

Naturstoffe 2001

◆ Naturstoffe haben eine fundamentale Bedeutung für die Wirkstoffentwicklung. Etwa 40% der zwischen 1983 und 1994 zugelassenen neuen Medikamente stammen von Naturstoffen ab. Im Bereich der Antiinfektiva und Antitumormittel ist der Anteil noch größer. Newman und Mitarbeiter analysierten kürzlich die medizinische Bedeutung von Naturstoffen von der Antike bis 1999.¹⁾ Glanzpunkte der Erforschung von Naturstoffen aus Meeresorganismen in den vergangenen 30 Jahren wurden von Faulkner zusammengestellt.²⁾ Isolierung, Strukturaufklärung, Bio- und Totalsynthese beschreiben ein blühendes Forschungsgebiet. Anfang 2000 publizierten Nicolaou und Mitarbeiter eine Übersicht über viele bisherige Meilensteine der Naturstoffsynthese.³⁾

Manchmal muss es kompliziert sein

◆ Es ist zu begrüßen, dass einige Industrieunternehmen weiterhin den Mut zur Naturstoffforschung aufbringen. Zwei Beispiele (Abbildung 1): Beim Screening gegen Moskitolarven fanden Singh und Mitarbeiter (Merck Research Laboratories) den Naturstoff Redioid A (1), ein Daphnan-Diterpenoid (im Formelbild rot gekennzeichnet) mit einer ungewöhnlichen Polyketid-Verlängerung an C16.⁴⁾ (1) ist das strukturell ansprechendste neue Insektizid der letzten beiden Jahre. Es wurde in der Ausbeute von 0,75% des Rohextrakts aus dem thailändischen Wolfsmilchgewächs *Trigonostemon reidioides* isoliert und tötet bei einer Konzentration von 0,25 M noch 90% aller Fliegen (*Ctenocephalides felis*). Redioid A ist damit etwa 40-mal aktiver als Ivermectin. Nakajima und Mitarbeiter (Fujisawa Pharmaceutical) isolierten den nur mit dem Kürzel FR901464 bezeichnete Naturstoff (2) aus einem japanischen Bodenbakterium.⁵⁾ Jacobsen et al. bewiesen die Struktur durch Totalsynthese, bei der beide dicht funktionalisierten Pyranringe enantioselektiv mit einem im

Jahr 1999 vorgestellten Chrom(III)-Katalysator⁶⁾ durch Hetero-Diels-Alder-Reaktionen aufgebaut werden.⁷⁾ Durch die wiederhergestellte Verfügbarkeit des Naturstoffs wurde seine starke Cytotoxizität (ca. 1 ng·mL⁻¹) bestätigt.

Der Anteil mariner Naturstoffe unter den neuen strukturell und biologisch interessanten Wirkstoffen kann auf größer als 70% geschätzt werden. Phylogenetisch geordnete Zusammenfassungen werden jährlich durch Faulkner publiziert, dessen neuester Übersichtsartikel über neue Strukturen und ausschließlich vollständige Totalsynthesen 434 Referenzen aus dem Jahr 2000 enthält.⁸⁾ Auch hier zwei Beispiele: Eine ungewöhnliche, dimere Diazobenzofluoren-Glycosid-Struktur weist Lomaivictin A (3) aus dem marinen Bakterium *Micromonospora lomaivitiensis* auf; seine Cytotoxizität beträgt bis zu 10 pg·mL⁻¹.⁹⁾ Orientierende Untersuchungen deuten auf eine neue Art der Wechselwirkung mit DNA hin.

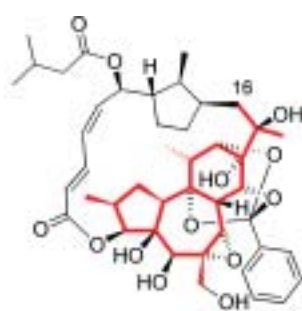
Aus einem Meeresschwamm der Gattung *Haliclona* stammt Halipeptin A (4), ein neuartiges, stark entzündungshemmendes Depsipeptid. Die strukturelle Originalität neuer Peptoiden wird wesentlich durch die Anwesenheit neuer Untereinheiten (im Formelbild blau gekennzeichnet) bestimmt. Besonders auffällig bei Halipeptin A (4) ist der 1,2-Oxazetidinring, dessen absolute Stereochemie noch aufzuklären ist. Zur Strukturaufklärung von (4) wurden ¹H, ¹⁵N-HMBC-Experimente (HMBC = Heteronuclear Multiple Bond Correlation) eingesetzt.

