



Doctoral Thesis

Synthetic studies towards carba-Guanofosfocins

Author(s):

Duchek, Jan

Publication Date:

2009

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005841063> →

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 No. 18436

Synthetic Studies Towards *carba*-Guanofosfocins

Submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH

for the degree of
Doctor of Sciences

Presented by

Jan Duchek

M.Sc., Institute of Chemical Technology Prague

born on February 10th, 1980

from the Czech Republic

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Andrea Vasella, Examiner
Prof. Dr. Hans-Jürg Borschberg, Co-examiner

Zürich 2009

Summary

This thesis aimed at the synthesis of stable analogues of guanofosfocins, natural products possessing a strong antifungal activity. Guanofosfocins were isolated in 1996 by *Nippon Roche* in Japan from the fermentation broth of *Streptomyces* and *Trichoderma* spp. and strongly inhibit chitin synthases from *S. cerevisiae* and *C. albicans* and β -glucan synthase from *C. albicans*. The investigation of their mode of action and their applications were hampered by their high instability. Guanofosfocins comprise four structural elements: a C(8) substituted guanosine, a 1,3-di-*O*-substituted α -D-mannopyranosyl residue, a pyrophosphate substituent, and an 11-membered ring. We speculated that the two activated *O,O*-acetal moieties of the guanofosfocins are responsible for their instability, and designed the *carba*-analogues **110** and **141** as synthetic targets. My studies were a continuation of a systematic search for a synthesis of these analogues. The main challenges in the synthesis of **110** and **141** may be characterised as follows: 1) incorporation of a methylene group between the mannosyl and guanyl moieties, 2) formation of an ether bond between the O–C(3) of the mannosyl moiety and C(5) of the ribosyl unit, and 3) cyclisation to an 11-membered ring.

The first problem, incorporation of a methylene group between the mannosyl and guanyl moieties, was solved by my predecessors, who constructed the guanine ring by cyclising 4-acylamino-5-nitrosopyrimidines. An alternative method, exploiting guanosine as a building block, is the addition of a *C*-glycosyl methyl radical to C(8) of guanine. I tested such radical addition in model studies both intermolecularly, using **177**, and intramolecularly, using **185**. Only the products of isomerisation (**179** and **180**) or the intramolecular nucleophilic substitution product **187** were isolated.

To tackle the second and the third challenge, a new synthetic strategy towards *carba*-guanofosfocins, based on the formation of the guanine ring of **141** from lactam **193**, was proposed. The key steps of this approach are the connection of O–C(3) of the mannosyl moiety and C(5) of the ribosyl unit by an ether bond, cyclisation to the lactam **193**, and formation of the guanine ring. The first step, formation of the ether bond, is useful for any of the synthetic strategies that were evaluated. I prepared several ribosyl derivatives activated at C(5) and substituted by an azido group at the anomeric centre and tested them for the formation of such an ether bond. Nucleophilic substitution, using **218**, **220**, and **221** as electrophiles and isopropanol as the test nucleophile in the presence of a base, or lithium isopropoxide led to complex mixtures. Absence of the azide band in the IR spectra indicated that the azido group was transformed. Attempted 1,4-addition of alcohols/alkoxides to the nitroalkene **234** gave mostly the isomerisation product **236**, and ring-opening of the

nitroepoxides **238** with alcohols/alkoxides led to mixtures of products. Selective cleavage of the dicyclohexyl acetal of **247**, promoted by $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in the presence of TMS-CN, furnished the desired cyanohydrin **248** in a moderate yield (56%). An attempted *Tebbe* methylenation of a carbonyl group did not proceed with the ester **269**. IR spectra again indicated loss of the azido group. In contradistinction, methylenation of **267**, devoid of an azido group, gave **268** in high yield (90%). Based on these model studies, I decided to omit the ribosyl azides from the synthetic plan and to employ methylenation of an ester as one of the key steps of the synthesis.

Utilisation of an intramolecular *N*-glycosylation to form the 11-membered ring of **141** was not examined before in our group. The key steps of this approach include the preparation of a mannosyl ester of a ribofuranuronic acid, formation of the guanine ring, methylenation of the carbonyl group, and an intramolecular *N*-glycosylation. Pursuing this approach, I prepared the advanced intermediate **357**, possessing the mannosyl, guanyl, and ribosyl units, in an overall yield of 15% and in 9 steps from methyl α -D-mannopyranoside.

A synthesis of 8-substituted guanines from 4-acylamino-5-nitrosopyrimidines was developed in our group and represents a key step in the preparation of the conjugate **357**. To test if a nitro, instead of the nitroso group, is reactive enough to allow this cyclisation, I synthesised a series of benzimidazoles from *o*-nitroanilides by treating them with a P(III) reagent at elevated temperatures. The reaction proceeds in moderate to good yields (45-85%) and presents an alternative to the analogous, metal-mediated reductive cyclisations. This reaction is not confined to benzimidazoles, as demonstrated by the formation of imidazopyridine **398** (63%). Treating **390g** with PPh_3 in boiling decane unexpectedly led to the unsymmetrically substituted urea **403**.

