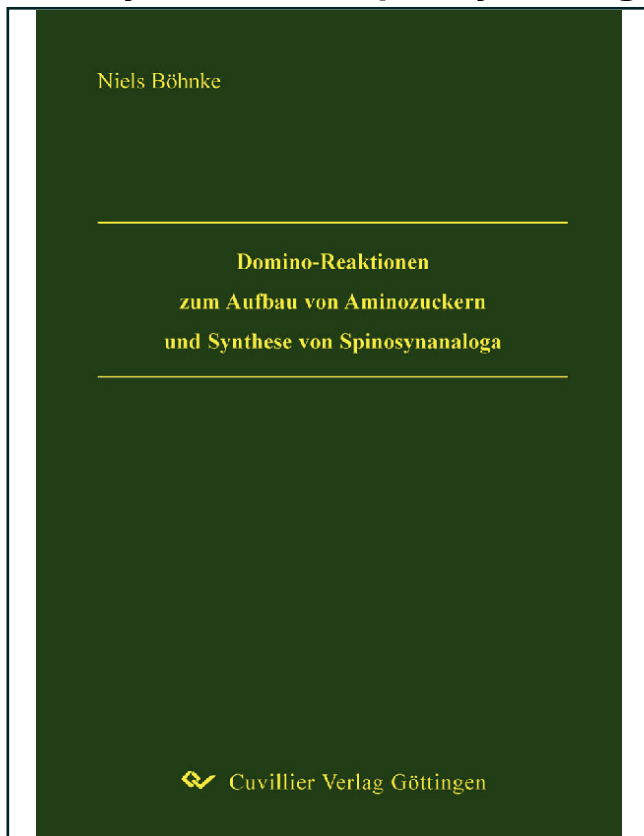




Niels Böhnke (Autor)

## **Domino-Reaktionen zum Aufbau von Aminosuktern und Synthese von Spinosynanaloga**



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1534>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

# A ALLGEMEINER TEIL

## 1 Einleitung

Der Zugang der Bevölkerung zu natürlichen Ressourcen, seien es Energiequellen, Nahrung oder Rohstoffe, besitzt seit jeher ein hohes Konfliktpotenzial und ist immer wieder Ursache für Auseinandersetzungen und Unruhen. Hinsichtlich der immer schneller steigenden Bevölkerungszahlen stellt insbesondere der Zugang zu Lebensmitteln nicht nur in der Dritten Welt eine immer größer werdende Herausforderung dar. Stellt man die Entwicklung der Weltbevölkerung der der landwirtschaftlichen Nutzfläche gegenüber, so ist daraus eine drastische Abnahme des pro Kopf verfügbaren Agrarraumes zu ersehen (Tabelle 1.1).

Jahr	Landwirtschaftliche Nutzfläche pro Kopf
1960	0.44 ha
1990	0.27 ha
2025*	0.17 ha

**Tabelle 1.1:** \* berechnet nach UN-Bevölkerungsprojektionen. Quelle: Deutsche Stiftung Weltbevölkerung.

Ebenso steigt die Zahl der Länder, denen weniger als 0.07 ha Ackerland pro Kopf zur Verfügung steht, stark an, wobei Regionen in allen Teilen der Welt betroffen sind.<sup>[1]</sup>

Um eine ausreichende Versorgung mit Lebensmittelgütern gewährleisten zu können, muss die Nutzung des verfügbaren Raumes optimiert werden. Der erste große Schritt zu intensiverer Bewirtschaftung in der Dritten Welt wurde zwischen 1960 und 1990 durch die „Grüne Revolution“ geprägt, wobei Kunstdünger, ertragreichere Arten und auch Pflanzenschutzmittel zum Einsatz kamen. Letztere haben in den letzten 60 Jahren einen großen Wandel vollzogen, da durch Erkenntnisse aus Biologie und Chemie der Zugang zu potenteren, selektiveren und vor allem weniger Umwelt schädigenden Pestiziden ermöglicht werden konnte. Man nimmt heute an, dass weltweit jährlich 30–40 % der Ernteverluste durch den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln verhindert werden.<sup>[2]</sup>