Galanthamin aus dem Schneeglöckchen: reif für Markt und feste Phasen

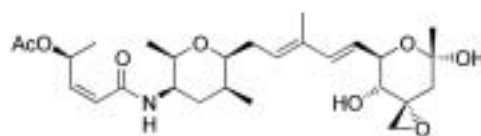
◆ Eine Renaissance als Leitstruktur erlebte seit Beginn der 90er Jahre das Amaryllidaceen-Alkaloid Galanthamin (5) (Abbildung 2), das inzwischen in mehreren Ländern zur Therapie der Alzheimerschen Krankheit

Abb. 1.

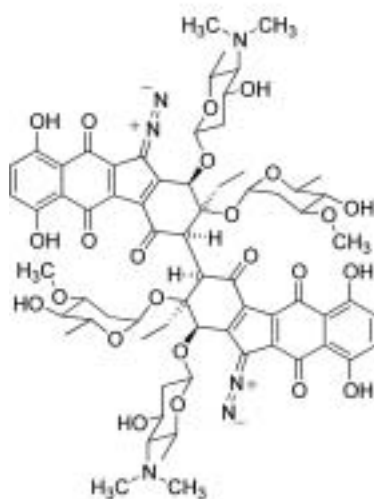
Biologisch aktive Naturstoffe aus Industrie- und Hochschulforschung. Bei Redioid A (1) ist das diterpenoide Daphnan-Gerüst rot gekennzeichnet, bei Halipeptin A (4) die neuartigen Untereinheiten blau.



