



Doctoral Thesis

Zum stereochemischen Verlauf der inversen Prenylierung in der Biosynthese von Echinulin

Author(s):

Meier, Daniel Joachim

Publication Date:

1992

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000697626> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr.10014

**ZUM STEREOCHEMISCHEN VERLAUF DER INVERSEN
PRENYLIERUNG IN DER BIOSYNTHESE VON ECHINULIN**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
DANIEL JOACHIM MEIER
dipl. Natw. ETH
geboren am 20. Mai 1962
von Unterengstringen / ZH

angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. D. Arigoni, Referent
PD Dr. B. Jaun, Korreferent

Zürich 1992

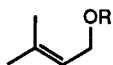
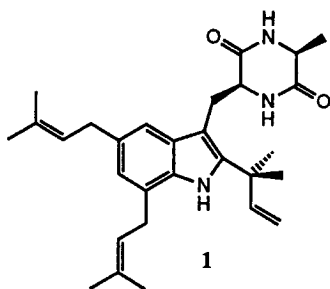
I ZUSAMMENFASSUNG

Frühere Arbeiten zur Biosynthese von Echinulin (1), einem Indolalkaloid des Pilzes *Aspergillus amstelodami*, haben gezeigt, dass die (Si)-Methylgruppe der inversen Prenylseitenkette am C(2) von Echinulin (1) mit einer Selektivität von 89 % aus der Methylgruppe der Mevalonsäure (25) stammt. Der fehlende Anteil von 11 % des Vorläufers wurde in der entsprechenden (Re)-Methylgruppe der inversen Prenylseitenkette wiedergefunden. Zum besseren Verständnis der inversen Prenylierung wurden in der vorliegenden Arbeit folgende Untersuchungen durchgeführt.

- 1) Im Hinblick auf die späteren biologischen Experimente stellte sich das Problem einer stereospezifischen Synthese von [Z-²H₃]-Dimethylallylalkohol ([Z-²H₃]-57). Die Überprüfung einer Synthese von markiertem 57 über die stereoselektive Addition von Cupraten an α -acetylenische Ester ergab, dass diese Methode zu einem (E)-/(Z)-Isomerengemisch führt. Dasselbe Resultat erhielt man jeweils bei der Anwendung weiterer gängiger Synthesemethoden. Einzig die titankatalysierte Hydromagnesierung von 2-Butinol (125) und anschließende Methylierung des Zwischenproduktes erlaubte es, Dimethylallylalkohol (57) wahlweise in der (E)- oder (Z)-Methylgruppe markiert mit einer Stereospezifizität von >99,5 % darzustellen.
- 2) Nach der Verfütterung von [Z-²H₃]-Dimethylallylalkohol ([Z-²H₃]-57) an *A. amstelodami* konnte gezeigt werden, dass bei der Umwandlung von [Z-²H₃]-57 in Echinulin (1) Deuteriummarkierung aus der (Z)-Methylgruppe verloren geht. Zur Abklärung des Mechanismus, der zu diesem Resultat führt, wurde das im gleichen Versuch als weiteres Produkt von *A. amstelodami*

entstandene Ergosterin (**147**) NMR-spektroskopisch eingehend untersucht. Die Auswertung der spektralen Daten erlaubte den Schluss, dass der Verlust der Deuteriummarkierung und zusätzlich ein teilweiser Identitätsverlust der Methylgruppen von Dimethylallylalkohol (**57**) vor der Pyrophosphorylierung zu Dimethylallylpyrophosphat (**28**) erfolgen muss.