Einen herausragenden Vertreter auf dem Gebiet der Insektizide stellt das Spinosyn dar, das aufgrund seiner idealen Eigenschaften seit bereits zehn Jahren in vielen Teilen der Welt erfolgreich eingesetzt wird. Angesichts der in den letzten Jahren auffällig gewordenen Resistenzen muss nun jedoch versucht werden, Spinosyn-Analoga mit vergleichbaren

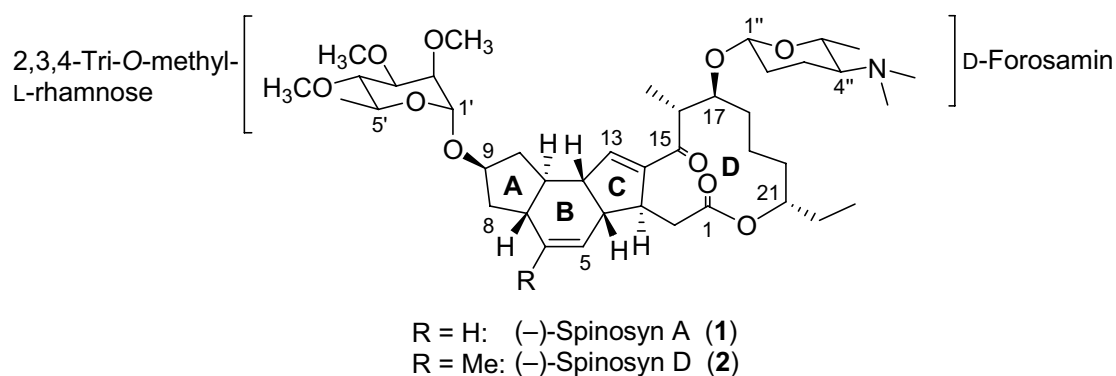
insektiziden Eigenschaften bereitzustellen, um einem gewissenhaften Resistenzmanagement Folge zu leisten. In der Arbeitsgruppe um *L. F. Tietze* konnte der effiziente Zugang zu neuartigen Spinosyn-Analoga entwickelt werden, der es erlaubt, Verbindungen herzustellen, von denen insektizide Eigenschaften auch gegenüber Spinosyn-resistenten Schadorganismen zu erwarten sind. Dabei sollten andere wünschenswerte Eigenschaften der Spinosyne wie hohe biologische Aktivität, Selektivität und schnelle Degradation in der Umwelt nicht beeinflusst werden.

In dieser Arbeit wird die Synthese dieser Spinosyn-Analoga durch Anbindung verschiedener Glykosideinheiten an zuvor bereitgestellte Aglykone untersucht, um so Wirkstoffe für nachfolgende Aktivitätsuntersuchungen zu liefern. Unter dem Ansatz der energie- und ressourcenschonenden Synthesechemie wird zudem der Aufbau verschiedener Desoxyaminosucker über eine neuartige *Domino-Knoevenagel-hetero-Diels-Alder*-Reaktion beschrieben. Hierbei werden aus einfachen Vorläufern in einem Syntheseschritt komplexe Systeme aufgebaut, wodurch ein schneller und eleganter Zugang zu chemisch und biologisch relevanten Verbindungen ermöglicht wird.