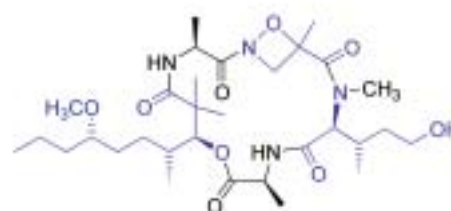
(1): Redioid A



(2): FR901464



(3): Lomaivictin A



(4): Halipeptin A

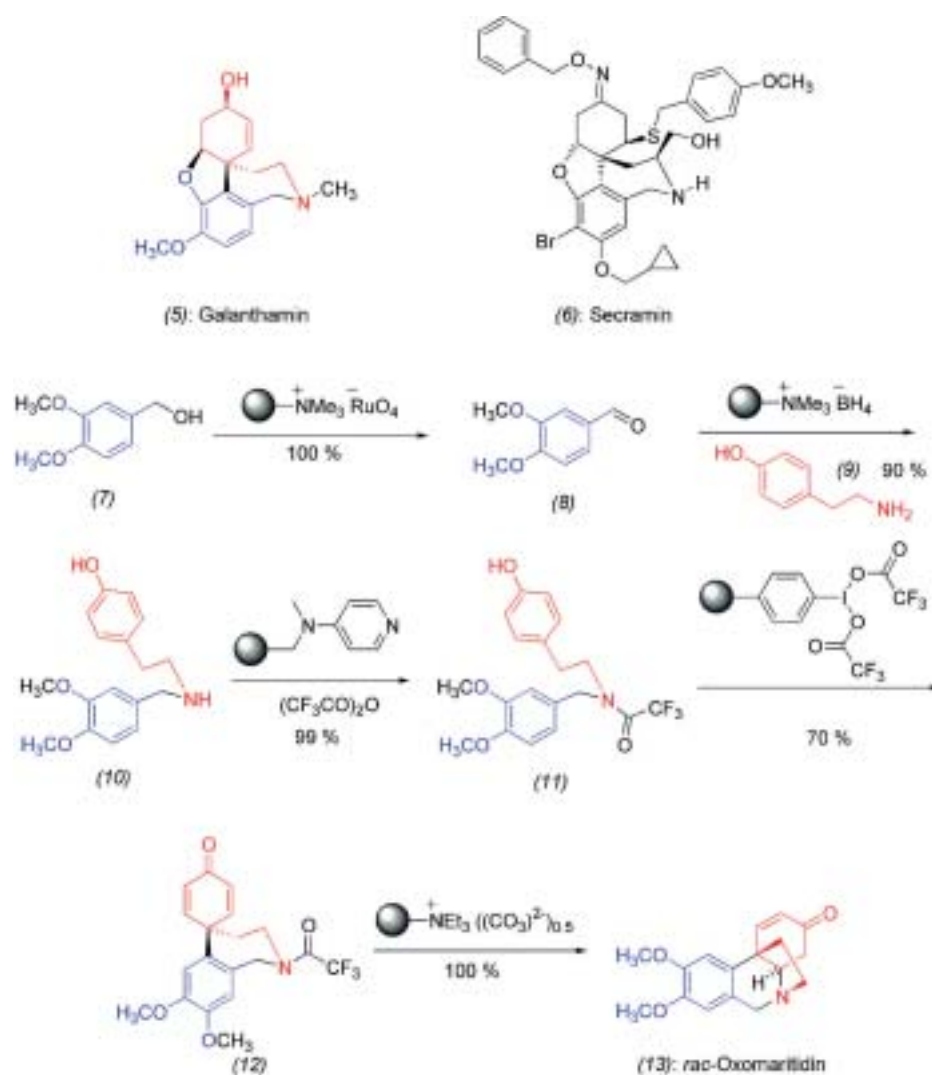


Abb. 2. Galanthamin (5) als Leitstruktur: Synthese des verwandten Alkaloids rac-Oxomaritidin (13) mit Festphasen-gebundenen Reagentien. Die farbigen Teilstrukturen verdeutlichen die biogenetische Verwandtschaft zwischen (13) und (5). Das Galanthamin-ähnliche Secramin (6) fanden Shair et al. durch biomimetische Festphasen-Parallelsynthese und Bioassay.

zugelassen wurde. Galanthamin ist ein potenter Inhibitor der Acetylcholinesterase, eines an der cholinergen Neurotransmission beteiligten Enzyms. Von Forschern der Sanochemia AG wurde eine industrielle Synthese von Galanthamin (5) im Kilogramm-Maßstab entwickelt.¹⁰⁾

Wachsende Bedeutung auch für die Naturstoffsynthese gewinnen Festphasen-gebundene Reagentien.¹¹⁾ In Anlehnung an Kita und Mitarbeiter, die die oxidative intramolekulare Phenolkupplung zum Siebenring ((11) nach (12)) mit Hilfe von hypervalentem Phenyliod(III)-bis(trifluoracetat) erreichten,¹²⁾ entwickelten Ley und Mitarbeiter die Synthese des Galanthamin-verwandten Alkaloids (\pm)-Oxomaritidin (13) (Abbildung 2). Insgesamt werden fünf verschiedene, Polystyrol-gebundene Reagentien eingesetzt.¹³⁾

Als biomimetische, Diversitätsorientierte Synthese bezeichnen Shair und Mitarbeiter ihren Ansatz zur Suche nach Galanthamin-Analoga mit biologischen Eigenschaften jenseits der des Naturstoffs.¹⁴⁾ Nach biomimetischer Festphasen-Parallelsynthese wählte man durch Screening unter 2527 massenspektrometrisch tatsächlich nachgewiesenen Produkten den „Kulturstoff“ Secramin (6) aus, der als neues biochemisches Werkzeug den Proteintransport vom Endoplasmatischen Reticulum zum Golgi-Apparat blockiert.

Gene und Naturstoffe

◆ Modulare Polyketid-Synthasen (PKS) sind multifunktionelle Enzymsysteme, die die Biosynthese von Polyketiden wie der Makrocyclen Erythromycin oder Rapamycin katalysie-

ren. Die aktiven Zentren sind zu Modulen zusammengefasst, von denen jedes je einen Cyclus der Kondensation und β -Keto-Reduktion leistet.¹⁵⁾ Auch der PKS-Gencluster der Biosyntheseenzyme von Epothilon A und B aus dem Myxobakterium *Sorangium cellulosum*, die zu den für die Pharmaforschung wichtigsten Naturstoffen der letzten Jahre gehören, wurde kürzlich aufgeklärt.¹⁶⁾