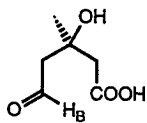
- 3). Zur Abklärung des stereochemischen Verlaufs der pauschal S_N -artigen inversen Prenylierung wurde [5- 2H]-Mevaldinsäure ([5- 2H]-**151**) synthetisiert und verfüttert. Die Analyse des 2H -NMR-Spektrums von Echinulin (**1**) mit dem binuclearen Verschiebungsreagens $Ag(fod)/Eu(fod)_3$ zeigte, dass das (Z)-Proton der endständigen Doppelbindung in der inversen Prenylgruppe von **1** markiert worden war.
- 4) Zur Interpretation des unter 3) erhaltenen Ergebnisses musste der stereochemische Verlauf der Reduktion der [5- 2H]-Mevaldinsäure ([5- 2H]-**151**) zur [5- 2H]-Mevalonsäure ([5- 2H]-**25**) bestimmt werden. Dabei konnte anhand der Einbauart von [5- 2H]-Mevaldinsäure ([5- 2H]-**151**) in Ergosterin (**147**) in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass **151** von *A. amstelodami* stereospezifisch mit der gleichen Stereoselektivität, wie von den anderen untersuchten Organismen, reduziert wird.
- 5) Im Zusammenhang mit dem nun bekannten stereochemischen Verlauf der Reduktion von **151** konnte aufgrund des Einbaus von [5- 2H]-Mevaldinsäure ([5- 2H]-**151**) in Echinulin (**1**) abgeleitet werden, dass die pauschal S_N -artige inverse Prenylierungsreaktion über einen stereochemischen Anti-Prozess verläuft. Anhand dieser Resultate werden verschiedene Mechanismen zur inversen Prenylierung besprochen.



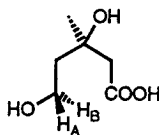
57: R= H
28: R= PP



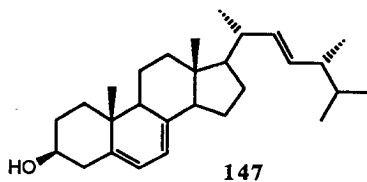
125



151



25



SUMMARY

Earlier studies on the biosynthesis of echinulin (1), an indole alkaloid from the fungus *Aspergillus amstelodami*, showed, that the (Si)-methyl group of the inverse prenyl substituent at C(2) of echinulin (1) is derived from the methyl group of mevalonic acid (25) with a selectivity of 89 %. The remaining part of 11 % from the methyl group of the precursor 25 was found in the (Re)-methyl group of the inverse prenyl substituent. In an attempt to get further insight into the inverse prenylation the following work was carried out.

- 1) In connection with the biosynthetic work a stereospecific synthesis of [Z-²H₃]-dimethylallyl alcohol ([Z-²H₃]-57) was needed. A reported synthesis of labelled 57 by the stereoselective addition of cuprates to α -acetylenic esters was found to give a mixture of the corresponding (E)- and (Z)-isomers. The same result was achieved in each case by using several other promising synthetic methods. Only the titanium catalyzed hydromagnesiation of 2-butinol (125) followed by methylation of the intermediate provided a way to prepare dimethylallyl alcohol (57) selectively labelled in either the (E)- or (Z)- methyl group with a stereospecificity of over 99.5 %.
- 2) Incubation of [Z-²H₃]-dimethylallyl-alcohol ([Z-²H₃]-57) with *A. amstelodami* showed, that deuterium label of the (Z)-methyl group was lost during the conversion to echinulin (1). To establish the mechanism leading to this result ergosterol (147), a further product of 57 in the same incubation experiment with *A. amstelodami*, was thoroughly studied by NMR-spectroscopy. The data led to the conclusion, that the loss of label and an additional scrambling of the methyl groups take place prior to the pyrophosphorylation to give dimethylallyl pyrophosphate (28).

- 3) [5-²H]-mevaldinic acid [5-²H]-**151** was synthesised and incubated in order to investigate the stereochemical course of the apparent S_N'-type inverse prenylation. Analysis of the ²H-NMR-spectrum of echinulin (**1**) in the presence of the binuclear shift reagent Ag(fod)/Eu(fod)₃ showed the terminal double bond in the inverse prenyl group of **1** to be labelled at the (Z)-vinyl proton.

- 4) In the course of the investigation of the result in 3) it was shown by the mode of incorporation of [5-²H]-mevaldinic acid [5-²H]-**151** into ergosterin (**147**), that [5-²H]-**151** is reduced by *A. amstelodami* stereospecifically with the same stereoselectivity as the other studied organisms.

- 5) In the view of the stereochemical course of the reduction of mevaldinic acid (**151**) it was possible to conclude, that the apparent S_N'-type inverse prenylation to echinulin (**1**) follows an ANTI pathway. With these results in mind, several mechanisms for the inverse prenylation are discussed.