## 2 Theoretische Grundlagen

### 2.1 Die Naturstoffklasse der Spinosyne<sup>[3,4]</sup>

Im Jahre 1982 konnte aus einer Bodenprobe vom Gelände einer stillgelegten Rumdestillerie in der Karibik eine neuartige *Streptomyces*-Spezies isoliert werden, die aufgrund ihrer Eigenschaften den Namen *Saccharopolyspora spinosa* (in etwa: Zucker liebendes, dorniges, Sporen bildendes Bakterium) erhielt. Biologische Screenings von Fermentationprodukten dieser Spezies führten drei Jahre später zu der Entdeckung von Metaboliten mit beeindruckender insektizider Aktivität. 1986 gelang schließlich die genaue Identifikation und Einordnung von Organismus und Metaboliten. So konnte dieser Spezies der Charakter als aerober, gram-positiver und Mycel bildender Actinomycet zugeordnet werden, der als Sekundärmetaboliten hauptsächlich die Verbindungen **1** und **2** produziert. Die Klasse dieser Metaboliten wurde entsprechend dem Artnamen der Spezies als Spinosyne gekennzeichnet, wobei Spinosyn A (**1**) und D (**2**) die aktivsten Vertreter dieser Verbindungsklasse darstellen (Abbildung 2.1).



**Abbildung 2.1:** Spinosyne A (**1**) und D (**2**).

Strukturell gesehen sind die Spinosyne Makrolide, bei denen ein tetracyclisches Ringsystem das Grundgerüst bildet. Ein 12-gliedriges Makrolacton ist dabei an eine *cis-anti-trans*-verknüpfte Octahydro-*as*-indaceneinheit anelliert. Interessant ist die Tatsache, dass die Antibiotika Ikarugamycin<sup>[5]</sup> und Capsimycin<sup>[6]</sup> sowie die antitumor-aktiven Verbindungen (-)-FR182877<sup>[7]</sup> und Hexacyclinsäure<sup>[8]</sup> strukturelle Ähnlichkeiten mit den Spinosynen aufweisen.

Das Kohlenstoffgrundgerüst enthält neun stereogene Zentren, von denen zwei Hydroxyfunktionen tragen, an die die 2,3,4-Tri-*O*-methyl-L-rhamnose (C-9)  $\alpha$ - und der Aminozucker D-Forsamin (C-17)  $\beta$ -verknüpft sind. Bis heute wurden weit über 20 verschiedene Spinosyne isoliert und charakterisiert, die sich hauptsächlich durch das Methylierungsmuster der Amino- und Hydroxygruppen und in geringem Ausmaß auch in der C-Methylierung des Grundgerüsts unterscheiden.

### 2.1.1 Eigenschaften und Wirkungsweise<sup>[9]</sup>

Die Naturstoffklasse der Spinosyne zeichnet sich insbesondere durch ihre insektizide Wirkung gegen Schädlinge wie Lepidopteren (Schmetterlinge), Dipteren (Zweiflügler), Hymenopteren (Hautflügler), Thysanopteren (Fransenflügler) und Coleopteren (Käfer) aus. Die erste Zulassung einer Spinosad-Zubereitung wurde 1997 in den USA erteilt, wobei der Wirkstoffname Spinosad eine phonetische Synthese des Begriffs Spinosyn mit den beiden Isomerenamen A und D darstellt. Die derzeit erhältlichen Insektizide (z.B. Tracer<sup>®</sup>, Conserve<sup>®</sup>, Success<sup>®</sup>, SpinTor<sup>®</sup>) enthalten die Spinosyne **1** und **2** in einem Verhältnis von ca. 85:15. Die Gewinnung erfolgt durch Fermentation der *Saccharopolyspora spinosa* Kulturen.