Wenn jedes einzelne Modul gezielt auf genetischer Ebene angesteuert werden kann, lassen sich strukturell veränderte Naturstoffe durch Fermentation synthetisieren („Kombinatorische Biosynthese“). Die 6-Desoxyerythronolid B (14)-Synthase DEBS aus *Saccharopolyspora erythraea* besteht aus den Polypeptiden DEBS 1, DEBS 2 und DEBS 3, die sich wiederum aus Modulen zusammensetzen (Abbildung 3). Bei kinetischen Studien „chimärer Fließbänder“, die aus Modulen verschiedener PK-Synthasen zusammengesetzt wurden, fanden Khosla und Mitarbeiter kürzlich, dass die Einbaugeschwindigkeiten von Diketiden erheblich gesteigert werden, wenn diese den einzelnen PKS-Modulen nicht als Cysteamin-Thioester (diffusionskontrolliert), sondern an das Acyl-Carrier-Protein (ACP, „kinetic channeling“) gebunden präsentiert werden.¹⁷⁾ Die kombinatorisch-biosynthetischen Verfahren könnten sich enorm auf bisher ungeeignete Substrate ausdehnen.

Rohr und Mitarbeiter untersuchten die Funktion von Genen, die für den späteren Teil der Biosynthese verantwortlich sind, der sich dem Aufbau des eigentlichen Polyketid-Strangs anschließt. Durch die Übertragung des Biosynthese-Genclusters von Elloramycin aus *Streptomyces olivaceus* in das Bakterium *S. argillaceus* wurden mehrere neue glycosylierte Hybrid-Tetracenomycine gebildet.¹⁸⁾

Davies und Mitarbeiter präsentierten kürzlich eines der ersten Beispiele der Isolierung und Strukturaufklärung neuer Naturstoffe aus nicht fermentierbaren Mikroorganismen mit Hilfe molekularbiologischer Methoden.¹⁹⁾ DNA wurde aus einer Bodenprobe isoliert und per Vektor in das Bakterium *Streptomyces lividans* ein-

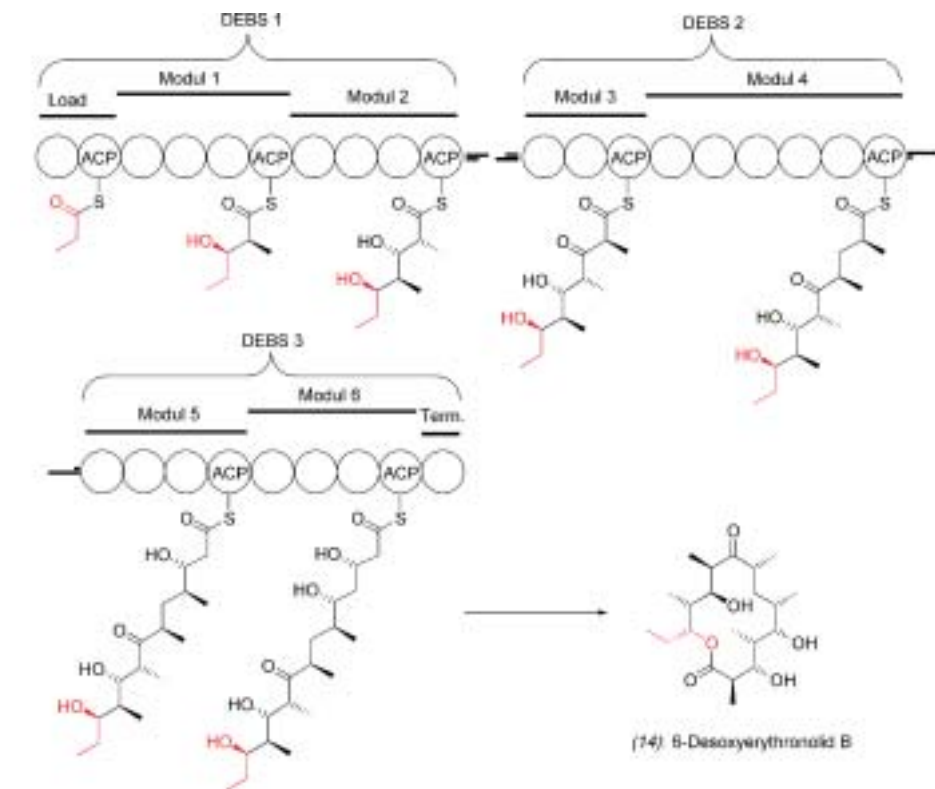
geschleust. HPLC-MS-Screening von 1020 rekombinanten Stämmen führten zur Identifizierung eines Transformanten, der als neue Sekundärmetabolite die Terragine produzierte (z. B. Terragin A (15), Abbildung 4). Dieser Ansatz könnte bei der Suche nach neuen Naturstoffen in Zukunft in stärkerem Maße verfolgt werden, da schätzungsweise nur etwa 1 % aller Mikroorganismen direkt im Labor fermentierbar ist. Die Macrolactine (z. B. Macrolactin A (16)), 1989 aus einem nicht mehr fermentierbaren Tiefseebakterium isoliert²⁰⁾ und mehrfach total synthetisiert,²¹⁾ wurden inzwischen allerdings auf konventionellem Weg in einem marinen Bakterium der Gattung *Bacillus* wiederentdeckt.²²⁾

