

# Die Totalsynthese von vermeintlichem Diazonamid A

**Eine ungewöhnliche Molekülarchitektur und hohe Cytotoxizität gegenüber verschiedenen Krebszelllinien waren die Motivation für die Totalsynthese des marinen Naturstoffs Diazonamid A, die mit einer Überraschung endete.**

1991 berichteten Fenical, Clardy und Mitarbeiter von der Isolierung und Strukturaufklärung der Sekundärmetaboliten Diazonamid A und B der Seescheide *Diazona chinensis* (heute *Diazona angulata*).<sup>1)</sup> Anhand von NMR-Untersuchungen und der Kristallstruktur eines Diazonamid-B-Derivats ordneten sie den marinen Naturstoffen die in Abbildung 1 gezeigten Strukturen (1) und (2) zu. Diazonamid A erwies sich als äußerst wirksam gegenüber der menschlichen Darmkrebs-Zelllinie HCT-116 und der Melanom-Zelllinie B-16 von

Mäusen, deren Wachstum es bei Konzentrationen von weniger als 20 nmol·L<sup>-1</sup> zu 50 % inhibierte. Diazonamid B war weniger aktiv. Der biologische Wirkmechanismus beider Substanzen ist weitgehend unbekannt, und weitere Untersuchungen scheiterten in Ermangelung ausreichender Mengen des Naturisolats. Die Verbindungen (1) und (2) sind gekennzeichnet durch einen gespannten, die Ringe A – F umfassenden, heteroaromatischen Kern aus zwei Oxazolresten, einem Indol- und einem Dihydrobenzofuranrest sowie

ein die Aminosäuren Tyrosin und Valin enthaltendes Cyclopeptid (AG-Makrocyclus). Im Zentrum der beiden makrocyclischen Untereinheiten befindet sich ein asymmetrisch substituiertes quartäres C-Atom (C10). Dessen Chiralitätssinn fixiert den ABCDEF-Makrocyclus als einzelnes Atropisomer bezüglich der C16- C18-Achse.

In den auf die Isolierung folgenden zehn Jahren widmeten sich viele Laboratorien der synthetischen Herausforderung dieser außergewöhnlichen Molekülarchitektur und erlang-

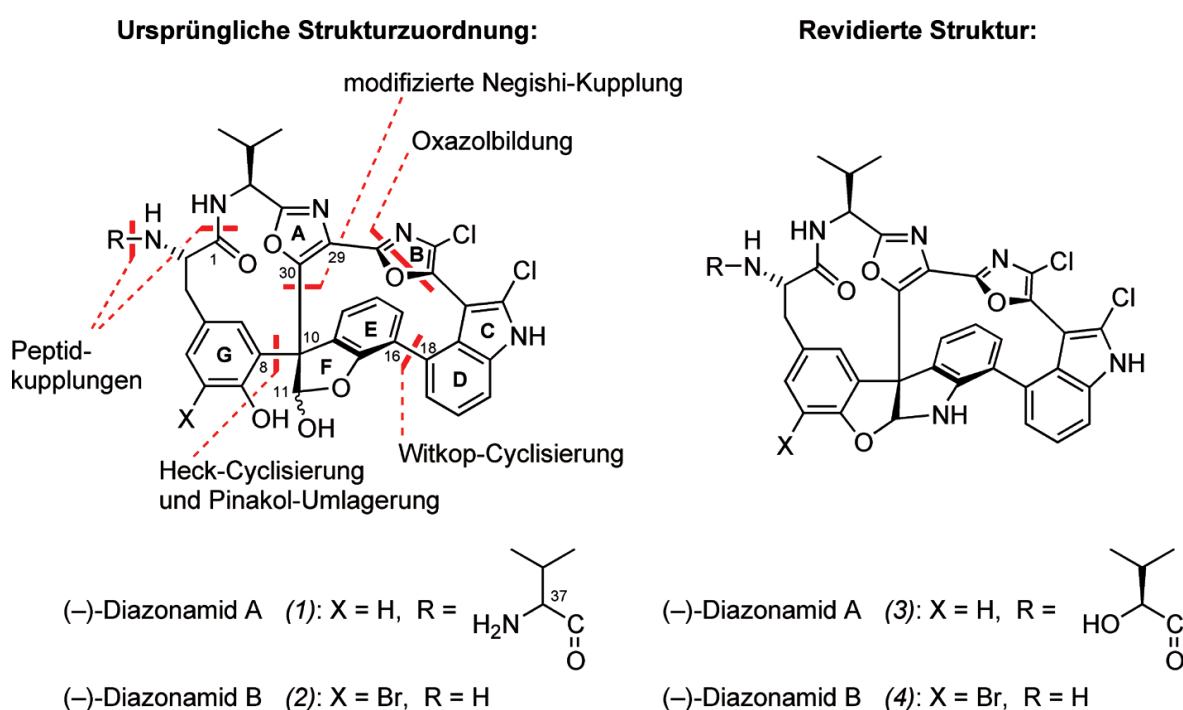


Abb. 1. Ursprüngliche Strukturzuordnung<sup>1)</sup> mit retrosynthetischer Analyse nach Harran<sup>12)</sup> und revidierte Struktur<sup>27)</sup> von Diazonamid A und B.