Spinosad weist einen neuartigen Wirkmechanismus auf. Neben Angriff am  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)-Rezeptor beeinflusst es hauptsächlich die in den postsynaptischen Zellen lokalisierten nicotineren Acetylcholin (nACh)-Rezeptoren und bewirkt einen Ionen-Influx, was zu Hyperaktivität der Neuronen und gesteigerter Muskelaktivität führt. Die genaue Art der Interaktion mit den Rezeptoren ist jedoch bislang unbekannt. Wechselwirkungen mit bekannten Bindungsstellen anderer Insektizide konnten ausgeschlossen werden. Als Symptome können unkontrollierte Muskelkontraktionen, hektische Atmung und unkontrollierte Bewegung der Mundwerkzeuge auftreten. Die Aufnahme von Spinosad erfolgt sowohl über Kontakt mit dem Wirkstoff, als auch über Fraßaktivitäten, wobei die Wirksamkeit nach oraler Aufnahme 5–10 mal höher einzustufen ist als jene durch Kontakt. Die Wirkung setzt einige Minuten bis Stunden nach der Aufnahme ein und endet mit der vollständigen, irreversiblen Lähmung des Insekts. Zur Übersicht sind in Tabelle 2.1 einige Wirkstoffe mit den dazugehörigen Wirkorten aufgelistet.

Wirkort	Wirkstoffbeispiele
Na <sup>+</sup> -Kanal	Pyrethroide, DDT
Acetylcholinesterase	Organophosphate, Carbamate
nACh-Rezeptor	Imidacloprid, Thiamethoxam
GABA-Rezeptor	Avermectin
nACh-Rezeptor (genaue Bindungsstelle unbekannt)	Spinosad

**Tabelle 2.1:** Wirkort und zugehöriger Wirkstoff bei verschiedenen Insektiziden bzw. Insektizidklassen.

Eine der wichtigsten Eigenschaften der Spinosyne, die sie von anderen Insektiziden abhebt, ist die hohe Selektivität gegenüber dem Zielorganismus. Der Wirkstoff ist für Säugetiere, Vögel, Wasserlebewesen und auch Nützlinge nicht oder nur gering toxisch (siehe Tabelle 2.2 und Tabelle 2.3).

Spezies	Test	Ergebnis	Einstufung
Ratte männl.	Akute orale LD <sub>50</sub>	>3738 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch
Ratte weibl.	Akute orale LD <sub>50</sub>	>5000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch
Ratte	Inhalation LC <sub>50</sub>	>5 mg/l Luft	Nicht toxisch
Maus	Akute orale LD <sub>50</sub>	>5000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch
Kaninchen	Akute dermale LD <sub>50</sub>	>5000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch
Karpfen	96 h akute LC <sub>50</sub>	5.0 mg/l Wasser	Mäßig toxisch
Forelle	96 h akute LC <sub>50</sub>	30.0 mg/l Wasser	Leicht toxisch
Stockente	Akute orale LD <sub>50</sub>	>2000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch
Wachtel	Akute orale LD <sub>50</sub>	>2000 mg/kg Körpergewicht	Nicht toxisch

**Tabelle 2.2:** Toxische Wirkung von Spinosad auf ausgewählte Säugetiere, Fische und Vögel.

Gruppe	Art	Toxizitätseinstufung
Raubmilben	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Nicht schädigend
	<i>Amblyseius californicus</i>	Nicht schädigend
	<i>Amblyseius cucumeris</i>	Nicht schädigend
	<i>Hypoaspis miles</i>	Nicht schädigend
Räuberische Insekten	<i>Hippodamia convergens</i>	Nicht schädigend
	<i>Chrysoperla carnea</i>	Nicht schädigend
	<i>Orius laevigatus</i>	Nicht schädigend
	<i>Orius insidiosus</i>	Nicht schädigend
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Nicht schädigend
	<i>Macrolophus caliginosus</i>	Nicht schädigend
Schlupfwespen	<i>Aphidius colemani</i>	Schädigend
	<i>Encarsia formosa</i>	Mäßig schädigend
	<i>Trichogramma brassicae</i>	Mäßig schädigend
	<i>Diglyphus isaea</i>	Schädigend

**Tabelle 2.3:** Wirkung von Spinosad auf ausgewählte Nützlinge.

Beim Zielorganismus zeigen die Spinosyne dagegen ihre hochpotente Wirkung. Tabelle 2.4 zeigt, dass die auszubringende Wirkstoffmenge zur Kontrolle diverser Insektenpopulationen in den meisten Fällen unter 100 g je Hektar Ackerfläche liegt.