Faszination Markierungsexperiment

◆ Der Einbau isotope-markierter Biosynthese-Vorstufen in strukturell interessante Sekundärmetabolite weist eine besondere Ausstrahlungskraft auf (Abbildung 5). Das ungewöhnliche Bicyclo[2.2.2]diazaoctan-System des Pilzmetaboliten Paraherquamid (17) und verwandter Indolalkaloide entsteht wahrscheinlich durch [4+2]-Cycloaddition einer Isopreneinheit an einen aus L-Methylprolin und L-Tryptophan gebildeten Pyrazinonring. Williams und Mitarbeiter zeigten, dass L-Methylprolin seinerseits durch oxidative Cyclisierung von L-Isoleucin entsteht.^{23,24)} Ein wichtiger Aspekt dieser Biosynthese-Studien ist die Suche nach einer „Diels-Alderase“, die aber bisher nicht gefunden wurde.

Die Biosynthese des Chalciporons (18), Scharfstoff des Pfefferröhrlings *Chalciporus piperatus*, konnten Steglich und Mitarbeiter durch Inkorporation von ¹³C-markiertem L-Alanin und sieben intakten Acetat-Einheiten in dieses ungewöhnliche ²H-Azepin-Alkaloid aufklären.²⁵⁾ Der Aufbau der Kohlenstoffkette beginnt an C16 und sollte mit der Kondensation von L-Alanin mit einem Heptaketid-CoA-Thioester und einhergehender Decarboxylierung abschließen.

Die Kondensation von Glycin und



einer C16-Kette ist Teil des Biosynthesewegs zu Antidesmon (19) aus den ostafrikanischen Wolfsmilchgewächsen (Euphorbiaceae) *Antidesma* und *Hyeronima*.²⁶⁾ Bringmann und Mitarbeiter konnten auf Basis von INADEQUATE-Experimenten auch die Konstitution dieses Naturstoffs revidieren. Ein Hinweis auch auf den möglichen Nutzen Computer-unterstützter Konstitutionsanalyse.

Biomimetische Totalsynthese

◆ Die Synthese von Naturstoffen stellt als Folge der häufig gleichzeitigen Anwesenheit mehrerer funktioneller Gruppen und spezieller, nicht nach einem „Baukastensystem“ von

Reaktionen zu erfassender Reaktivitäten höchste Anforderungen an die Organische Chemie. Naturstoffe sind der Prüfstein neuer Synthesemethoden sowie der Kreativität und Ausdauer. Unter den zahlreichen neuen Totalsynthesen seien zwei biomimetische ausgewählt. Das Ordnungskriterium der Naturstoffe ist ihre Biogenese.

