

Theoretischer Teil

Teil A Eine neue Synthese von Zincophorin

1 Einleitung

1.1 Einführung und Motivation

Polyketide sind eine bemerkenswerte Klasse von Naturstoffen. Sie werden vor allem von Pilzen, Bakterien und marinen Organismen gebildet. Ihre Strukturvielfalt reicht vom einfachen Aromaten wie 6-Methylsalicylsäure bis zum polycyclischen Riesenmolekül Maitotoxin, das mit einem Molekulargewicht von 3422 g/mol das größte bekannte und natürliche Nicht-Biopolymer darstellt.¹

Ebenso bunt ist das Spektrum der biologischen Aktivitäten. Bereits in kleinsten Mengen hoch wirksam finden Polyketide eine Vielzahl von pharmazeutischen Anwendungen als Antibiotika (z. B. Tetracycline und Erythromycin), Cytostatika (Daunomycin und Epothilon), Antifungine (Griseofulvin und Strobilurine), Antiparasitika (Avermectin und Monensin), Immunosuppressiva (FK 506 und Rapamycin) und cholesterinsenkende Mittel (Lovastatin und Squalostatine).²

Entsprechend groß ist das Interesse bei Chemikern, Mikrobiologen und Pharmazeuten. Dem Synthesechemiker fasziniert besonders die Komplexität und Strukturvielfalt der Polyketide. Die Herausforderung liegt dabei in der hohen Funktionalitätsdichte der meist unmittelbar benachbarten stereogener Einheiten. So besitzt Zincophorin dreizehn stereogene Zentren³ und zwei Doppelbindungen. Jede dieser Einheiten kann theoretisch zwei unterschiedliche Konfigurationen einnehmen, sodaß man $2 \text{ hoch } 15$, also insgesamt 32768 verschiedene Stereoisomere formulieren kann. Nur eine davon entspricht tatsächlich dem Naturstoff (Abbildung 1).

¹ M. Murata*, H. Noaki, S. Matsunaga, M. Satake, T. Yasumoto *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7098-7107.

² T. J. Simpson *Chemistry & Industry* **1995**, <http://ci.mond.org/9511/951104.html>

³ Im folgenden wird für den Begriff "stereogenes Zentrum" auch die Kurzform "Stereozentrum" verwendet.

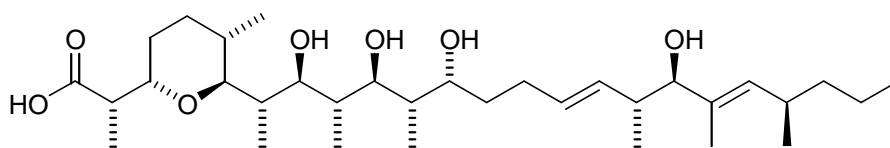


Abbildung 1: Zincophorin, ein polyketidischer Naturstoff

Der gezielte Aufbau stereogener Einheiten, die diastereoselektive Synthese, erlangte Ende der 70er Jahre enormen Auftrieb. Durch die Entwicklung der Hochfeld- ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie und der neueren HPLC-Techniken waren die Voraussetzungen der Trennung und Charakterisierung der Stereoisomeren gegeben.⁴

Heute sind viele komplizierte synthetischen Ziele, die von organischen Chemikern bearbeitet werden, Polyketide. Dabei stehen neben der Totalsynthese auch Fragmentsynthesen und Synthesestudien im wissenschaftlichen Interesse.⁵