Insekt	Wissenschaftlicher Name	Auszubringende Menge (g/ha)
Maiszünsler	<i>Ostrinia nubilalis</i>	25–50
Baumwollkapselbohrer	<i>Helicoverpa zea</i>	40–100
Kohlmotte	<i>Plutella xylostella</i>	15–50
Kohlweißling	<i>Pieris rapae</i>	50–100
Traubenwickler	<i>Lobesia botrana</i>	25–50
Baumwollkapselwurm	<i>Helicoverpa armigera</i>	50–100
Tomatenschwärmer	<i>Manduca quinquemaculata</i>	40–100

**Tabelle 2.4:** Ausbringungsmengen für Spinosad im Bereich der Insektenbekämpfung.

Neben hoher Selektivität und Wirksamkeit ist die Umweltverträglichkeit sehr bedeutsam für die Etablierung von Insektiziden auf dem Weltmarkt. Der Einfluss des Wirkstoffs auf die Grundwasserqualität sowie dessen mögliche Abbauprozesse sind hierbei die entscheidenden Aspekte.

Spinosad unterliegt im Boden einem schnellen, mikrobiell gesteuerten Degradierungsprozess. Auf der Boden- und Pflanzenoberfläche sowie in wässriger Lösung ist die Photolyse ein wichtiger Abbaumechanismus.<sup>[10]</sup> Unter direkter Sonneneinstrahlung beträgt die Halbwertszeit im Freiland etwa einen Tag. Weiterhin weist Spinosad eine geringe Grundwassergefährdung auf, da es ein geringes Verlagerungspotential besitzt und nur mäßig wasserlöslich ist.

Aufgrund der Synergie aus Selektivität und Effizienz beim Zielorganismus sowie den positiven ökologischen Eigenschaften gehört Spinosad derzeit zu einem der weltweit am meisten eingesetzten Insektizide z. B. gegen Lepidopteralarven (Schmetterlingslarven). Erwähnenswert sind darüber hinaus auch interessante Anwendungsmöglichkeiten, die in den letzten Jahren für das Spinosyn entwickelt und neuentdeckt wurden. Zum einen sei dabei die auch bei anderen Insektiziden als Sekundäreffekt genutzte Wirkung als Malaria-Prophylaktikum. So haben Wissenschaftler der Hebrew University in Jerusalem in einer Oase im Süden des Landes eine gesamte Stechmücken-Population ausgerottet, indem sie einen Akazienbaum mit einer Zuckerpflanzung, die das Insektizid Spinosad enthielt, besprühten.<sup>[11]</sup> Hierbei liegt ein großes Potential in der Bewahrung der Umwelt durch Vermeidung des Einsatzes von in ärmeren Regionen leider immer noch verwendetem DDT. Darüber hinaus fanden Spinosyne aber auch im humanmedizinischen Bereich Einsatz. Während die Verwendung als Insektizid gegen parasitären Befall der Haut mit Kopf- und Filzläusen<sup>[12]</sup> noch ableitbar ist, so überrascht doch die Neuentdeckung von Spinosyn-Zubereitungen als Wundheilungsmittel. Topikale Anwendung dieser Präparate führten in Tests bei Schafen und Ratten zu einer beschleunigten Regeneration der geschädigten Haut.<sup>[13]</sup>