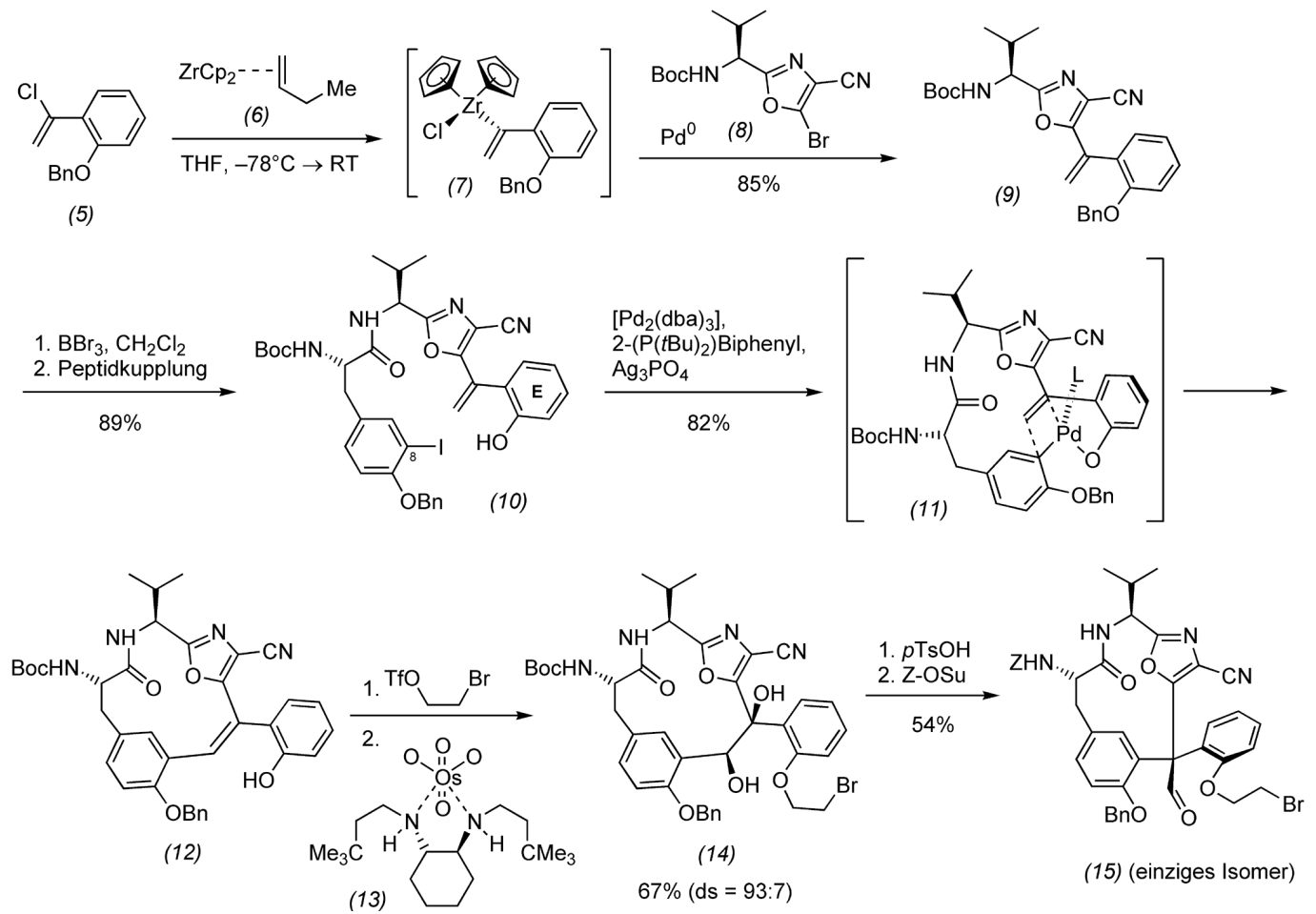


Abb. 2. Erster Teil der Totalsynthese von Diazonamid A nach Harran.<sup>11</sup> (Bn = Benzyl, Boc = tert-Butyloxycarbonyl, dba = trans,trans-Dibenzylidenacetone, L = 2-(Di-tert-butylphosphanyl)biphenyl, Su = N-Succinimidyl, Tf = Trifluormethansulfonyl, Z = Benzyloxycarbonyl)

ten wichtige Teilergebnisse.<sup>2-10</sup> Harran und Mitarbeiter waren es schließlich, die Ende des vergangenen Jahres mit der Synthese von (1) die Ziellinie als erste überschritten.<sup>11</sup> Zu ihrer großen Überraschung stellten sie jedoch fest, dass die von ihnen synthetisierte Substanz nicht identisch mit einer authentischen Probe des Naturstoffes war.