Xiong und Corey gelang es, das Squalen-Pentaepoxid (22) in einem Schritt aus (R)-2,3-Dihydroxysqualen (20) zu erhalten und zum Squalenoid (23) mit einer Gesamtausbeute von 31 % zu cyclisieren (Abbildung 6)²⁷⁾ Zur diastereoselektiven Epoxidierung wurde ein von Shi und Mitarbeitern in situ aus (21) erzeugtes, chirales Dioxiran eingesetzt.²⁸⁾ (23)

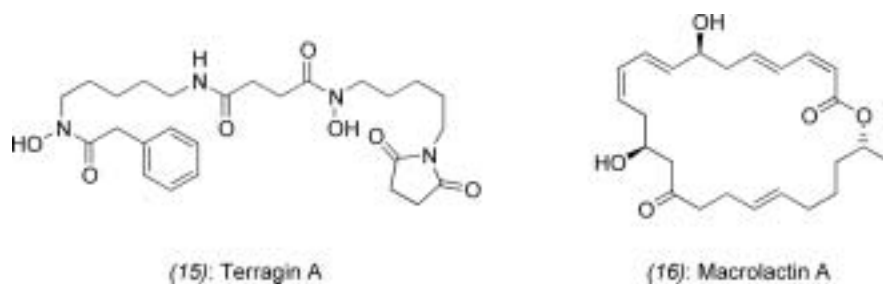


Abb. 4. Terragin A (15) aus einem Bodenbakterium wurde durch Isolierung und Expression seiner Biosynthesegene erstmals erhalten und in seiner Struktur aufgeklärt. Macrolactin A (16) wurde in einem marinen Bakterium wiedergefunden.

Abb. 3
Biosynthese von 6-Desoxyerythronolid B (14), codiert durch den PKS-Gencluster, bestehend aus Polypeptid-Unterheiten (DEBS 1–3). Die Weiterreichung zwischen den Modulen geschieht bei Bindung des Thioesters an das Acyl-Carrier-Protein (ACP). Jeder Kreis steht für ein Enzym.

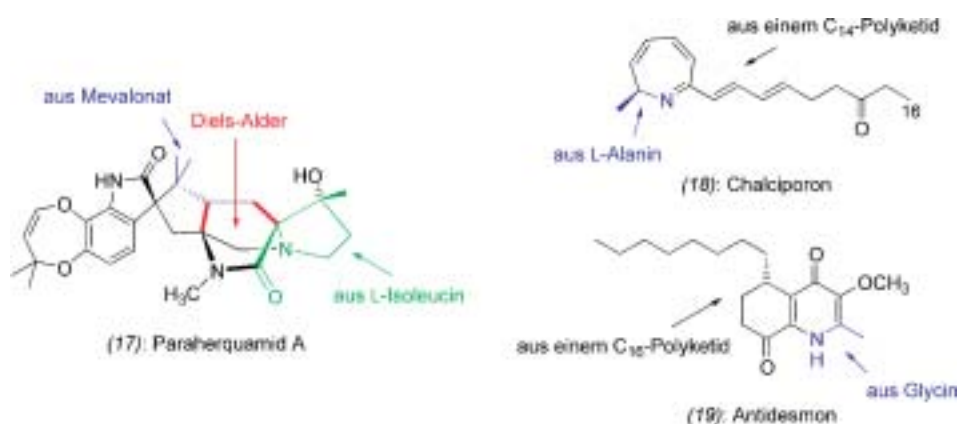


Abb. 5. Biosynthesewege zu Paraherquamid A (17), Chalciporon (18) und Antidesmon (19).

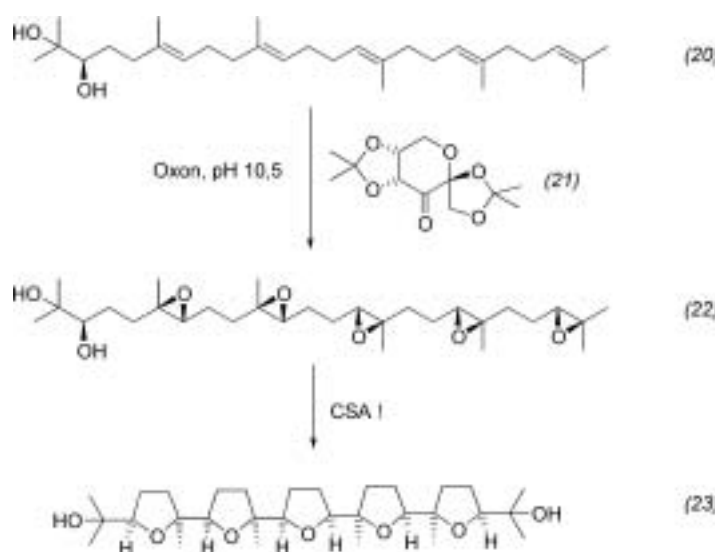


Abb. 6. Biomimetische Epoxid-Kaskade zum Pentakis(tetrahydrofuran)-System (23). CSA: Campher-10-sulfonsäure.