### 2.1.2 Stand gegenwärtiger Forschungen

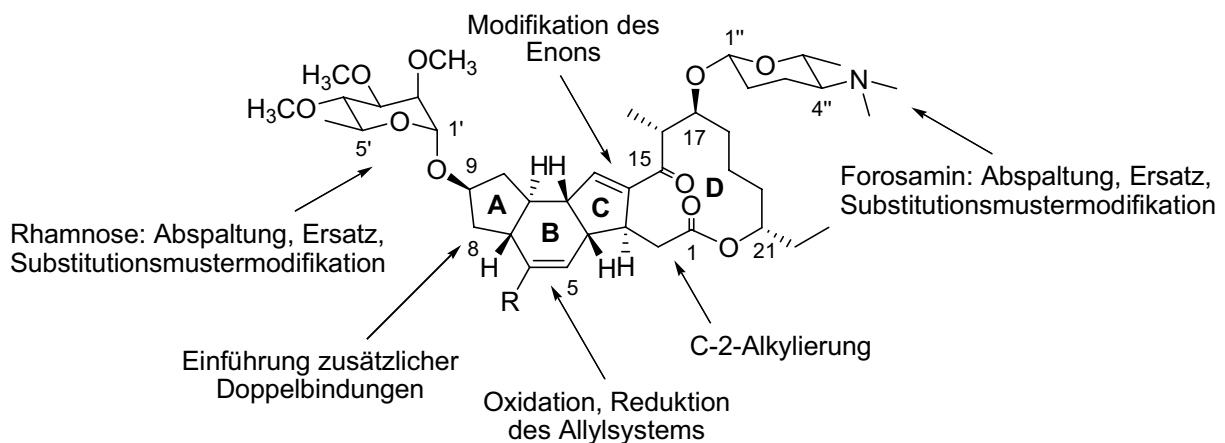
Um die zukünftige Deckung des Wirkstoffbedarfs garantieren sowie die zu erwartenden bzw. sich unlängst abzeichnenden Resistenzentwicklungen<sup>[14]</sup> rechtzeitig beherrschen zu können, verlangt es weiterhin nach intensiver Forschung auf dem Gebiet der Spinosyne. Im Mittelpunkt stehen dabei die Erschließung alternativer Zugangsquellen, z. B. durch chemische Totalsynthese, und die Bereitstellung von Derivaten bzw. Analoga. Entscheidend ist dabei das



Verständnis des Zusammenhangs zwischen Molekülstruktur und biologischer Aktivität, um so sinnvolle Modifikationen am Wirkstoff durchführen zu können.

### 2.1.2.1 Naturstoffderivatisierung – Synthese von Spinosoiden und neuen Spinosynen

Zahlreiche neue, oft sogar direkt aus der Industrie stammende Publikationen beschäftigen sich mit der gezielten Derivatisierung der Spinosyne (Abbildung 2.2).<sup>[15-19]</sup> Im Vordergrund steht dabei vor allem die Aufklärung der Struktur-Aktivitäts-Beziehung (SAR = structure activity relationship), da diese Erkenntnisse nicht nur den Weg zum Design noch effizienter wirkender Spinosyne ebnen, sondern zudem auch die Grundlage für ein modernes Resistenzmanagement bilden.



**Abbildung 2.2:** Übersicht zu durchgeführten Derivatisierungen beim Spinosyn.

Erste Arbeiten betonten dabei die Rolle der beiden Zuckereinheiten Rhamnose und Forosamin an C-9 bzw. C-17 für die insektizide Wirkung.<sup>[16]</sup> Die von *Crouse et al.* entwickelten Spinosynanaloge wiesen dabei eine Variation der Substitutionsmuster am Rhamnosylglykosid auf.<sup>[17]</sup> Positive Testergebnisse von biologischen Screenings dieser veränderten Spinosyne boten einen Ansatz zur Aktivitätssteigerung und eröffneten den Raum zur Synthese potentiellerer Spinosyn-Analoga. Einige interessante Testergebnisse sind in Tabelle 2.5 aufgeführt.

Veränderungen am Enon- und 5,6-Allylsystem, beispielsweise durch Epoxidierung der C-C-Doppelbindungen, führten zu einem verschlechterten Wirkprofil, auch ein Alkylsubstituent an C-2 erwies sich als aktivitätserniedrigend.