** umgewandelt wurde. Kettenverlängerung durch eine Li_2CuCl_4 -katalysierte^[12] Kreuzkupplung des Tosylats **7** mit 3-Methylbutylmagnesiumbromid ergab die ungesättigte Vorstufe von **8** in hoher Ausbeute. Die Doppelbindung ließ sich mit Diimin^[13] ohne die bei Übergangsmetall-katalysierten

Hydrierungen aufgetretene Isomerisierung reduzieren. Schließlich ergab die Hydrierung des Benzylethers **8** die gewünschte Modellverbindung **2a** in einer Gesamtausbeute von 32% bezogen auf **(+)-(R)-Citronellol**.

Es wurden NMR-Spektren der Isomere **2a–d** aufgenommen und die Signale mithilfe von COSY-, HMQC-, HMBC- und DEPT-Experimenten zugeordnet. Die Daten wurden mit denen des Diols **1** verglichen, welches aus einer Tetraetherlipid-Mischung von *Archaea Sulfolobus acidocaldarius* durch Abbau erhalten worden war.^[14] In Abbildung 1 sind die Differenzen der ¹³C-NMR-Verschiebungen von Abbauprodukt und jeweiliger Modellverbindung für den Cyclopantanring und die benachbarte CH(Me)-Einheit dargestellt. Aufgrund dieser Daten können die durch **2b** und **2d** repräsentierten Konfigurationen ausschlossen werden.

Die ¹³C-NMR-Verschiebungen der Diastereomere **2a** und **2c** differieren um maximal 0.18 ppm. Daher ist eine Entscheidung zwischen den entsprechenden Konfigurationen für **1** auf der Basis dieser NMR-Daten nicht möglich. Trotzdem waren diese Verbindungen nützlich, weil sich zeigte, dass die diastereomeren Alkohole **2a–d** sämtlich signifikant unterschiedliche optische Drehwerte haben (siehe Abbildung 1). Aufgrund dieses Befunds war zu erwarten, dass der Vergleich der optischen Drehwerte von durch Abbau und durch Totalsynthese erhaltenem **1** eine eindeutige Schlussfolgerung bezüglich der Konfiguration erlauben würde. Daher wurde eine Synthese von **1** durchgeführt.^[15]

Die Synthese von **1** aus dem Tosylat **7** umfasste eine Kettenverlängerung um eine Hydroisopreneinheit und eine Dimerisierung (Schema 3). Zur Kettenverlängerung wurde das Tosylat **7** (siehe Schema 2) mit einem Grignard-Reagens, welches aus dem Bromid **9** hergestellt wurde, Kupfer-katalysiert gekuppelt. Die Abspaltung der Schutzgruppe ergab den Alkohol **10**, welcher in das korrespondierende Bromid überführt wurde. Durch Kupfer-katalysierte Dimerisierung, Reduktion der Doppelbindung und Entschützung wurde **1** in 32% Gesamtausbeute ausgehend von **7** erhalten.

Proben des synthetischen C₄₀-Diols **1** und des aus *Archaea*-Lipiden hergestellten Diols **1**

lieferten identische ¹³C-NMR-Spektren. Alle Signale wurden mithilfe von 2D-NMR-Techniken zugeordnet. Der optische Drehwert $[\alpha]_{436}^{20}$ des synthetisierten Diols **1** betrug +14.7 ($c = 1.00$, CHCl_3) und der des natürlichen +15.5 ($c = 1.00$, CHCl_3), d.h., es besteht Übereinstimmung im Rahmen der Messgenauigkeit. In Anbetracht der großen Unterschiede in den optischen Drehwerten der Modellverbindungen **2a–d**

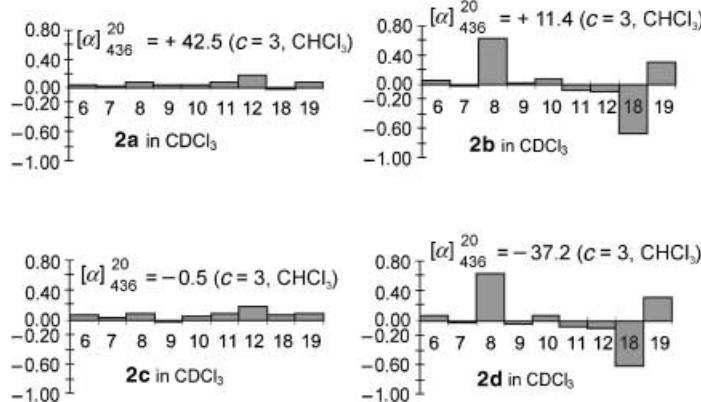
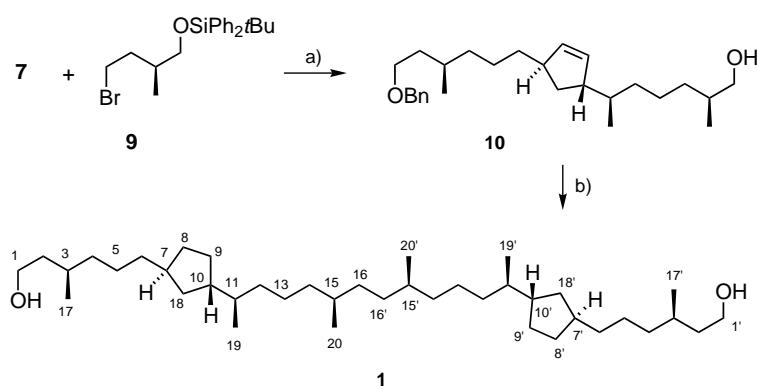


Abbildung 1. Unterschiede zwischen den ^{13}C -NMR-Verschiebungen des Diols **1**, welches durch Abbau von *Archaea*-Membranlipiden erhalten worden war, und denen der synthetischen Modellverbindungen **2a-d** (125 MHz, CDCl_3). Auf der x-Achse sind die Nummern der Kohlenstoffatome aufgetragen, auf der y-Achse $\Delta\delta$ ($\delta(2)-\delta(1)$). Zusätzlich sind die optischen Drehwerte von **2a-d** angegeben.