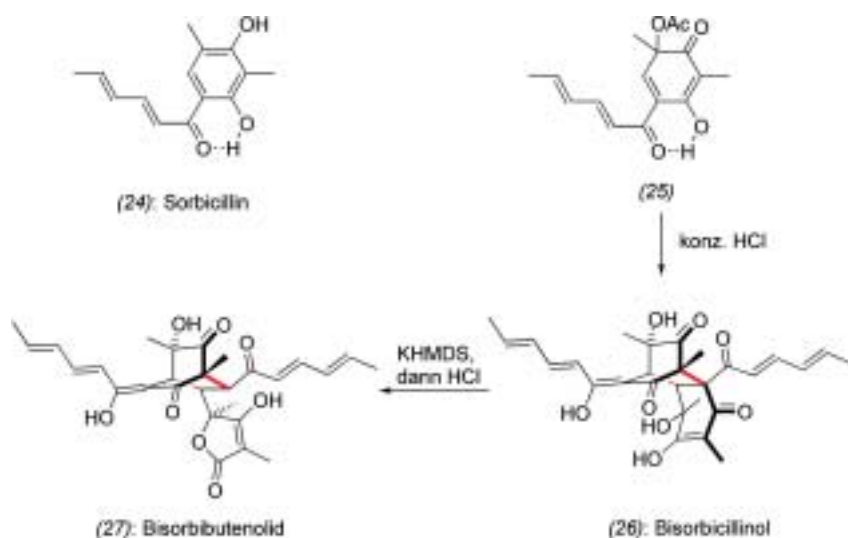


Abb. 7. „Thermodynamischer Rückenwind“: Biomimetische Diels-Alder-Dimerisierung des Sorbicillin-Analogs (25) zu rac-Bisorbicillinol (26) und dann zu rac-Bisorbibutenolid (27).

wurde als Struktur von Glabrescol aus dem karibischen Rautengewächs *Spathelia glabrescens*²⁹⁾ vorgeschlagen, stimmt aber nicht mit dessen Daten überein. Man synthetisierte daraufhin sämtliche anderen, von all-(E)-Squalen-Hexaepoxid ableitbaren *meso*-Diastereomere, die allerdings ebenfalls nicht mit dem Naturstoff übereinstimmen. Zur Zeit werden *meso*-Analoge von (23) synthetisiert, die von Squalenen ableitbar sind, bei denen mindestens eine Doppelbindung (Z)-konfiguriert ist – ein Beispiel für die Notwendigkeit der Naturstoffsynthese zur Klärung.

Der seit 1948 bekannte Naturstoff Sorbicillin (24) erweist sich seit Beginn der 90er Jahre als fortgeschrittener Schlüsselbaustein der Naturstoff-Biosynthese. Nicolaou und Mitarbeiter erhielten durch biomimetische Synthese die dimeren Abkömmlinge Bisorbicillinol (26) und Bisorbibutenolid (27), die alle im Pilz *Trichoderma* sp. vorkommen (Abbildung 7).³⁰⁾ Man folgt einem von Abe und Mitarbeiter publizierten Biosynthese-Vorschlag,³¹⁾ der zunächst eine enantioselektive [4+2]-Cycloaddition zweier Moleküle (25), gefolgt von der anionischen Umlagerung des Cycloaddukts (26) zu (27) postuliert. In der Tat gelang es, das Edukt (25) unter einfachsten Reaktionsbedingungen in einer *endo*-selektiven Diels-Alder-Reaktion in *rac*-(26) zu überführen. Behandlung mit Kaliumhexamethyldisilazid (KHMDS) in THF ergab Bisorbibutenolid (27) in einer Ausbeute von 80 % – ein Plädoyer für die biomimetische Naturstoffsynthese.

Nur die schwierige Zugänglichkeit von Naturstoffen steht ihrer noch breiteren Nutzung – in abnehmendem Maße – entgegen. Neben der erstmaligen Totalsynthese neuer Naturstoffe ist deshalb jede Verbesserung bestehender Synthesen ein lohnendes Ziel. Man stelle sich vor, das Krebsmedikament Paclitaxel sei in zehn Stufen zugänglich.