**Retrosynthetische Strategien**

Entsprechend den zwei Makrocyclen basiert die Mehrzahl der synthetischen Ansätze zur Diazonamid-Darstellung auf zwei unterschiedlichen retrosynthetischen Analysen. So lässt sich zunächst der AG-Makrocyclus

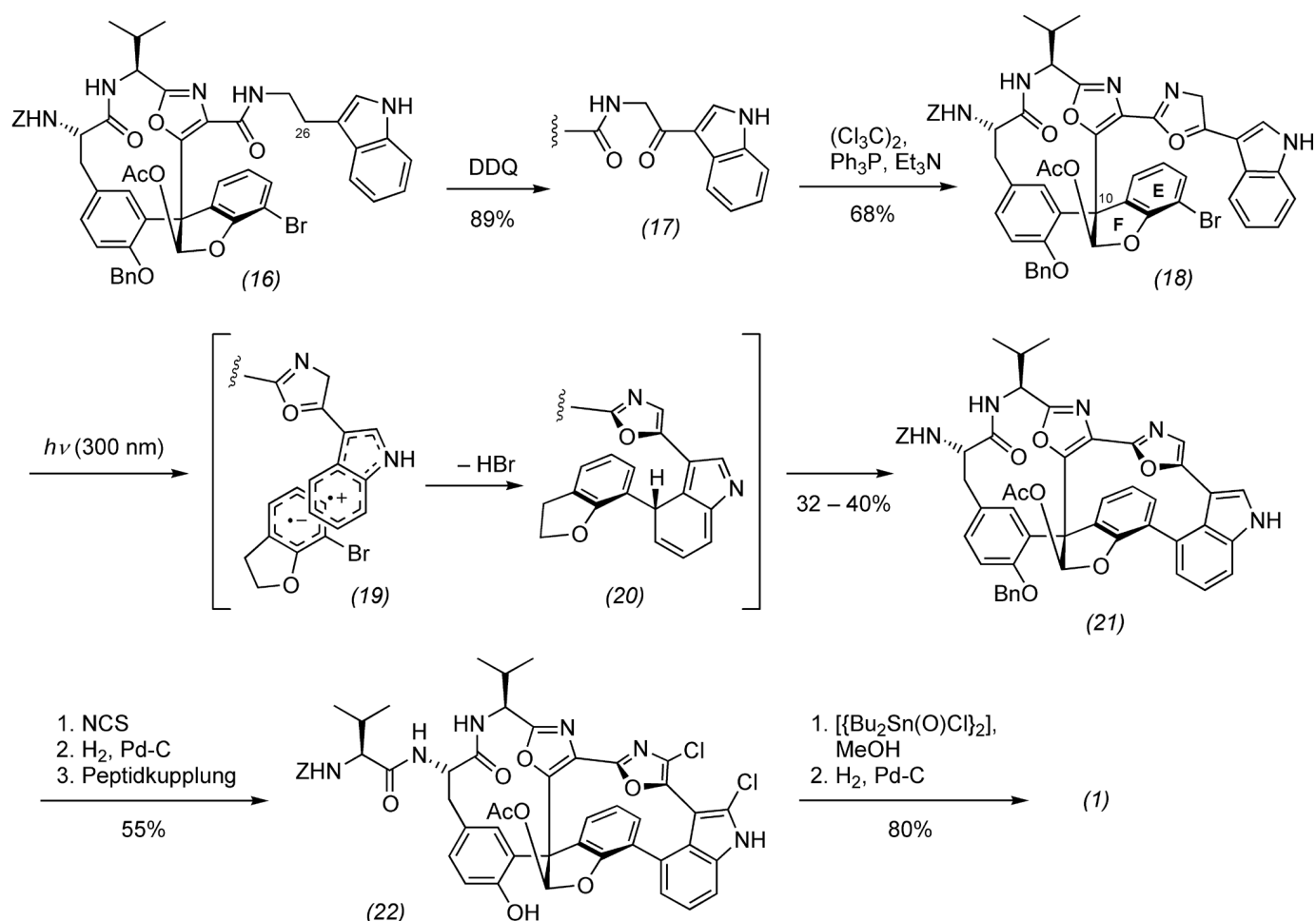
an der C1-Amidbindung und am A-Ring-Oxazol zerschneiden, gefolgt von der Zerlegung des ABCDEF-Makrocyclus. In Syntheserichtung wurde dies durch frühes Einführen der C16-C18-Biarylbindung durch eine Suzuki-Kupplung und anschließende Makrocyclisierung unter Ausbildung der C29-C30-Bindung realisiert.<sup>5,7,8</sup> Harran et al. verfolgten eine alternative Strategie, indem sie den ersten retrosynthetischen Schnitt an die C16-C18-Bindung setzten (Abbildung 1), was sich retrospektiv als nicht ganz unproblematisch erwies.<sup>6</sup> Letztendlich gelang die Bindungsknüpfung aber durch eine photochemische Witkop-Cyclisierung. Die CD-Indoleinheit stammte aus einem Tryptaminderivat, das zur Bildung des B-Ring-Oxazols herangezogen wurde. Der Ringschluss des peptidischen AG-Makrocyclus erfolgte durch eine Heck-Reaktion unter Verknüpfung von C8 und C11. Eine Sequenz aus diastereoselektiver Dihydroxylierung und ringverengender