1.2 Zincophorin

1.2.1 Stoffklasse

Das Polyketid Zincophorin gehört mit seinen biologischen Eigenschaften zur Klasse der Polyether-Antibiotika.⁶ Bis heute sind etwa 200 Polyether isoliert und strukturell aufgeklärt worden. Dabei handelt es sich meist um Derivate einiger weniger Grundstrukturen. Die charakteristischen Elemente der Polyether sind eine Carboxylgruppe, polyketidische Einheiten sowie mehrere Tetrahydrofuran- oder Tetrahydropyranringsysteme, die zum Teil auch spiroketalisch verknüpft sind. Als allgemeine Formel gilt $(\text{C}_{3-4}\text{H}_{5-7}\text{O})_n$ ($9 < n < 15$).⁷ Zincophorin ist in dieser Hinsicht ungewöhnlich, da es nur einen Tetrahydropyranring besitzt. Die beiden Doppelbindungen verursachen bei dem Molekül mit der Summenformel $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{O}_7$ einen Mangel gegenüber der sonst üblichen Zahl an Sauerstoffatomen.

⁴ R. W. Hoffmann *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 503-517.

⁵ a) K. C. Nicolaou, F. Roschinger, D. Vourloumis *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2120-2153;
b) J. Pietruszka *ibid* **1998**, *110*, 2773-2780.

⁶ J. W. Westley: *Polyether Antibiotics* Vol. I: Biology, Marcel Dekker Inc., New York **1982**.

⁷ J. W. Westley *Adv. Appl. Microbiol.* **1977**, *22*, 177.

Polyether-Antibiotika sind Ionophore (griech.: pherein = tragen) und besitzen die Fähigkeit, mit verschiedenen anorganischen Kation wie von Alkali- und Erdalkalimetallen sowie Cd^{2+} oder Zn^{2+} reversibel Chelate oder andere Komplexe einzugehen. Die Komplexbildung erfolgt durch Bindung des Kations an die freie Carboxylgruppe sowie durch elektrostatische Wechselwirkungen mit nucleophilen Zentren an OH-Gruppen und Ethersauerstoff, wobei von zweiwertigen Kationen stets zwei Polyethermoleküle gebunden werden. Bei derartigen Komplexen kommt es zur Ausbildung einer 'Tennisball-Konformation', bei der das zentrale Kation von den aliphatischen Ketten umwunden wird.

Aufgrund der relativ lipophilen Außenseite sind diese Neutralsalzkomplexe als Carrier geeignet, Ionen durch sonst undurchlässige biologische Membranen zu transportieren. Zinco-phorin bevorzugt dabei speziell Zn^{2+} -Ionen. Als Beispiele weiterer Polyether mit bevorzugter Kationenbindung seien Salinomycin (K^+ , Na^+ , Cs^+), Monensin (Na^+ , K^+ , Rb^+), Indanomycin (Na^+ , K^+ , Rb^+ , Ca^{2+}) und Ionomycin (Ca^{2+}) erwähnt (Abbildung 2).