Thomas Lindel

LMU München

thomas.lindel@cup.uni-muenchen.de

- 1) D. J. Newman, G. M. Cragg, K. M. Snader, *Nat. Prod. Rep.* 2000, 17, 215–234.
- 2) D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* 2000, 17, 1–6.
- 3) K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, N. Winssinger, P. S. Baran, *Angew. Chem.* 2000, 112, 46–126.
- 4) S. B. Singh et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 4998–4999.
- 5) H. Nakajima, B. Sato, T. Fujita, S. Takase, H. Terano, M. Okuhara, *J. Antibiot.* 1996, 49, 1196–1203.
- 6) A. G. Dossetter, T. F. Jamison, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* 1999, 111, 2549–2552.
- 7) C. F. Thompson, T. F. Jamison, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 9974–9983.
- 8) D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Rep.* 2002, 19, advance article.
- 9) He et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 5362–5363.
- 10) a) L. Czollner, W. Frantsits, B. Kenburg, U. Hedenig, J. Fröhlich, U. Jordis, *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 2087–2088; b) erste Totalsynthese: D. H. R. Barton, G. W. Kirby, *J. Chem. Soc.* 1962, 806–817.
- 11) Vollständige Übersicht bis April 2000: a) S. V. Ley et al., *Perkin Trans. 1*, 2000, 3815–4195; „Resin-Capture-Release“: b) A. Kirschning, H. Monenschein, R. Wittenberg, *Chem. Eur. J.* 2000, 6, 4445–4450.
- 12) Y. Kita, M. Arisawa, M. Gyoten, M. Nakajima, R. Hamada, H. Tohma, T. Takada, *J. Org. Chem.* 1998, 63, 6625–6633.
- 13) S. V. Ley, O. Schucht, A. W. Thomas, P. J. Murray, *Perkin Trans. 1* 1999, 1251–1252.
- 14) H. E. Pelish, N. J. Westwood, Y. Feng, T. Kirchhausen, M. D. Shair, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 6740–6741.
- 15) R. McDaniel, D. E. Cane, C. Khosla et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 4309–4310.
- 16) M. Milnamow, S. Goff et al., *Chem. Biol.* 2000, 7, 97–109.
- 17) N. Wu, S. Y. Tsuji, D. E. Cane, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 6465–6474.
- 18) J. Rohr et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 10596–10601.
- 19) G. Wang, E. Graziani, B. Waters, W. Pan, X. Li, J. McDermott, G. Meurer, G. Saxena, R. J. Andersen, *J. Davies, Org. Lett.* 2000, 2, 2401–2404.
- 20) K. Gustafson, M. Roman, W. Fenical, *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 7519–24.
- 21) a) Y. Kim, R. A. Singer, E. M. Carreira, *Angew. Chem.* 1998, 110, 1321–1323; b) A. B. Smith, G. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 3935–3948 und dort zit. Lit..
- 22) a) T. Nagao, K. Adachi, M. Sakai, M. Nishijima, H. Sano, *J. Antibiot.* 2001, 54, 333–339; b) C. Jaruchoktaweetchai, K. Suwanborirux, S. Tanasupawatt, P. Kittakoo, P. Menasveta, *J. Nat. Prod.* 2000, 63, 984–986.
- 23) E. M. Stocking, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *Angew. Chem.* 2001, 113, 1336–1338.
- 24) E. M. Stocking, R. A. Martinez, L. A. Silks, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 3391–3392.
- 25) P. Spiteller, D. Hamprecht, W. Steglich, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 4837–4838.
- 26) G. Bringmann, H. Rischer, M. Wohlfarth, J. Schlauer, *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 9905–9910.
- 27) Z. Xiong, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 4831–4832.
- 28) Z.-X. Wang, Y. Tu, M. Frohn, J.-R. Zhang, Y. Shi, *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 11224–11235.
- 29) W. W. Harding, P. A. Lewis, H. Jacobs, S. McLean, W. F. Reynolds, L.-L. Tay, J.-P. Yang, *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 9137–9140.
- 30) K. C. Nicolaou et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 3071–3079.
- 31) N. Abe, T. Murata, A. Hirota, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1998, 62, 2120–2126.