Pinakol-Umlagerung (der einzigen stereochemischen Manipulation!) sorgte für die notwendige strukturelle Umorganisation. Weitere Schnittstellen waren die in Abbildung 1 angedeuteten Peptidbindungen sowie die C10-C30-Bindung.

Unabhängig davon, welcher Makrocyclus zuerst gebildet wird, kommt dem stereokontrollierten Aufbau des quartären C10-Atoms<sup>4,11,12</sup> eine große strategische Bedeutung zu, entscheidet es doch über die Ausbildung eines einzelnen Atropisomers bezüglich der C16-C18-Achse.

### Die Totalsynthese von Harran

Abbildung 2 zeigt den ersten Teil der Totalsynthese von (1), der dem Aufbau des peptidischen Makrocyclus gewidmet ist. Oxidative Addition des  $\alpha$ -Chlorstyrols (5) an das Zirconocen-Äquivalent (6) (erzeugt aus Zirconocendichlorid und *n*-Butyllithium)<sup>13</sup> lieferte Alkenylzirconocen (7), das Palladium(0)-katalysiert



mit Bromid (8) zum Kreuzkuppelungsprodukt (9) umgesetzt wurde. Bemerkenswerter Weise konnte bei dieser Variante von Takahashis Modifikation<sup>14)</sup> einer Negishi-Kupplung auf den Zusatz von Zinkchlorid verzichtet werden. Bortribromid-Behandlung von (9) und Kupplung des intermediären Aminophenols mit einem Boc-geschützten Iodtyrosin führten zum modifizierten Dipeptid (10). Die nachfolgende Heck-Endocyclisierung zum Cycloalken (12) war das Ergebnis ausgiebiger Optimierungsarbeit.<sup>3)</sup> Hohe Ausbeuten beim Ringschluss konnten nur erreicht werden, wenn die phenolische OH-Gruppe des späteren E-Rings ungeschützt vorlag. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit der Ausbildung des cyclischen Palladium(II)-phenoxids (11) durch Reaktion des E-Ring-Phenols mit einer C8-Palladium(II)-iodid-Spezies, wodurch es zu einer für die folgende Carbopalladierung notwendigen Präorganisation kommt.

Nach Anbringen einer Bromethylschutzgruppe am Phenol wurde das Cycloalken mit Hilfe stöchiometrischer Mengen des chiralen Osmiumtetroxid-Cyclohexandiamin-Komplexes (13) oxidiert. Trotz des Vorliegens eines Mismatch-Paares (Oxidation mit Osmiumtetroxid/Steglich-Base führt zu einem Überschuss von ca. 6:1 zugunsten des  $\alpha$ -syn-Glycols) wurde das gewünschte  $\beta$ -syn-Glycol (14) mit einer guten Diastereoselektivität von 93:7 gegenüber dem nicht

gezeigten  $\alpha$ -Isomer erhalten. Die anschließende ringverengende Pinakol-Umlagerung verlief erwartungsgemäß unter Inversion der Konfiguration am quartären Kohlenstoff und lieferte nach Carbamoylierung des C2-Amins Aldehyd (15) als einzelnes Diastereomer. Damit war die Grundlage für den stereokontrollierten Aufbau des ABCDEF-Makrocyclus geschaffen.