Zusammenfassung

Ziel dieser Dissertation war die Synthese von stabilen Analogen von Guanofosfocinen, natürlichen Metaboliten mit starker antimykotischer Aktivität. Guanofosfocine wurden 1996 von *Nippon Roche* in Japan aus dem Kulturmedium von *Streptomyces* und *Trichoderma* spp. isoliert. Die Guanofosfocine sind starke Hemmer der Chitinsynthesen von *S. cerevisiae*, *C. albicans* und der β -Glucansynthase von *C. albicans*. Die Untersuchung des Wirkmechanismus und der potentiellen Anwendungen wurden durch die Instabilität der Guanofosfocine stark beeinträchtigt. Guanofosfocine weisen vier signifikante Strukturmerkmale auf: ein an C(8) substituiertes Guanosin, eine 1,3-di-O-substituierte α -D-Mannopyranosyleinheit, eine Pyrophosphatgruppe, sowie einen 11-gliedrigen Ring. Wir spekulierten, dass die beiden Acetaleinheiten der Guanofosfocine die Quelle der Instabilität sind. Deshalb haben wir die Carba-Analoga **110** und **141** als synthetische Ziele gewählt. Meine Untersuchungen führen die systematische Suche nach stabilen Analoga weiter. Die Herausforderungen bei der Synthese von **110** und **141** können wie folgt charakterisiert werden: 1) Einführung einer Methylengruppe zwischen der Mannosyl- und der Guanyleinheit, 2) Bildung eines Ethers zwischen C(3) der Mannosyl- und C(5) der Ribosyleinheit und 3) Cyclisierung zu einem 11-gliedrigen Ring.

Die erste Aufgabe, die Einführung der Methylengruppe, wurde bereits durch meine Vorgänger gelöst. Der Guaninring wird dabei durch eine reduktive Cyclisierung eines 4-Acylamino-5-nitrosopyrimidines aufgebaut. Alternativ dazu versuchte ich, H-C(8) am Guanin durch C-Glycosylmethylradikale zu substituieren. An Modellsystemen ergab die intermolekulare (an **177**) und die intramolekulare Radikaladdition (an **185**) nur die Isomerisationsprodukte **179** und **164** oder das Produkt der intramolekularen nucleophilen Substitution, Verbindung **187**.

Die zweite und dritte Herausforderung wurde mit einer neuen Strategie, basierend auf der Bildung des Guaninrings von **141** aus dem Laktam **193**, angegangen. Die Schlüsselschritte zu diesem Ansatz sind die Bildung der Etherbrücke zwischen C(3) der Mannosyl- und C(5) der Ribosyleinheit, Cyclisierung des Laktams **193**, sowie die Bildung des Guaninrings. Der erste Schritt, die Bildung des Ethers, ist essentiell für alle untersuchten Strategien. Ich habe mehrere an C(5) aktivierte, mit einer Azidgruppe am anomeren Zentrum substituierte Ribosyl-Derivate hergestellt, um die Veretherung zu testen. Versuche zur nukleophilen Substitution an **218**, **220** und **221** mit Isopropoxid oder Isopropanol in Gegenwart einer Base als Modellnucleophilen führten zu komplexen Mischungen. Das Fehlen der Azidbande im IR-Spektrum deutet auf eine Umwandlung der Azidgruppe. Der Versuch einer 1,4-Addition von

Alkoholen/Alkoholaten an das Nitroalken **234** ergab vorwiegend das Isomerisationsprodukt **236**, während die Behandlung des Nitroepoxids **238** mit Alkoholen/Alkoholaten komplexe Produktgemische ergab. Die durch $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ katalysierte, selektive Öffnung des Dicyclohexylacetals **247** in Gegenwart von TMS-CN ergab das gewünschte Cyanhydrin **248** in moderaten Ausbeuten (56%). Eine *Tebbe*-Methylierung der Carbonylgruppe des Esters **269** war nicht erfolgreich; das IR-Spektrum wies wieder auf den Verlust der Azidogruppe hin. Im Gegensatz dazu konnte **267**, welches keine Azidogruppe besitzt, in hohen Ausbeute (90%) in **268** übergeführt werden. Ausgehend von diesen Modelluntersuchungen beschloss ich, die Ribosylazide in der geplanten Synthese zu umgehen und stattdessen die Methylierung des Esters als Schlüsselschritt in die Synthese zu integrieren.

Die Verwendung einer intramolekularen *N*-Glycosylierung zur Bildung eines 11-gliedrigen Rings wurde in unserer Gruppe bislang noch nicht untersucht. Die Schlüsselschritte dieses Ansatzes sind die Synthese eines Ribofuranuronsäure-Mannosylesters, Aufbau des Guaninrings, Methylierung der Carbonylgruppe und intramolekulare *N*-Glycosylierung. Ausgehend von Methyl- α -D-Mannopyranosid synthetisierte ich die späte Zwischenstufe **357**, welche die Mannosyl-, Guanyl- und Ribosyleinheit enthält in 15% Gesamtausbeute über 9 Stufen.

In unserer Gruppe wurde eine neue Synthese von C(8) substituierten Guaninen durch eine reduktive Cyclisierung von 4-Acylamino-5-nitrosopyrimidinen entwickelt. Diese Reaktion spielt in der Synthese von **357** eine entscheidende Rolle. Um zu testen, ob eine Nitro- ,anstelle der Nitrosogruppe, verwendet werden könnte, synthetisierte ich eine Serie von Benzimidazolen aus *o*-Nitroanilin. Das *N*-Acylnitroanilin wurde bei erhöhter Temperatur mit Phosphor(III)-Reagenzien behandelt und ergab in mässigen bis guten Ausbeuten (45-85%) substituierte Benzimidazole. Diese Methode ist eine Alternative zur metallinduzierten, reduktiven Cyclisierung. Die analoge Synthese des Imidazopyridines **398** (63%) zeigt, dass die Substrate nicht auf Nitroaniline begrenzt sind. Behandlung von **390g** mit PPh_3 in siedenden Decan führte überraschenderweise zum unsymmetrisch substituierten Harnstoff **403**.