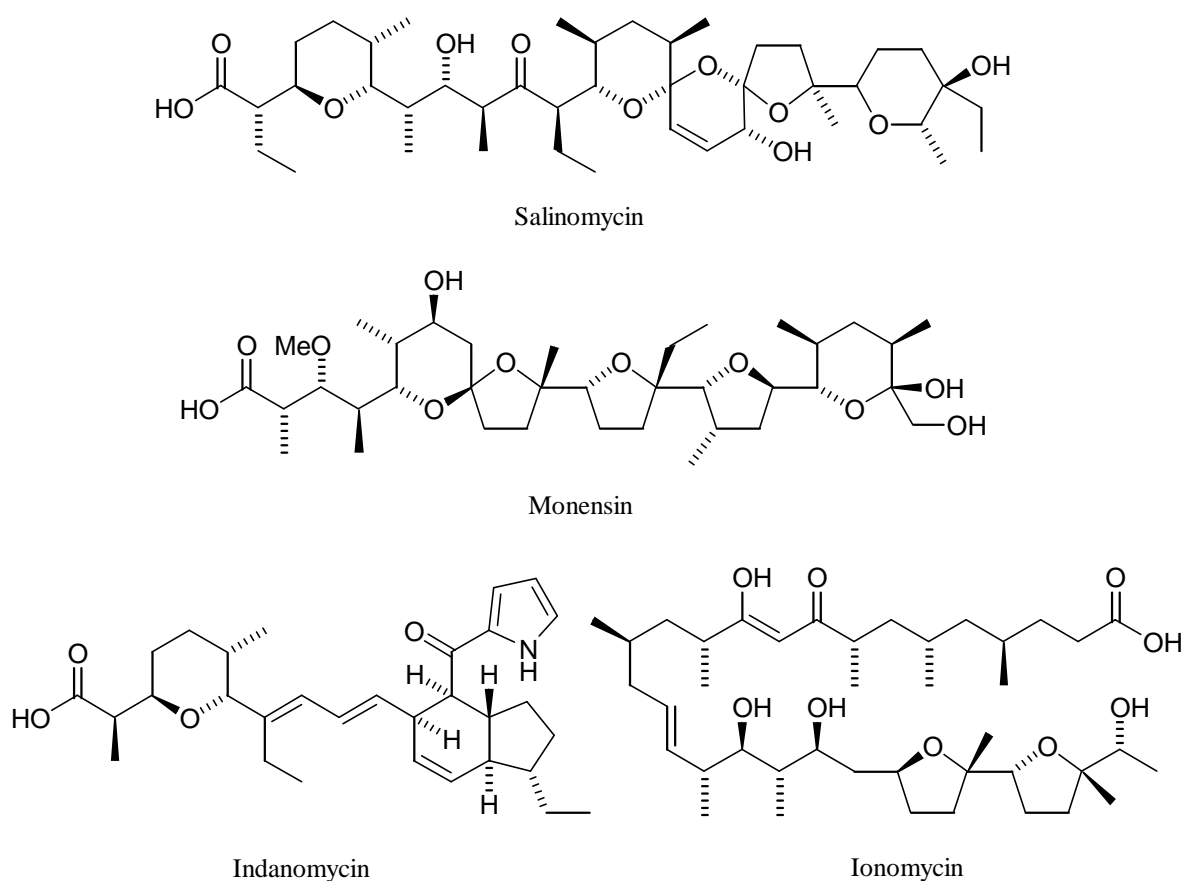


Abbildung 2: Beispiele für weitere Polyether-Antibiotika

Die Carrier-Funktion, die allen Ionophor-Antibiotika gemein ist, führt zu recht ähnlichen pharmakologischen Eigenschaften. Es kommt zu Störungen im Kationenhaushalt lebender Zellen. Neben stark antimikrobieller Aktivität gegen grampositive Bakterien zeigen sich zum Teil auch antifungale Wirkungen gegen Pilze und Hefen, antivirale Effekte gegen tierpathologische Viren und Herpesviren, kokzidiostatische und andere antiparasitäre Wirkungen, ergotrope Effekte als Darmstabilisator und Pansenfermoregulator sowie insektizide und anthelmintische Effekte.

Bis auf wenige Ausnahmen werden natürliche Polyether-Antibiotika von Actimyceten der Gattungen *Streptomyces* (*Actinomyces*), *Streptoverticillium*, *Actinomadura* und *Dactylosporangium* gebildet.

1.2.2 Toxizität und physiologische Wirksamkeit

Zincophorin und seine Salze weisen eine breite antibiotische Wirksamkeit gegen grampositive Bakterien auf. Deren besondere Empfindlichkeit gegenüber Polyethern wird darauf zurückgeführt, daß ihre Nährstoffabsorption durch Ionophore gestört wird.

Die Toxizität am lebenden Tier ist sehr von der Applikationsart abhängig. Bei Ratten liegt die LD₅₀-Rate von Zincophorin intravenös zwischen 0.5 und 5 mg/kg. Keine akute Toxizität zeigt sich dagegen bei Mäusen bei oraler Aufnahme von 350 mg/kg.