Acyltryptamin (16), das in acht Schritten aus (15) erhalten werden

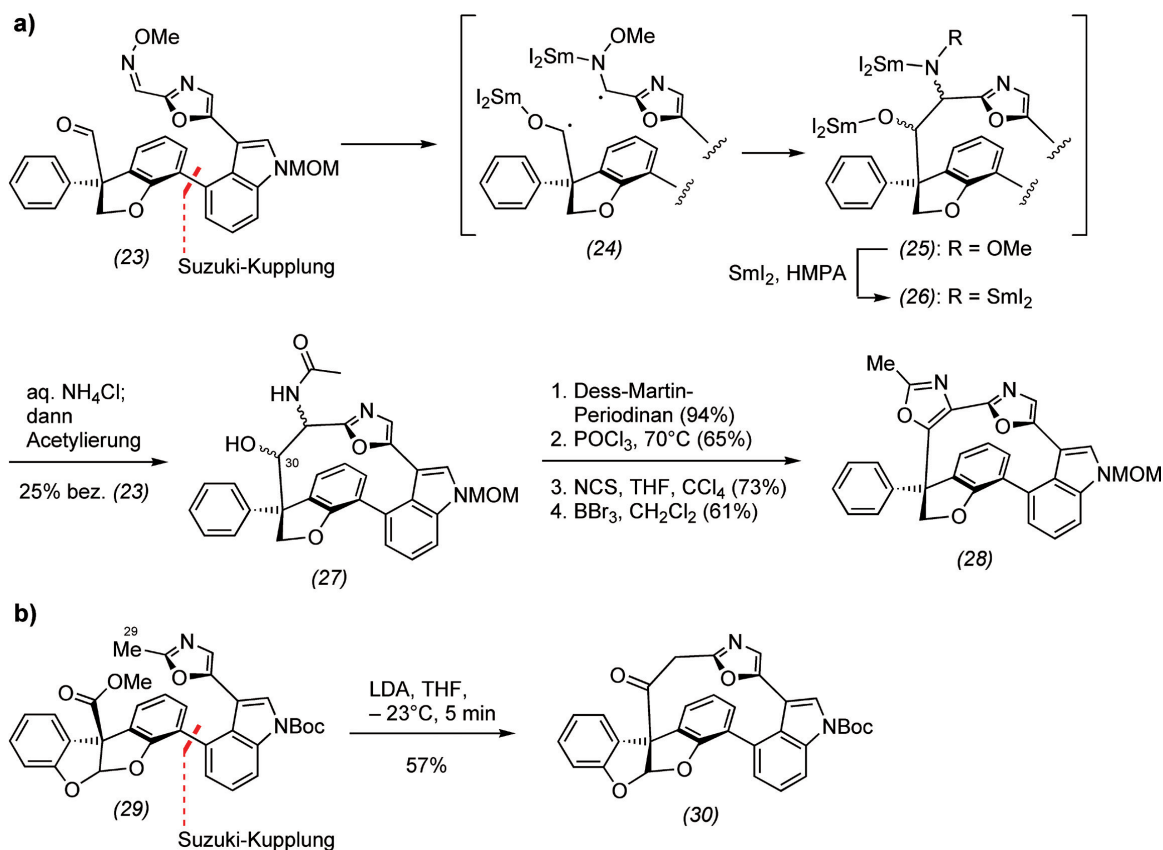
Abb. 3.  
Zweiter Teil der  
Totalsynthese von  
Diazonamid A nach  
Harra.<sup>11)</sup> (DDQ =  
2,3-Dichlor-5,6-  
dicyano-1,4-benzo-  
chinon, NCS =  
N-Chlorsuccinimid)

Abb. 4.

**Aufbau des aromatischen Makrocyclus: a) Hetero-Pinacol-Cyclisierung nach Nicolaou.<sup>7)</sup>**

**Sml<sub>2</sub>/HMPA-Zugabe führt zur Bildung des Diradikals (24), das zu (25) cyclisiert. Sml<sub>2</sub>/HMPA im Überschuss bewirkt N-O-Spaltung unter Bildung von (26). Nach Aufarbeitung wurde der entstandene Aminoalkohol als Acetamid abgefangen.**

**b) Imino-Dieckmann-Kondensation nach Vedejs.<sup>8)</sup> In beiden Fällen wurde mit racemischen Verbindungen gearbeitet. (HMPA = Hexamethylphosphorsäuretriimid, LDA = Lithiumdiisopropylamid, MOM = Methoxymethyl)**



konnte, diente als Ausgangspunkt für die Bildung des B-Ring-Oxazols (Abbildung 3). Hierzu wurde die Indol-Benzylposition 26 mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) zum Ketoamid (17) oxidiert und nachfolgend durch Wipfs Variante<sup>15)</sup> einer Gabriel-Robinson-Cyclodehydratisierung in den Heterocyclus (18) überführt. Der Ringschluss zum ABCDEF-Makrocyclus gelang durch Bestrahlung einer gemäß dem Zieglerischen Verdünnungsprinzip angesetzten Lösung von (18) geringer Konzentration bei 300 nm. Die Konfiguration von C10 als Bestandteil des EF-Bicyclus lenkte dabei die Bildung von (21) als einzelnes Atropisomer. Mechanistisch wurde diese Transformation als eine Cyclisierung vom Witkop-Typ<sup>16)</sup> interpretiert. Intramolekularer photoinduzierter Elektronentransfer vom Indolsystem auf den benachbarten Bromaromaten führte zum Radikalionenpaar (19), das nach HBr-Abspaltung zu (20) kollabierte. Tautomerisierung lieferte (21) in Ausbeuten von 32 bis 40% – ein akzeptabler Wert angesichts der Tatsache, dass eine Reihe weiterer