Schema 3. Synthese von **1**. Reagenzien und Bedingungen: a) 1. **9**, Mg, THF, 65 °C; 2. 5 Mol-% Li_2CuCl_4 , THF, -70 °C; 3. **7**, -70 °C → RT, ca. 12 h; 4. Bu_4NF , THF, 85% (2 Stufen); b) 1. CBr_4 , Ph_3P , Et_2O , RT, ca. 12 h; 2. 0.5 Äquiv. Mg, THF, 65 °C, 5 Mol-% Li_2CuCl_4 , THF, 65 °C; 3. PtO_2 , EtOAc , 2 h; 4. $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$, H_2 , 4 bar, 38% (4 Stufen).

scheint die vorgeschlagene Konfiguration von **1** sehr gut gesichert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch die hier vorgestellten Arbeiten erstmals die relative und absolute Konfiguration eines *Archaea* Membranlipids mit Cyclopentanringen bestimmt wurde. Dies gelang durch die Synthese der vier Modellverbindungen **2a-d** und des Diols **1** sowie durch Vergleich ihrer NMR-Daten und ihrer optischen Drehwerte mit denen des Diols **1**, das aus natürlichen *Archaea*-Membranlipiden hergestellt worden war.

Ein eingegangen am 25. November 2002 [Z50629]

- [1] a) C. R. Woese, O. Kandler, M. L. Wheelis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, 87, 4576–4759; b) G. Darland, T. D. Brock, W. Samsonoff, S. F. Conti, *Science* **1970**, 170, 1416–1418; c) K. O. Stetter, *Naturwissenschaften* **1985**, 72, 291–301; d) T. D. Brock, *Science* **1985**, 230, 132–138.
- [2] a) S. Thurl, Dissertation, Technische Universität München, **1986**; b) Y. Blériot, E. Untersteller, B. Fritz, P. Sinaÿ, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 240–246; c) A. J. Fairbanks, P. Sinaÿ, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 893–896; d) M. De Rosa, A. Gambacorta, A. Gliozzi, *Microbiol. Rev.* **1986**, 70–80.
- [3] „Archaeal Lipids“: M. De Rosa, A. Gambacorta in *Chemical Methods in Bacterial Systematics* (Hrsg.: M. Goodfellow, A. G. O'Donell), Wiley, Chichester, **1994**, S. 197–264.
- [4] a) T. Eguchi, K. Arakawa, T. Terachi, K. Kakinuma, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 1924–1933; b) T. Eguchi, T. Terachi, K. Kakinuma, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 7–8.
- [5] a) C. H. Heathcock, B. L. Finkelstein, E. T. Jarvi, P. A. Radel, C. R. Hadley, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 1922–1942.
- [6] T. Eguchi, K. Ibaragi, K. Kakinuma, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2689–2698.
- [7] a) M. De Rosa, S. De Rosa, A. Gambacorta, L. Minale, J. D. Bu'Lock, *Phytochemistry* **1977**, 16, 1661–1665; b) M. De Rosa, S. De Rosa, *Phytochemistry* **1977**, 16, 1909–1912.
- [8] a) L. L. Yang, A. Haug, *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, 573, 308–320; b) H. Hanselaer, P. De Clercq, *Org. Magn. Reson.* **1980**, 13, 376–379; c) M. Christl, H. J. Reich, J. D. Roberts, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 3463–3468.
- [9] a) G. Knühl, P. Sennhenn, G. Helmchen, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1845–1846; b) S. Kudis, G. Helmchen, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 3210–3212; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 3047–3050; c) S. Kudis, G. Helmchen, *Tetrahedron* **1998**, 54, 10449–10456.
- [10] a) V. K. Aggarwal, N. Monteiro, G. J. Tarver, R. McCague, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 4665–4671.
- [11] a) D. Curran, M.-H. Chen, D. Leszczweski, R. L. Elliott, D. M. Rakiewicz, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1612–1614; b) H. L. Goering, S. S. Kantner, *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 422–426.
- [12] a) M. Tamura, J. Kochi, *Synthesis* **1971**, 303–305; b) G. Fouquet, M. Schlosser, *Angew. Chem.* **1974**, 86, 50–51; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, 13, 82–83.
- [13] A. G. Schultz, T. J. Guzi, E. Larsson, R. Rahm, K. Thakkar, J. Bidlack, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7795–7805.
- [14] Die Mischung der Tetraetherlipide wurde von Bernina Biosystems, München, erhalten. Der Abbau wurde nach einer von Arigoni et al. (O. W. Gräther, Dissertation, ETH Zürich, **1994**) entwickelten Methode durchgeführt: Reaktion mit HI und Überführung der erhaltenen Iodide mit Silberacetat in Acetate, welche verseift werden.
- [15] B. Gabler, Dissertation, Universität Heidelberg, **1997**.

Stichwörter: *Archaea*-Membranlipide · Asymmetrische Synthesen · Konfigurationsbestimmung · Kreuzkupplungen · Naturstoffe