Da die Resorption im tierischen Gastrointestinaltrakt sehr gering ist, kann Zincophorin, wie auch andere Polyether, dem Tierfutter zugesetzt werden. Die Konzentrationen liegen dabei zwischen 5 bis 120 mg/kg. Eine Anwendung findet sich z. B. gegen die *Clostridium welchii* bei Wiederkäuern. Sein Ammonium- und Natriumsalz wird gegen die Kokzidien *Eimeria tenella* verwendet, die besonders Geflügelbestände gefährden.

Schließlich beansprucht die Patentschrift von U. Gräfe den Methylester als einen sehr aktiven Hemmer gegen den *influenza WSN* Virus.⁸

1.2.3 Entdeckung und Strukturaufklärung

1984 entdeckten U. Gräfe *et al.* in Jena ein neues Antibiotikum. Es wird von einem Stamm der *Streptomyces griseus ZIMET 43681* gebildet und kann aus dem Myzel durch Extraktion und Säulenchromatographie isoliert werden.⁹

⁸ U. Gräfe Patent DD 231793.

⁹ U. Gräfe*, W. Schade, M. Roth, L. Radics, M. Incze, K. Ujzászy *J. Antibiot.* **1984**, 37, 836-846.

Der Name des Polyethers wurde von dem seiner Bakterienkultur abgeleitet: Griseochelin. Durch spektroskopische Methoden konnte noch im selben Jahr seine Struktur ermittelt werden. Griseochelin war dabei das erste komplexe Ionophor-Antibiotikum, dessen Konstitutionsaufklärung durch zweidimensionale NMR-Spektroskopie gestützt wurde.¹⁰

Komplexierungsversuche ergaben mit divalente Kationen, insbesondere für Zn^{2+} , besondere Stabilität, wodurch Griseochelin seinen heutigen Namen Zincophorin erhielt. Bei dem Komplex wird das Kation von zwei Zincophorin-Anionen umschlossen. Röntgenspektroskopische Untersuchungen des Ca^{2+} -Komplexes zeigen eine oktaedrische Koordination über die Carboxylatgruppen und den Hydroxylgruppen am C_{11} und C_{13} . Der THP-Sauerstoff sowie die Hydroxylgruppen am C_9 und C_{19} sind nicht an der Koordination an dem Metallion beteiligt.¹¹

Den Beweis der absoluten Konfiguration von Zincophorin lieferte schließlich Danishefsky im Jahr 1988 mit der Totalsynthese.

1.2.4 Biogenese

Bislang gibt es noch keine Studie, die sich speziell mit der Biogenese des Zincophorins beschäftigt. Man kann jedoch einen dem allgemeinen Biogeneseweg für Polyketide entsprechenden Weg annehmen.¹²

Demnach besteht Zincophorin insgesamt aus elf Propionateinheiten (Abbildung 3).

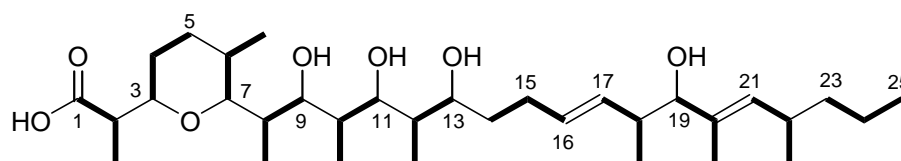


Abbildung 3: Möglicher biogenetischer Aufbau von Zincophorin

¹⁰ L. Radics *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 599-601.

¹¹ H. A. Brooks, D. Gardner, J. P. Poyser *J. Antibiot.* **1984**, 37, 1501-1504.

¹² a) R. B. Herbert: *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*, 2. Auflage **1989**, Chapman and Hall, London;
b) J. Mann: *Secondary Metabolism*, 2. Auflage **1987**, Oxford University Press, Oxford;
c) D. A. Hopwood, D. H. Sherman *Ann. Rev. Genet.* **1990**, 24, 37.