Cyclisierungsversuche<sup>6)</sup> mit diversen Analoga von (18) scheiterte. Zur Vervollständigung der Synthese wurde (21) mit N-Chlorsuccinimid chloriert und nach Abspaltung der Benzoyloxycarbonyl(Z)-Schutzgruppe mit Z-geschütztem Valin acyliert. Deblockierung von (22) lieferte schließlich die für Diazonamid A vorgeschlagene Struktur (1) in einer Gesamtzahl von 26 Reaktionsschritten.

#### Alternative synthetische Ansätze Aufbau des heteroaromatischen Kerns

Berichte vom Aufbau des ABCDEF-Makrocyclus von (1) durch eine C29–C30-Bindungsknüpfung stammen aus den Gruppen von Nicolaou<sup>5,7)</sup> und Vedejs.<sup>8)</sup> Nachdem Studien mit einer Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion nur moderate Ausbeuten an Makrocyclus ergaben,<sup>5)</sup> publizierten Nicolaou und Mitarbeiter 2001 die Konstruktion des kompletten racemischen ABCDEF-Gerüsts von (1) unter Einsatz einer Hetero-Pinacol-Makrocyclisierung als Schlüsselschritt (Abbildung 4a).<sup>7)</sup>

Das hierfür benötigte Biarylsystem (23) wurde im Vorfeld durch eine Suzuki-Kupplung etabliert. Behandlung von (23) mit Samariumiodid/Hexamethylphosphorsäuretriimid (HMPA) führte via (24), (25) und (26) nach anschließender Acetylierung in 25% Ausbeute zum Makrocyclus (27), der nun bereits die Heterosubstituenten an C29 und C30 trug. Dess-Martin-Oxidation von C30, Cyclodehydratisierung, Chlorierung und Deblockierung komplettierten den Aufbau des gespannten Modellsystems (28).

In höherer Ausbeute gelang interessanterweise die Makrocyclisierung von racemischem (29) durch Anwendung einer Imino-Dieckmann-Kondensation, wie Vedejs et al. im vergangenen Jahr zeigen konnten (Abbildung 4b).<sup>8)</sup> Das Oxazol fungiert hierbei als Esteräquivalent, das die „Enolisierung“ der C29-Methylgruppe ermöglicht. Nach NMR-Untersuchungen liegt (29) als Gemisch zweier Atropisomeren bezüglich der C16–C18-Bindung vor, die sich in langsamem Austausch befinden (Halbwertszeit bei –23°C ca. 5 s). Behandlung von (29) mit Lithiumdi-

sopropylamid (LDA) führte zum Ringschluss eines dieser Atropisomere und lieferte (30) in einer Ausbeute von 57%.

Einer gänzlich anderen Strategie folgten Magnus et al., die eine Vorstufe des kompletten Gerüsts von (1) mit fehlender C10-C30-Bindung durch eine Photo-Fries-Umlagerung als Schlüsselschritt darstellten.<sup>9)</sup>

### Das Bisoxazolsystem

Bei einer Totalsynthese von Diazonamid müssen zwei Oxazol-Ringe aufgebaut werden. Insbesondere beim B-Ring wurde hierfür aufgrund der leichten Oxidierbarkeit der Indol-Benzylposition häufig auf die bereits erwähnte Cyclodehydratisierungsvariante von Wipf<sup>15)</sup> zurückgegriffen (vgl. (16)→(18) in Abbildung 3). Kürzlich konnte in der Ar-

beitsgruppe von Wipf gezeigt werden, wie mit dieser Reaktion in Verbindung mit einer Imid-Chan-Umlagerung Polyoxazole effizient zugänglich werden.<sup>10)</sup> Abbildung 5 illustriert dies am Aufbau des Indolylbisoxazols (36). Aminomethyloxazol (31) wurde zunächst durch Hydrogenolyse, Acylierung und Einführen der *tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)-Schutzgruppe in Imid (32) überführt. Deprotonierung der Methylengruppe zu (33) löste die (N→C)-Acylwanderung aus, die (34) in 78% Ausbeute lieferte. Abspaltung der Boc-Gruppe und Peptidkupplung mit Z-geschütztem Valin führte zum  $\beta$ -Ketoamid (35), das durch säurekatalysierte Cyclodehydratisierung zum gewünschten Diazonamidfragment (36) umgesetzt wurde.

### Die revidierte Struktur von Diazonamid A

Nach Abschluss ihrer Totalsynthese mussten Harran et al. feststellen, dass sich die von ihnen synthetisierte Substanz (1) sowohl in spektroskopischer und chromatographischer Hinsicht als auch bezüglich ihrer Stabilität von einer Probe des Naturstoffs unterschied.<sup>11)</sup> So zersetzte sich das Syntheseprodukt unter den Bedingungen, die von Fenical et al. zur Aufreinigung des Naturstoffs angewandt wurden, rasch unter formaler Deformylierung an C10 sowie Diketopiperazinbildung unter Beteiligung der C37-Aminogruppe und der C1-Amidcarbonylgruppe. Nachdem sichergestellt war, dass das Syntheseprodukt tatsächlich Formel (1) entsprach, reexamierten Harran et al. die von Fenical und Clardy publizier-

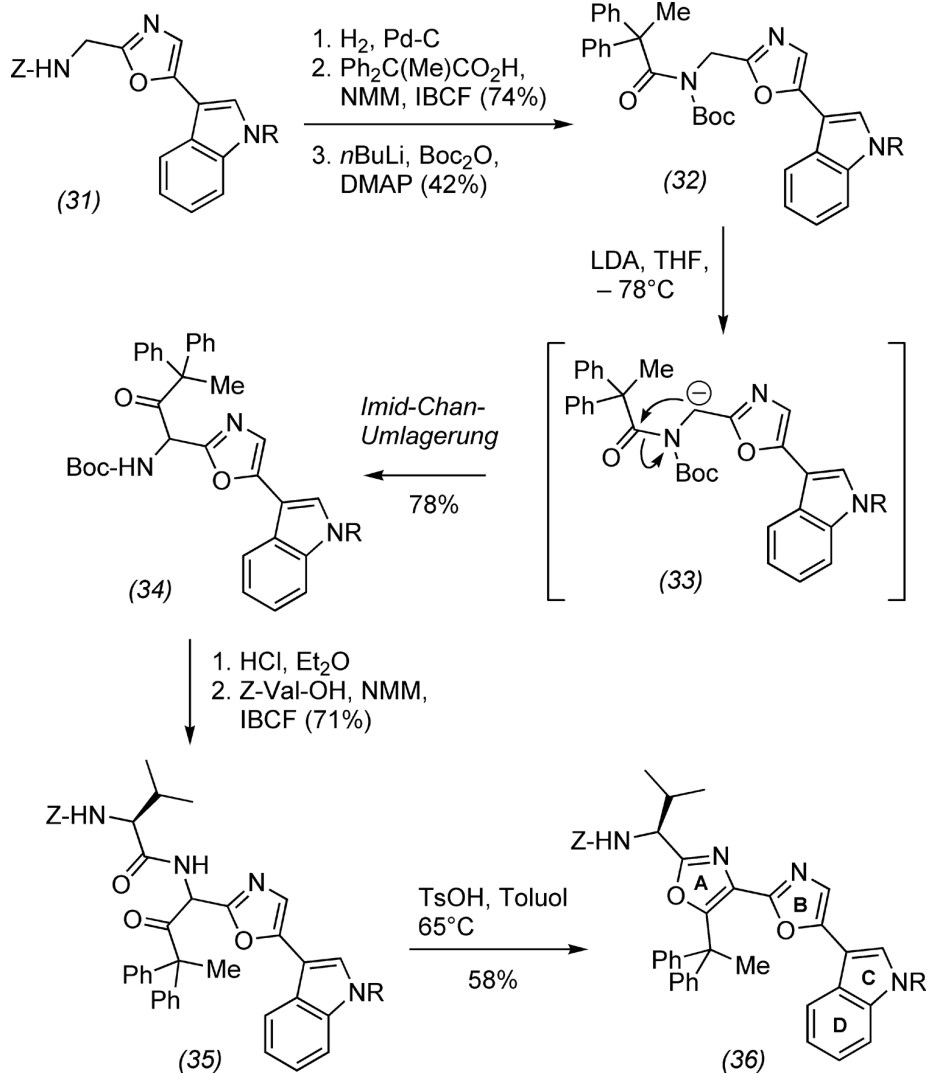


Abb. 5. **Bisoxazolsynthese unter Einsatz einer Imid-Chan-Umlagerung nach Wipf.**<sup>10)</sup> (DMAP = 4-(Dimethylamino)pyridin, IBCF = Chlorameisensäureisobutylester, NMM = N-Methylmorpholin)

ten Originaldaten der Kristallstrukturanalyse sowie der NMR-Untersuchungen, wobei sie einige essenzielle Fehlzuordnungen aufdeckten.<sup>17)</sup> So wurde zum Beispiel eine NH-Gruppe im F-Ring fälschlicherweise für einen Sauerstoff gehalten. Erstaunlich ist auch, dass der in der Originalpublikation<sup>1)</sup> gemachte Rechenfehler bei der Auswertung des Massenspektrums von Diazonamid B (ein H-Atom wurde zu wenig berechnet) bislang niemandem aufgefallen ist. Am Ende ihrer Detektivarbeit, in deren Verlauf auch ein  $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -HSQC-NMR-Experimente eine wichtige Rolle spielte, konnten Harran et al. die in Abbildung 1 gezeigten revidierten Strukturen (3) und (4) für Diazonamid A bzw. B plausibel machen, wobei die Zuordnung der Kon-

figuration der am C2-Stickstoff gebundenen Hydroxyisovaleriansäure aus Cytotoxizitätstests mit verschiedenen Derivaten von (1) geschlossen wurde. Die gleichen Tests ergaben aber auch, dass die NH-Gruppe im F-Ring für die biologische Aktivität nicht notwendig ist. So hat die Veröffentlichung einer fehlerhaften Formel zu einer neuen Leitstruktur für potenzielle Antitumorwirkstoffe geführt. Die Publikation der revidierten Strukturen der Diazonamide A und B dürfte einige Unruhe in den mit der Totalsynthese dieser marinen Naturstoffe befassten Labors ausgelöst haben. Der Wettlauf um Diazonamid geht weiter.

- 1) N. Lindquist, W. Fenical, G. D. Van Duyne, J. Clardy, J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 2303.
- 2) C. J. Moody, K. J. Doyle, M. C. Elliott, T. J. Mowlem, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1997, 2413; A. Boto, M. Ling, G. Meek, G. Pattenden, Tetrahedron Lett. 1998, 39, 8167; H. C. Hang, E. Drotleff, G. I. Elliott, T. A. Ritsema, J. P. Konopelski, Synthesis 1999, 398; M. C. Bagley, S. L. Hind, C. J. Moody, Tetrahedron Lett. 2000, 41, 6897; D. Schley, A. Radspieler, G. Christoph, J. Liebscher, Eur. J. Org. Chem. 2002, 369.
- 3) S. Jeong, X. Chen, P. G. Harran, J. Org. Chem. 1998, 63, 8640; X. Chen, L. Esser, P. G. Harran, Angew. Chem. 2000, 112, 967.
- 4) D. E. Fuerst, B. M. Stoltz, J. L. Wood, Org. Lett. 2000, 2, 3521.
- 5) K. C. Nicolaou, S. A. Snyder, K. B. Simonsen, A. E. Koumbis, Angew. Chem. 2000, 112, 3615.
- 6) J. Li, X. Chen, A. W. G. Burgett, P. G. Harran, Angew. Chem. 2001, 113, 2754.
- 7) K. C. Nicolaou, X. Huang, N. Giuseppone, P. B. Rao, M. Bella, M. V. Reddy, S. A. Snyder, Angew. Chem. 2001, 113, 4841.
- 8) E. Vedejs, M. A. Zajac, Org. Lett. 2001, 3, 2451.
- 9) P. Magnus, C. Lescop, Tetrahedron Lett. 2001, 42, 7193.
- 10) P. Wipf, J.-L. Methot, Org. Lett. 2001, 3, 1261.
- 11) J. Li, S. Jeong, L. Esser, P. G. Harran, Angew. Chem. 2001, 113, 4901.
- 12) E. Vedejs, J. Wang, Org. Lett. 2000, 2, 1031.
- 13) E.-i. Negishi, F. E. Cederbaum, T. Takahashi, Tetrahedron Lett. 1986, 27, 2829.
- 14) T. Takahashi, M. Kotora, R. Fischer, Y. Nishihara, K. Nakajima, J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 11039.
- 15) P. Wipf, F. Yokokawa, Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2223.
- 16) O. Yonemitsu, P. Cerutti, B. Witkop, J. Am. Chem. Soc. 1966, 88, 3941.
- 17) J. Li, A. W. G. Burgett, L. Esser, C. Amezcua, P. G. Harran, Angew. Chem., Int. Ed. 2001, 40, 4770.
- 18) J. Li, A. W. G. Burgett, L. Esser, C. Amezcua, P. G. Harran, Angew. Chem., 2001, 113, 4906.

## ● Blickpunkt Synthese

will zur Beschäftigung mit neuen synthetischen Verfahren oder eleganten und wichtigen Synthesen aus der Literatur anregen. Die Rubrik erscheint von Februar bis Dezember alle zwei Monate und wird dieses Jahr von Dr. Valentin Wittmann, Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt, betreut.